

國立臺灣大學生物資源暨農學院森林環境暨資源學系

碩士論文

School of Forestry and Resource Conservation

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

UV-B 照射對土肉桂葉子立木活性化合物含量之影響

Influences of UV-B irradiation on active compound

contents in standing-tree leaves of

*Cinnamomum osmophloeum*

華敦禮

Tun-Li Hua

指導教授：葉汀峰 博士

Advisor : Ting-Feng Yeh, Ph.D.

中華民國 107 年 6 月

June, 2018



## 謝 誌

終於到了畢業的時刻，首先要感謝恩師 葉汀峰老師的指導，讓我得以進入 Woody cell wall lab 學習，並在這段期間不斷地給予指正以及建議。回顧這幾年的期間，曾經於實驗及生活上遇到許多困境與挫折，也曾一度想放棄，但來自老師的教誨與夥伴們的激勵，讓我可以繼續堅持下去，最後得以完成這份論文。

論文初稿承蒙本系張上鎮老師、張惠婷老師、臺大實驗林鄭森松老師及林試所許富蘭老師等口試委員惠於斧正，並提供許多並提供許多精銳寶貴的意見，使本論文臻於完善。此外，論文中各項實驗的完成也要感謝張上鎮老師實驗室提供儀器設備及化合物鑑定，關秉宗教授及其實驗室提供統計相關協助，使本研究得以順利完成。

在研究路上，遇到許多實驗上的瓶頸以及研究上的挫折，感謝實驗室各位夥伴一路上的支持與協助。謝謝林博士煥祐學長、黃博士雅倫、林博士群雅、張博士資正、顏博士佩翎及陳育涵學長，幫我解惑各種實驗難題與帶領我熟悉儀器操作，感謝實驗室盈如學姐、秉和學長、菀蓉學姐、懋如學姊、怡秀學姐、思親學姐、念之學姐、宮民學長、榮文學長、楊珣學姐、嘉紘學姐、伯誠學長、世殷、立元學姐在研究室的各種指導與照顧，也謝謝盈君及銀玕聽我抒發內心的焦慮、崩潰挫折還有一直激勵我堅持下去。謝謝英誠、萬栓、葉恆、廷光、昱鈞、仕熒、思妤在實驗室及口試的協助。謝謝各位幫忙修改口試簡報，讓我口試順利更加順利，如果沒有大家我想我的研究生活不會如此豐富。

此外，也感謝程阿姨、曹師傅、黃聖焜學長的敦促以及打氣，讓我堅持到最後。除了研究上的挫折外，也有許多朋友在我最需要的時候拉我一把，謝謝彥佑、柏盛、勝倫、邱鈞、家源的各種支援以及關心，有你們這幾位大學時期的夥伴，讓我在最艱困的時候依然可以充電再出發。感謝臺大醫院石富元主任，提醒我這份訓練的過程與成果，以及提供各方面的協助，因為有您讓我得以完成這份論文，讓我堅持到最後。

最後，我要感謝我的家人，我母親與我妹妹。在這段求學階段，家中亦經歷各種風風雨雨。與初進入碩士班期間相比，母親頭髮花白了不少，即便如此，在任何期間任何情況下，您總是盡可能的提供我各種協助，並鼓勵我完成這份學業。此外，也感謝在這個情況下默默幫助母親以及協助我的妹妹，希望這個階段之後你可以順利往前邁進。

在這段期間內，我遇到了很多令人沮喪，但也有許多令人振奮的事情。我非常感謝這段期間所有曾經指導、幫助及支持我的老師、家人及朋友們，有了各位的支持與鼓勵，我才能比起當初碩士班的時候更有所成長，這些經歷讓我得以提升自己，往下個階段邁進，面對未來更多的挑戰。

華敦禮 謹致

2018年8月1日

國立臺灣大學森林環境暨資源學系木質細胞壁實驗室

## 摘要

地球之臭氧層日漸稀薄，使得陽光中之 UV-B 透過大氣層的部分逐漸提高，而植物為了減少胞器受到 UV-B 之傷害，會促使細胞合成更多的活性化合物累積在葉子中。這些化合物中，有些黃酮類化合物除了可吸收 UV-B 能量外，更可進一步清除 UV-B 照射所形成之自由基。此機制可使葉子產生更多活性化合物，在植物利用上具有開發之潛力。臺灣重要經濟樹種之一土肉桂 (*Cinnamomum osmophloeum Kanehira*) 葉子含有多種 Kaempferol 類黃酮醣苷，具有抗氧化及降低細胞血糖等作用等多種生物活性，本研究以土肉桂作為試材，測定 UV-B 照射後葉子化合物含量之變化。

本研究首先將土肉桂照射 4 h UV-B 後，採收距燈源不同距離之葉子進行萃取。試驗結果顯示，光照距離為 30 cm (UV-B 能量為  $4.20 \text{ W m}^{-2}$ ) 之組別，在照射後其總黃酮類化合物有最大增幅 (1.21 倍)，故以 30 cm 為試驗光照距離。除了照射 4 h UV-B 外亦測試不同光源之光照順序，其中僅有照射 2 h 藍光接續 2 h UV-B 組別之總黃酮類化合物含量有顯著的增加，為照射前的 1.18 倍，與照射 4 h UV-B 組別之總黃酮類化合物含量增加結果相近。

為測試單日光照中土肉桂葉子之活性化合物最大改變倍率，因此改變 UV-B 照射時數為 2、4、6 及 8 h，測得照射 4 h 及 8 h UV-B 時會有較高的單日總黃酮類化合物增加倍率，其中照射 4 h UV-B 結果較佳。此外，也對土肉桂葉子水可溶部中主要的 5 種黃酮類化合物之改變倍率進行測試，包含 Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside ( **F1** )、Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside ( **F2** )、Kaempferitrin ( **F3** )、Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside ( **F4** ) 及 Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside ( **F5** )。試驗結果顯示，照射 UV-B 時數對 F1-F5 化合物改變倍率並無顯著影響。因此，後續試

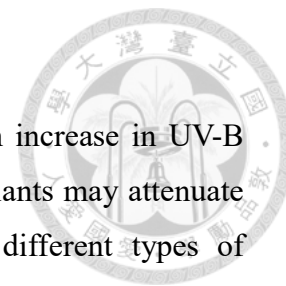
驗條件仍為照射 4 h UV-B。

更進一步將單日照射 4 h UV-B 之過程重複 2、4 及 8 d，結果顯示，照射 4 d UV-B 時總黃酮類化合物改變倍率會更進一步增加為 1.39 倍，但與照射 8 d UV-B 組別之增加倍率沒有顯著差異。至於總酚類化合物，則是於照射 4 d UV-B 之組別增加為 1.20 倍，延長照射時間為 8 d UV-B 後，總酚類化合物顯著增為 1.37 倍。水可溶部 5 種化合物 **F1-F5** 照射後之改變倍率也與總黃酮類化合物試驗結果相似。照射 4 d UV-B 後 **F1**、**F2** 及 **F3** 化合物皆顯著增為約 1.42 倍，但照射 4 d UV-B 卻與照射 8 d 組別之增加倍率沒有顯著差異。

綜合所有結果顯示，無論是總黃酮類化合物、總酚類化合物及水可溶部黃酮糖苷之含量，皆顯示距離燈源 30 cm 時，照射 4 h UV-B 連續 4 d 是最有效率的增加化合物含量之照射條件。此條件下，照射後總黃酮類化合物增為 1.39 倍、總酚類化合物增為 1.20 倍、化合物 **F1**、**F2** 及 **F3** 可增為照射前之 1.42 倍。

【關鍵詞】土肉桂、黃酮類化合物、Kaempferol glycosides、酚類化合物、UV-B

## Abstract



The depletion of ozone in the atmosphere has resulted in an increase in UV-B irradiation. A high UV-B dosage provokes damage to organism. Plants may attenuate the impact of UV-B irradiation through the accumulation of different types of phenolics produced. Most of these compounds are flavonoid, which can act as an effective UV-B screen. Moreover, some flavonoids may also eliminate free radicals which caused by UV-B radiation. This mechanism will make leaves to synthesis more active compounds, which can be used potentially. *Cinnamomum osmophloeum* is one of the indigenous trees in Taiwan. This tree contains abundant kaempferol glycoside compounds in its leaves. These compounds were proved to have antioxidant activity and hypoglycemic effect. This study would irradiate *C. osmophloeum* leaves with UV-B in various conditions to test the variations of activity compound contents in the leaves.

First, we irradiate leaves with 4 h UV-B by different irradiation distances, and the changing ratio of the total flavonoid contents increase to the maximum 1.21 fold when irradiated at 30 cm (UV-B energy:  $4.20 \text{ W m}^{-2}$ ). We decided to use 30 cm as the irradiation distance for all other tests. Besides, we change 4 h UV-B irradiation to different order of different light irradiation. Only the test group of 2 h blue light + 2 h UV-B showed increased total flavonoid content ratio to 1.18 fold which is similar to the result when trees irradiated with UV-B for 4 h.

Furthermore, in order to know the maximum changing ratios of the active compounds per day, we treat *C. osmophloeum* leaves with 2, 4, 6 and 8 h irradiation. The changing ratios of the total flavonoid contents were better when irradiating with 4 or 8 h UV-B per day, with the best result when irradiating UV-B for 4 h. Furthermore, in investigating the changing ratio from the UV-B irradiation of the 5 major flavonoid compound, kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F1), kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F2), kaempferitrin (F3), kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F4) and kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F5) in the water soluble fraction of *C. osmophloeum* leaves, the results showed that there were no significant differences between the changing ratios of compound F1-F5 from the irradiation with different hours of UV-B. As the result, we decided to treat leaves with 4 h UV-B irradiation as the continuous irradiation condition.

When the trees continuously irradiated UV-B for 4 h per day and lasted for 2, 4 and 8 d, the changing ratios of total flavonoid contents would significantly increase to 1.39 fold after irradiated UV-B for 4 d. But the result for irradiation for 4 d has no difference to that of irradiation UV-B for 8 d. The changing ratio of the total phenolic contents is significantly increased to 1.20 fold when irradiating UV-B for 4 d. Besides, when the tree irradiated UV-B for 8 d, the changing ratio of total phenolic contents has significant increased to 1.37 fold. The 5 compounds, **F1-F5**, in the water fraction showed similar changing ratios to that of the total flavonoid contents. The changing ratios of compound **F1**, **F2** and **F3** would increase to 1.42 fold after irradiated UV-B for 4 d, but the result for irradiation for 4 d has no difference to that of 8 d.

As the result, we have concluded that to increase total flavonoid contents, total phenolic contents and the flavonol glycoside form water fraction, the most effective condition is to irradiate trees with UV-B at a 30 cm distance for 4 h per day and last for 4 d. The total flavonoid contents would increase to 1.39 fold, the total phenolic contents would increase to 1.20 fold, the compound **F1**, **F2** and **F3** would increase to 1.42 fold when irradiating with this condition.

**【Key words】** *Cinnamomum osmophloeum*, flavonoid, kaempferol glycosides, phenolic compound, UV-B

# 目 錄



謝誌.....	I
摘要.....	III
Abstract.....	V
目錄.....	VII
圖目錄.....	IX
表目錄.....	XII
I. 前言.....	1
II. 文獻回顧.....	2
2.1 土肉桂.....	2
2.2 UV-B 照射對植物體之影響.....	5
2.2.1 UV-B 照射對植物細胞之生理影響.....	5
2.2.2 UV-B 照射下植物體內活性化合物之作用.....	6
2.3 UV-B 照射對植物體內活性化合物含量之影響.....	10
2.3.1 單位時間內接收不同能量之 UV-B 照射之影響.....	10
2.3.2 不同光照順序對植株活性化合物含量之影響.....	12
2.3.3 不同照射時間之 UV-B 對植株活性化合物含量之影響.....	14
2.3.4 重覆每日照射 UV-B 對植株之影響.....	16
III. 研究目的.....	21
IV. 材料與方法.....	22
4.1 試驗材料.....	22
4.2 光照環境.....	22
4.2.1 光照距離測定試驗.....	22
4.2.2 光照順序試驗.....	22
4.2.3 不同時數光照試驗.....	23

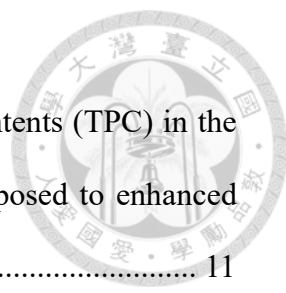


4.2.4 不同天數連續光照試驗.....	23
4.3 土肉桂葉子抽出物之萃取.....	23
4.4 水可溶部化合物提取.....	23
4.5 化合物含量分析.....	24
4.5.1 總酚類化合物含量.....	24
4.5.2 總黃酮類化合物含量.....	24
4.5.3 水可溶部化合物絕對定量.....	25
4.6 統計分析.....	26
V. 結果與討論.....	27
5.1 單日照射條件對土肉桂葉子活性化合物含量之影響.....	27
5.1.1 光照距離測定.....	27
5.1.2 光照順序對活性化合物含量之影響.....	30
5.2 照射時數對活性化合物增加倍率之影響.....	33
5.3 光照後水可溶部黃酮醣苷化合物含量變化.....	36
5.3.1 水可溶部化合物.....	36
5.3.2 單日光照試驗水可溶部化合物含量變化.....	39
5.4 連續光照後化合物含量變化.....	40
5.4.1 連續光照對活性化合物改變倍率之影響.....	40
5.4.2 連續光照對水可溶部化合物增加倍率影響及推論.....	43
VI. 結論與建議.....	46
VII. 參考文獻.....	48

## 圖目錄



- 圖 1、土肉桂葉子之黃酮類化合物  
Figure 1. The flavonoids in leaves of *C. osmophloeum*.....4
- 圖 2、UVR8 調節 UV-B 訊號之生理作用  
Figure 2. Physiological roles of UVR8-mediated UV-B signaling.....6
- 圖 3、野生型阿拉伯芥及對 UV 敏感之突變株對 UV-B 照射之感受性  
Figure 3. Sensitivity of wild-type and UV-sensitive mutant *Arabidopsis* to UV-B radiation exposure.....7
- 圖 4、(A) 野生型阿拉伯芥及 (B) 對 UV 敏感突變株分別加入 UV (+UV) 照射與不加入 UV (-UV) 照射處理後抽出物之吸收光譜  
Figure 4. Absorption spectra of extracts from UV-irradiated (+UV) and non-UV-irradiated (-UV) *Arabidopsis* from either the (A) wild type and (B) UV-sensitive mutant..... 8
- 圖 5、黃酮類化合物在生長及光照壓力下保護作用之示意圖。(A) 黃酮類化合物清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 機制之示意圖。(B) 液泡之過氧化酶可清除自然擴散之 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (C) 含有多量黃酮類化合物的表皮細胞可清除葉肉細胞中由光照引起之 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
Figure 5. A proposed diagram for protective function of flavonoids during growth and light stress. (A) Scheme of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-scavenging mechanism by flavonoids. (B) The diffusive nature of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> enables vPX to scavenge it in vacuoles. (C) The photoproduced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> may leak out from mesophyll cells and be scavenged in epidermal cells that have a high flavonoid content.....9
- 圖 6、增加 UV-B 照射能量後 *Vigna mungo* 及 *V. acontifolia* 之幼苗葉片 (a) 總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 及 (b) 總酚類化合物含



量 ( Total phenolic contents, TPC ) 變化

Figure 6. (a) Total flavonoid contents (TFC) (b) Total phenolic contents (TPC) in the leaves of *Vigna mungo* and *Vigna acontifolia* seedlings exposed to enhanced UV-B radiation..... 11

圖 7、兩種基因型之藍莓葉子於不同時間及能量 (UV-B 0.07 Wm<sup>-2</sup>; 0.12 Wm<sup>-2</sup> and 0.19 Wm<sup>-2</sup>)之 UV-B 照射後總酚類化合物含量( Total phenolic contents, TPC)

Figure 7. Total phenolic contents (TPC) of leaves of two highbush blueberry genotypes exposed for 72 h to different UV-B biological effective doses (UV-B 0.07 Wm<sup>-2</sup>; 0.12 Wm<sup>-2</sup> and 0.19 Wm<sup>-2</sup>).....15

圖 8、Bell pepper 葉子之於低溫處理 (LT) 及照射 UV-B 後總黃酮類化合物含量 (mg of quercetin per 100g of fresh weight)

Figure 8. Total flavonoid content in bell pepper leaves exposed to low temperature and UV-B radiation expressed as mg of quercetin per 100g of fresh weight.....18

圖 9、Bell pepper 葉子之 Luteolin-7-O-glucoside 及 Apigenin-7-O-glucoside 含量於低溫處理及照射 UV-B 後之含量

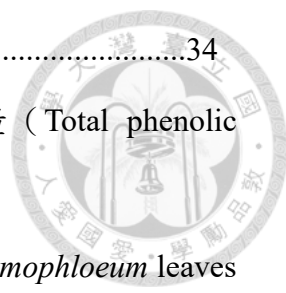
Figure 9. Concentrations of luteolin-7-O-glucoside (L-7-G) and apigenin-7-O-glucoside (A-7-G) in bell pepper leaves exposed to low temperature and UV-B radiation.....19

圖 10、阿拉伯芥於未照射 UV (空心圓點) 及照射 UV (實心圓點) 之黃酮醣苷含量變化

Figure 10. Temporal flavonol glycoside changes in UV (open circles) and non-UV treated (closed circles) *Arabidopsis thaliana*.....20

圖 11、UV-B 不同光照時數對土肉桂葉子總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 之改變倍率

Figure 11. Changing ratios of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum*



leaves from irradiation with different hours of UV-B.....34

圖 12、UV-B 不同光照時數對土肉桂葉子總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 之改變倍率

Figure12. Changing ratios of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different hours of UV-B.....35

圖 13、土肉桂葉子抽出物之水可溶部之 HPLC 圖譜

Figure 13. HPLC chromatogram of water fraction of *C. osmophloeum* leaves extraction.....37

圖 14、土肉桂葉子抽出物之水可溶部化合物 F1-F5 之結構

Figure 14. Structure of compound F1-F5 from the water fraction of *C. osmophloeum* leaves extracts.....38

圖 15、UV-B 光照不同時數對水可溶部化合物之改變倍率

Figure 15. Changing ratios of the water fraction compounds from irradiation with different hours of UV-B.....39

圖 16、UV-B 光照不同天數對土肉桂葉子總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 之改變倍率

Figure 16. Changing ratios of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different days of UV-B.....41

圖 17、UV-B 光照不同天數對土肉桂葉子總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 之改變倍率

Figure 17. Changing ratios of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different days of UV-B.....42

圖 18、UV-B 光照不同天數對水可溶部化合物之改變倍率

Figure 18. Changing ratios of the water fraction compounds from irradiation with different days of UV-B..... 44

## 表目錄



表 1、兩種基因型之藍莓葉子於照射 UV-B 後其酚類化合物與黃酮類化合物之含量

Table 1. Concentrations of phenolic acids and flavonoids in leaves of two genotypes of highbush blueberry exposed to UV-B.....12

表 2、連續照射紅光、遠紅光及藍光於照射 UV-B 前後之比較結果

Table 2. Comparison between the effects of continuous red (R), far-red (FR) or blue (B) given before or after the UV irradiation.....13

表 3、UV-B 照射對綠豆其總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 及總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 變化

Table 3. The effect of UV-B radiation on total phenolic contents (TPC) and total flavonoids contents (TFC) in mung bean sprouts.....14

表 4、不同採收前處理白菜葉片黃酮類化合物含量 (mg g<sup>-1</sup> dry matter)

Table 4. Contents of flavonoids in leaf blades of different pre-harvest-treated pak choi plants.....17

表 5、HPLC 溶液

Table 5. HPLC solvent.....26

表 6、不同距離下 UV-B 照射對土肉桂葉子中總黃酮類化合物含量影響

Table 6. Change of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum* leaves from UV-B irradiation with different distances..... 28

表 7、不同距離下 UV-B 照射對土肉桂葉子中總酚類化合物含量影響

Table 7. Change of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from UV-B irradiation with different distances..... 29

表 8、不同光照順序對土肉桂葉子中總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 影響

Table 8. Changes of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum* from irradiation with different order of lights..... 31

表 9、不同光照順序對土肉桂葉子中總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 影響

Table 9. Changes of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different order of lights..... 32

## I. 前言

近數十年來，隨著地球溫室效應增加，人們逐漸注意到臭氧（Ozone）層破洞所導致的相關效應。臭氧層可以吸收陽光中部分紫外光（Ultraviolet, UV），使到達地表的 UV 波段主要為能量較低的 UV-A (315-400 nm)，而波長較短能量更高 UV-B (280-315 nm) 及 UV-C (200-280 nm) 通常會先被臭氧層擋下。若是在 UV-B 或 UV-C 下曝曬過量可能會造成人類皮膚紅腫不舒服，甚至會提高得到皮膚癌的機率；對植物而言，UV-B 或 UV-C 也是強力的環境因子，照射過量亦可能造成植物細胞損害及降低光合作用效率 (Lee, 2016)。因此植物會合成更多量的活性化合物以避免這些傷害，這些活性化合物主要為黃酮類及酚類化合物，這類化合物不但可以有效地吸收 UV 的能量，通常也具有抗氧化能力，可還原細胞中由 UV 照射所生成的自由基，進而降低細胞損傷 (Yamasaki *et al.*, 1997)。許多學者更利用植物此特性，對葡萄及藍莓等富含黃酮類及酚類化合物的植物照射 UV-B，藉由增加這些活性化合物含量，提升作物的經濟價值 (Alonso *et al.*, 2016；Yamasaki *et al.*, 2017)。相較於 UV-B，UV-C 會對植株造成更多的損害，因此對植株進行採收前處理時，UV-B 可能仍是較佳的條件 (Rai *et al.*, 2011)。

肉桂為重要的香料原料，廣泛被應用，但是肉桂主要由其樹皮製成，而臺灣原生樹種土肉桂 (*Cinnamomum osmophloeum* Kanehira) 葉子成分與肉桂樹皮成分相似，相較於樹皮，樹葉為較好取得的可再生性資源。土肉桂葉子肉桂醛含量更是臺灣多種肉桂植物中含量最高的。此外，土肉桂葉子內含有多量之 Kaempferol 類黃酮糖苷，具有良好的抗氧化能力 (林岳賢，2008；張上鎮、林群雅，2014；陳科如，2007)，期許這些活性化合物在 UV-B 照射後含量亦會增加，因此採用土肉桂進行試驗。

本試驗以土肉桂葉子作為試材，模擬於日照結束後加入 UV-B 照射，並於 UV-B 照射後給與黑暗時間使植株修復。找出適合之照射條件，及進一步瞭解葉子中化合物增加的種類及含量變化，期許可進一步的增加土肉桂的經濟價值。



## II. 文獻回顧

### 2.1 土肉桂

肉桂是重要的香料原料，可製成各種商業產品，包含肉桂粉、肉桂油、肉桂枝、肉桂膏、肉桂棒及肉桂精油等，亦可作為蛋糕、麵包、口香糖及咖啡等食品及飲品之調味料。除食品外，在傳統上肉桂也被認為有發汗、補元陽、暖脾胃、除積冷及通血脈等功用，故被應用於驅風劑、健胃劑及防腐劑（許鴻源，1985；張上鎮、林群雅，2014）。肉桂主要成分為肉桂醛（Cinnamaldehyde），而在臺灣多種的肉桂類植物中，肉桂醛型土肉桂（*Cinnamomum osmophloeum* Kanehira）葉子中的肉桂醛含量最高，是臺灣重要的原生經濟作物（張上鎮、林群雅，2014）。

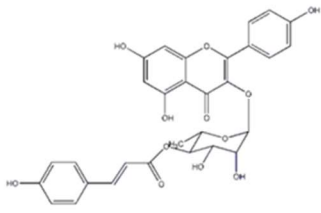
土肉桂分類上屬樟科（Lauraceae）、樟屬（*Cinnamomum*），生長於臺灣中低海拔 400-1500 m 山區之天然闊葉樹林中，為常綠中喬木，幹皮平滑，葉互生，薄革質，卵形或卵狀長橢圓形，先端漸尖或銳尖，葉脈為三出脈，長約 8-12 cm，寬約 3.5-5 cm（張上鎮等，2009）。李漢中等人（2003）對埔里蓮華池土肉桂營養園及大坪頂臺糖農場之土肉桂，依據其葉子精油內之主成分不同分為 6 種化學品系，分別為茵桂型（Cassia type）、肉桂醛型（Cinnamaldehyde type）、香豆素型（Coumarin type）、伽羅木醇型（Linalool type）、丁香酚型（Eugenol type）、樟腦型（Camphor type）、4-萜品醇型（4-Terpineol type）、伽羅木醇-萜品醇型（Linalool-terpineol type）及混合型（Mixed type）。其中肉桂醛型土肉桂葉子精油及其主要成分肉桂醛已被證實具有多種良好生物活性，包含抗白蟻（Chang and Cheng, 2002）、抗病媒蚊幼蟲（Cheng *et al.*, 2004；Cheng *et al.*, 2009）、抗菌（Chang *et al.*, 2001；Chang *et al.*, 2008）、抗發炎（Chao *et al.*, 2005）、抗黴菌（陳品方、張上鎮，2002）及抗腐朽菌（Wang *et al.*, 2005；Cheng *et al.*, 2006；Yen and Chang, 2008）等。

除了揮發性精油外，土肉桂葉子亦含木酚素、單寧、黃酮類化合物及固醇類化合物等成分，其中所含之黃酮類化合物（圖 1）主要成分為 Kaempferol 類化合

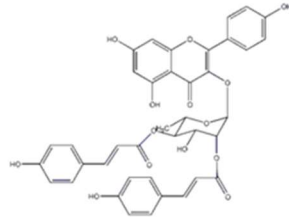


物糖基化之黃酮醣苷 (Fang *et al.*, 2005 ; Lin *et al.*, 2011 ; 陳科如, 2007 ; 林岳賢, 2008 ; 林庭宇, 2011 ; 俞伯誠, 2014), 這些葉子所含的黃酮類化合物有些具有抗發炎及降血糖、影響胰島素活性與降血脂等功能 (Lee *et al.*, 2009 ; Lin *et al.*, 2011)。

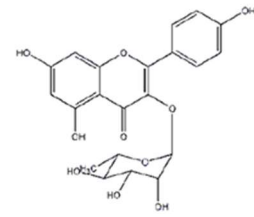




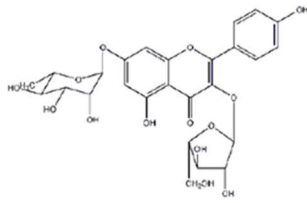
Kaempferol-3-*O*-(4''-*E*-*p*-coumaroyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (1)



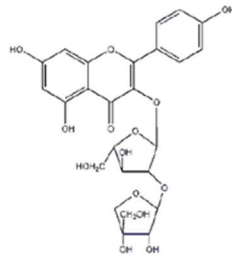
Kaempferol-3-*O*-(2''4''-*di-E-p*-coumaroyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (2)



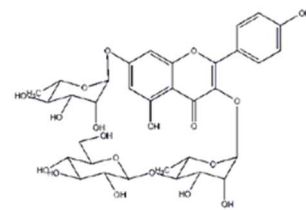
Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (3)



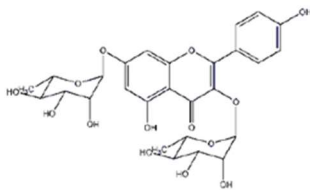
Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (4)



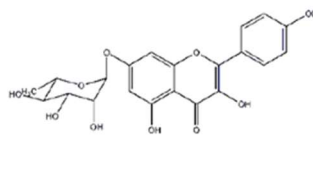
Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranoside (5)



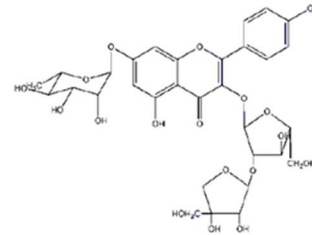
Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (6)



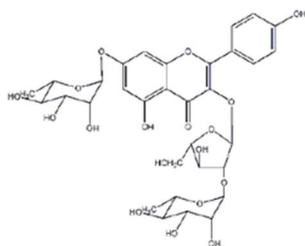
Kaempferitrin (7)



Kaempferol-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (8)



Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (9)



Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (10)

圖 1、土肉桂葉子之黃酮類化合物 (俞伯誠, 2014)。

Figure 1. The flavonoids in leaves of *C. osmophloeum*.

## 2.2 UV-B 照射對植物體之影響

除了土肉桂葉子中含有多量的黃酮類化合物外，許多植物及其果實中也富含黃酮類化合物，例如葡萄及藍莓，研究顯示這些植物之葉子或果實之黃酮類及酚類化合物含量會在照射 UV-B 後顯著增加 (Alonso *et al.*, 2016 ; Yamasaki *et al.*, 2017)。

### 2.2.1 UV-B 照射對植物細胞之生理影響

陽光除了提供植物行光合作用的能量之外，也常作為生長的訊號，會影響與改變植物之光型態 (Photomorphogenesis)。陽光中可見光波段通常做為植物光合作用的能量來源，相較之下波長較短的紫外光對植物而言則是一強力的環境因子。陽光中可以到達地表的 UV 波段主要為 UV-A (315-400 nm)，而 UV-B (280-315 nm) 及 UV-C (200-280 nm) 多被大氣中臭氧層吸收，僅有少量到達地表。相較於 UV-A，波長較短能量更高的 UV-B 會改變植物之光型態，這些光型態的改變可以幫助植物在 UV-B 照射下適應 (Acclimation)，以減少細胞受到來自 UV-B 的損傷 (Lee, 2016)。

UV RESISTANCE LOCUS 8 (UVR8) 是阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*) 對 UV-B 之光感受器，接收 UV-B 後會抑制植物下胚軸 (Hypocotyl) 生長、累積黃酮類化合物及改變植物之基因表現 (Yin and Ulm, 2017)。除了阿拉伯芥外，在其他植物中亦顯示由 UVR8 所活化的基因也可以幫助植物於 UV-B 下 Acclimation，包括黃酮類及酚類化合物之生合成、修復 DNA 及保護組織避免受到氧化 (Brown *et al.*, 2005 ; Heijde and Ulm, 2012 ; Morales *et al.*, 2013)。此外，照射 UV-B 後造成 UVR8 活化後也會引起植物在其他生理上的改變 (圖 2)，例如影響植物生理時鐘 (Feher *et al.*, 2011)、趨光性 (Phototropism) (Vandenbussche *et al.*, 2014)、葉片發育 (Wargent *et al.*, 2009)、氣孔 (Stomatal) 開閉 (Tossi *et al.*, 2014) 及生長時避開陰影處的避蔭反應 (Shade avoidance responses) (Hayes *et al.*, 2014) 等。

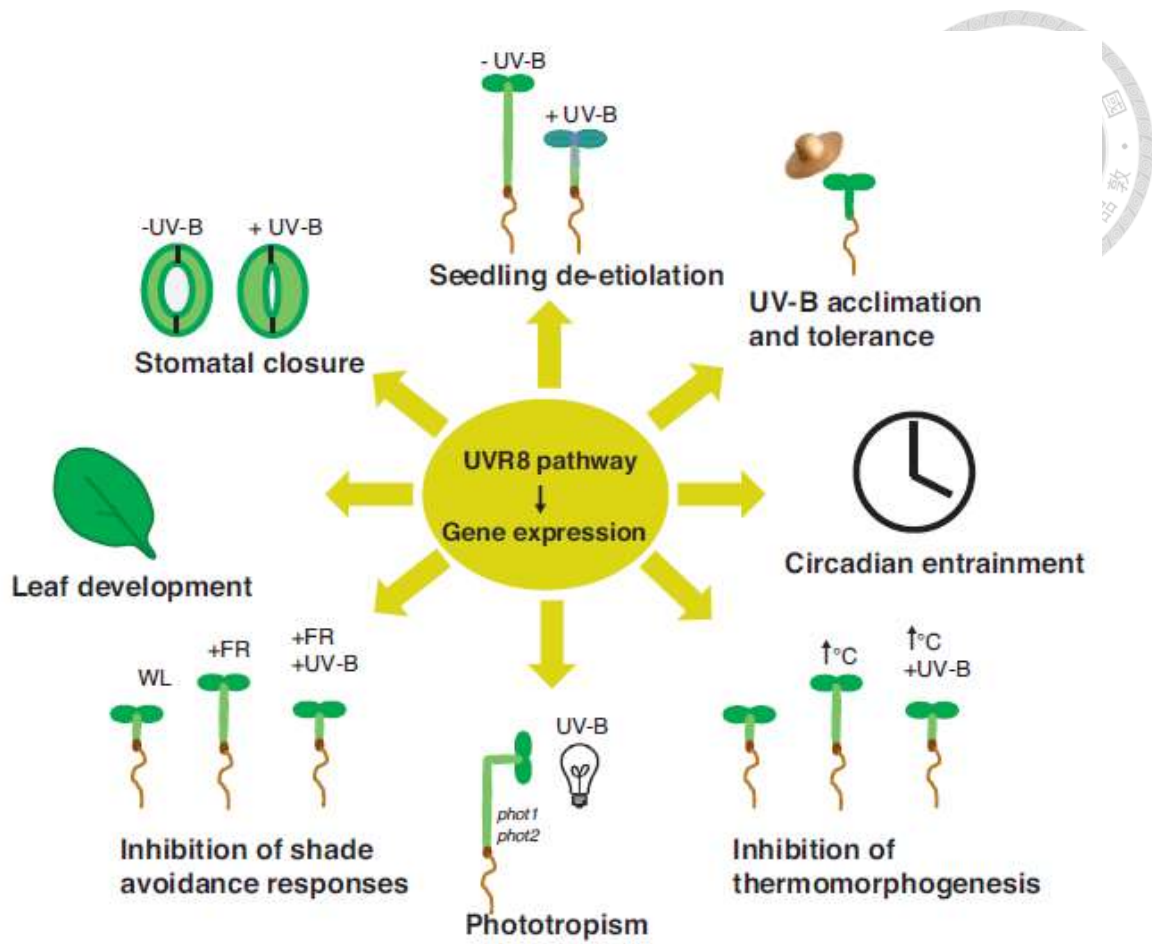


圖 2、UVR8 調節 UV-B 訊號之生理作用 (Yin and Ulm, 2017)。

Figure 2. Physiological roles of UVR8-mediated UV-B signaling.

### 2.2.2 UV-B 照射下植物體內活性化合物之作用

Lois 及 Buchanan (1994) 在種植阿拉伯芥時，發現其中有對 UV 敏感 (UV-sensitive) 之突變株，故將其與野生型阿拉伯芥比較。結果顯示，兩種基因型之阿拉伯芥在缺乏 UV-B 照射之環境下生長時並無差異，但照射 10 d  $0.15 \text{ W m}^{-2}$  之 UV-B 處理後，突變株無法正常生長，而野生型阿拉伯芥之生長情況則顯示與對照組的差異不大 (圖 3)。此外，為更進一步得知兩種基因型阿拉伯芥對 UV-B 照射之反應，因此分別將生長 12 d 2 種基因型之阿拉伯芥照射 UV-B 24 h 後，取下葉片以乙醇進行萃取，量測乙醇抽出物之吸收光譜。結果顯示野生型阿拉伯芥之吸收光譜在照射 24 h UV-B 後之組別 (+UV) 中 (圖 4A)，乙醇抽出物

之吸收光譜於 260-350 nm 之波段部分會比無照射 UV-B (-UV) 之組別有著更高的吸收；然而，照射 UV-B 與否對阿拉伯芥突變株之乙醇抽出物吸收光譜則顯示在 260-350 nm 波段差異不大 (圖 4B)。更進一步以薄層液相層析 (Thin-layer chromatography)、UV 光譜及 NMR (Nuclear magnetic resonance) 光譜分析野生型阿拉伯芥之乙醇抽出物，發現照射 UV-B 後(+UV)會累積多量黃酮類化合物，即是 260-350 nm 波段有較高吸收的原因，而突變株中則無此現象。以上結果顯示植株中的黃酮類化合物可能是野生型阿拉伯芥在 UV-B 照射下 Acclimation 的關鍵。

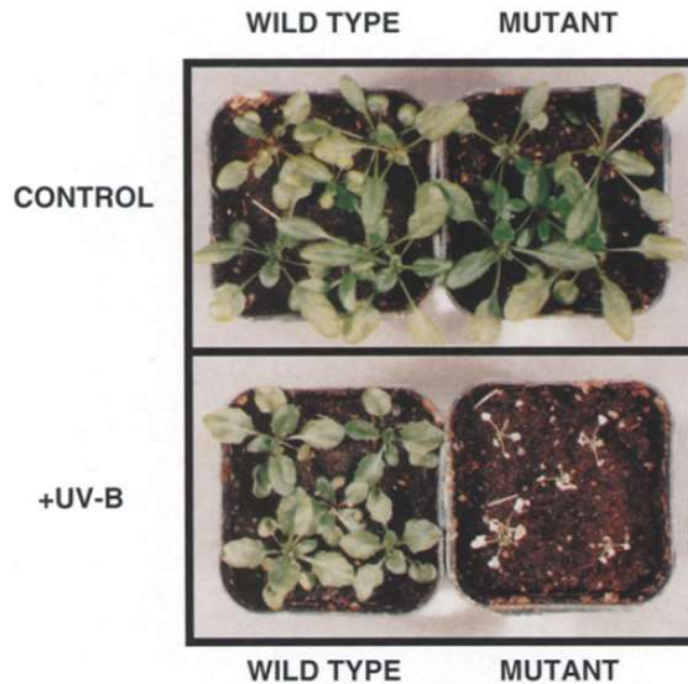


圖 3、野生型阿拉伯芥及對 UV 敏感之突變株對 UV-B 照射之感受性 (Lois and Buchanan, 1994)。

Figure 3. Sensitivity of wild-type and UV-sensitive mutant *Arabidopsis* to UV-B radiation exposure. Control: no UV-B; +UV-B: 0.15 W m<sup>-2</sup> UV-B for 12 d.

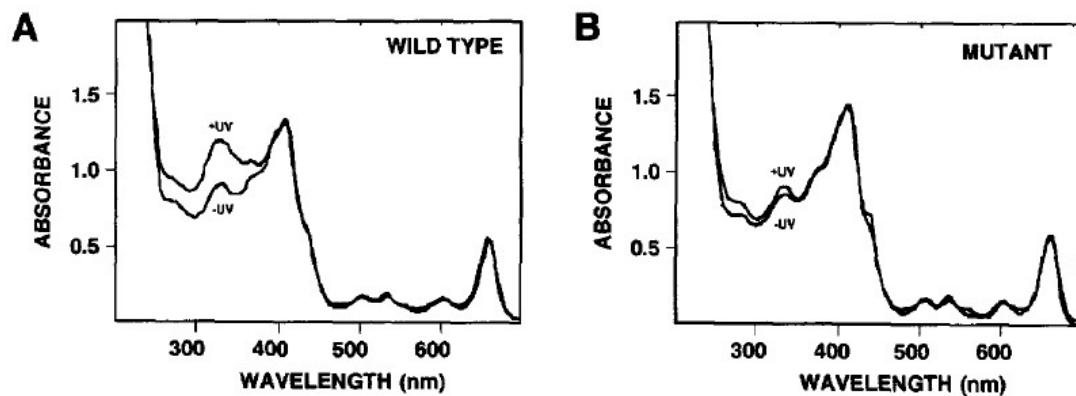


圖 4、野生型阿拉伯芥 (A) 及對 UV 敏感突變株 (B) 分別加入 UV (+UV) 照射與不加入 UV (-UV) 照射處理後抽出物之吸收光譜 (Lois and Buchanan, 1994)。

Figure 4. Absorption spectra of extracts from UV-irradiated (+UV) and non-UV-irradiated (-UV) *Arabidopsis* from either the wild type (A) and UV-sensitive mutant (B). Each extract was prepared from an equal amount of tissue from the aerial parts of at least six plants in 80% ethanol (1 mL 80% ethanol/10 mg tissue).

除黃酮類化合物外，許多植物中的酚類化合物含量亦在照射 UV-B 後有顯著提升，例如 *p*-Coumaric acid (最大吸收波長為 312 nm)、*trans*-Cinnamic acid (最大吸收波長為 308 nm) 及 Phenylalanine (最大吸收波長為 280 nm) 等等，而這些酚類化合物之最大吸收波長皆位於 UV-B 波段。此外，酚類化合物也是合成黃酮類化合物之前驅物，而且 UV-B 照射會刺激 Phenyl propanoid pathway 中 PAL (Phenylalanine ammonium lyase) 及 CHS (Chalcone synthase) 等酵素，而使植物中酚類及黃酮類化合物含量增加 (Rozema *et al.*, 2002 ; Agati *et al.*, 2012)。

由吸收光譜得知酚類及黃酮類化合物可以作為 UV-B 的屏障減少細胞所受到之損傷，此外，黃酮類化合物亦可清除 UV-B 照射後在細胞生成之自由基，避免 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等氧化壓力造成 DNA 鹽基配對錯誤及降低植物光合作用之效率 (Rozema *et al.*, 2002)。圖 5A 顯示黃酮類化合物清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所造成的氧化壓力的方式，其中黃酮類化合物藉由液泡之過氧化酶 (Vacuolar peroxidase, vPX) 可將 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 還原為 H<sub>2</sub>O，氧化後帶有自由基的黃酮類化合物 (Flavonoid radical, F·) 則可能聚合成

為單寧 (Tannin) 類化合物，或與抗壞血酸 (Ascorbic acid, AsA) 反應還原成黃酮類化合物 (Yamasaki *et al.*, 1997)。除此之外，液泡佔據了植物細胞中很大的體積，因此位於液泡膜 (Tonoplast membranes) 內側的過氧化酶可以有效的清除其他胞器產生之  $H_2O_2$  (圖 5B)。而在細胞與細胞間之交互作用中，如果葉肉細胞因為 UV-B 等光照壓力產生  $H_2O_2$ ，則可藉由擴散作用使  $H_2O_2$  轉移至表皮細胞中，藉由黃酮類化合物將其清除 (圖 5C)。

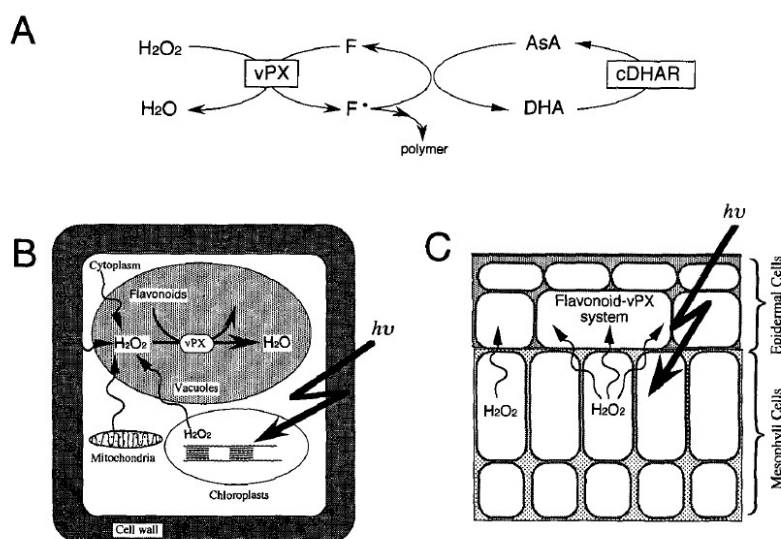


圖 5、黃酮類化合物在生長及光照壓力下保護作用之示意圖。(A) 黃酮類化合物清除  $H_2O_2$  機制之示意圖。(B) 液泡之過氧化酶可清除自然擴散之  $H_2O_2$  (C) 含有多量黃酮類化合物的表皮細胞可清除葉肉細胞中由光照引起之  $H_2O_2$  (Yamasaki *et al.*, 1997)。

Figure 5. A proposed diagram for protective function of flavonoids during growth and light stress. (A) Scheme of the  $H_2O_2$ -scavenging mechanism by flavonoids. (B) The diffusive nature of  $H_2O_2$  enables vPX to scavenge it in vacuoles. (C) The photoproduced  $H_2O_2$  may leak out from mesophyll cells and be scavenged in epidermal cells that have a high flavonoid content. vPX, vacuolar peroxidase; F, flavonoid;  $F\cdot$ , flavonoid radical; AsA, ascorbic acid; DHA, dehydroascorbic acid;  $h\nu$ , light energy; cDHAR, cytosolic dehydroascorbic acid reductase.

## 2.3 UV-B 照射對植物體內活性化合物含量之影響

植物體內活性化合物如酚類及黃酮類化合物於結構中常具有共軛，可以作為輻射傷害的屏障，減少細胞受到 UV-B 照射之能量 (Wilson *et al.*, 1998)。此外，這些活性化合物亦可清除 UV-B 照射後於細胞內產生之自由基 (Yamasaki *et al.*, 1997)，因此植株照射 UV-B 後，常會合成更多量之活性化合物減輕 UV-B 照射對細胞之傷害。

### 2.3.1 單位時間內接收不同能量之 UV-B 照射之影響

Dwivedi 等人 (2014) 對種子發芽後 5 d 的兩種豇豆屬之植株 (*Vigna mungo* (L.) 及 *V. acontifolia* (Jacq.)) 進行試驗。控制組不接收任何 UV-B 能量，除此之外其餘組別皆於自然環境之 UV-B (Ambient UV-B,  $8.6 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) 下，再分別於 1 d 內再給予 1.2、2.4、3.6、4.8 及  $7.2 \text{ kJ m}^{-2}$  之 UV-B 能量。

圖 6 顯示，*V. mungo* 葉子之總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 隨著葉子受到 UV-B 照射能量增加而上升，在 UV-B 能量為 15.8 kJ (Amb + 7.2 kJ) 之組別中 TFC 幾乎增為控制組 2 倍；*V. acontifolia* 葉子之 TFC 亦隨著葉子受到 UV-B 能量之增加而上升，在 UV-B 能量為 11.0 kJ (Amb + 2.4 kJ) 的組別中到達最大值，TFC 約增為控制組之 1.5 倍。而總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 之變化在 *V. mungo* 與 *V. acontifolia* 兩種植物中亦有相似的趨勢。TPC 皆隨著照射 UV-B 能量提升而增加，其中 *V. acontifolia* 葉子的 TPC 於能量 13.6 kJ (Amb + 4.8 kJ) 之組別中到達最大值，約增為控制組之 1.6 倍；*V. mungo* 葉子的 TPC 則於能量 12.2 kJ (Amb + 3.6 kJ) 之組別中到達最大值。



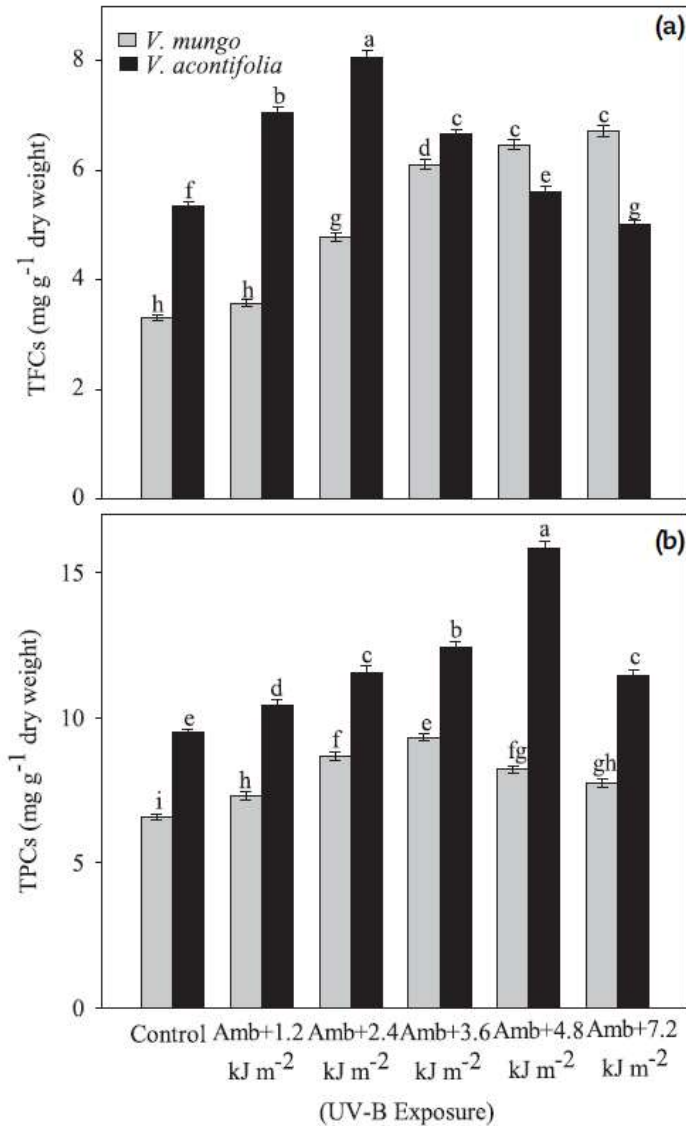


圖 6、增加 UV-B 照射能量後 *Vigna mungo* 及 *V. acontifolia* 之幼苗葉片之 (a) 總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 及 (b) 總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 變化 (Dwivedi *et al.*, 2014)。

Figure 6. (a) Total flavonoid contents (TFC) (b) Total phenolic contents (TPC) in the leaves of *Vigna mungo* and *V. acontifolia* seedlings exposed to enhanced UV-B radiation. Amb, ambient UV-B, 8.6 kJ m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Values are mean ± standard error of three independent experiments with the two replicates in each experiment (n = 6). The bars with different letters denote significance at p < 0.05 between the species for a given treatment according to the Duncan's multiple range test.

Inostroza-Blancheteau 等人 (2014) 對兩種基因型之一年生藍莓 (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Brigitta and Bluegold) 以 0.07、0.12 及 0.19 W m<sup>-2</sup> 強度之 UV-B

照射其葉片 72 h 後，以高效液相層析儀 (High performance liquid chromatography, HPLC) 分別測定葉子中酚酸 (Hydroxycinnamic acid) 類化合物中含量最多的 Chlorogenic acid，及黃酮類化合物中含量最高的蘆丁 (Rutin)。表 1 顯示 Brigitta 及 Bluegold 兩種植物葉子中之 Chlorogenic acid 含量皆會在照射 UV-B 後會有顯著提升，其中 Brigitta 不但具有較高含量之 Chlorogenic acid，也有著較高的化合物增加倍率(0.07 W m<sup>-2</sup> 組別中增為 1.9 倍);但在蘆丁的含量變化結果中,Brigitta 於照射 0.07 W m<sup>-2</sup> 之 UV-B 時化合物含量有顯著提升，但隨著提高照射能量至 0.12 及 0.19 W m<sup>-2</sup>，蘆丁含量即顯著降低；而 Bluegold 中，與對照組相比，蘆丁含量會隨著照射 UV-B 而大幅降低。

表 1、兩種基因型之藍莓葉子於照射 UV-B 後其酚酸類化合物與黃酮類化合物之含量 (Inostroza-Blancheteau *et al.*, 2014)。

Table 1. Concentrations of hydroxycinnamic acid and flavonoids in leaves of two genotypes of highbush blueberry exposed to UV-B

UV-B treatment	Compounds ( $\mu\text{g g}^{-1}$ FW*)	Brigitta	Bluegold
Control	Chlorogenic acid	14905 $\pm$ 902 <sup>c</sup>	8843 $\pm$ 896 <sup>b</sup>
0.07 W m <sup>-2</sup>		27330 $\pm$ 402 <sup>a</sup>	8722 $\pm$ 832 <sup>b</sup>
0.12 W m <sup>-2</sup>		18412 $\pm$ 1341 <sup>b</sup>	13595 $\pm$ 482 <sup>a</sup>
0.19 W m <sup>-2</sup>		19453 $\pm$ 1672 <sup>b</sup>	13221 $\pm$ 1338 <sup>a</sup>
Control	Rutin	26574 $\pm$ 154 <sup>b</sup>	21809 $\pm$ 557 <sup>a</sup>
0.07 W m <sup>-2</sup>		28667 $\pm$ 924 <sup>a</sup>	6553 $\pm$ 786 <sup>b</sup>
0.12 W m <sup>-2</sup>		19001 $\pm$ 929 <sup>c</sup>	7194 $\pm$ 471 <sup>b</sup>
0.19 W m <sup>-2</sup>		19563 $\pm$ 1402 <sup>c</sup>	7485 $\pm$ 185 <sup>b</sup>

\*FW, Fresh weight. Results are mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Different uppercase letters indicate differences ( $p < 0.05$ ) between UV-B treatments within the same timepoint for the same cultivar.

### 2.3.2 不同光照順序對植株活性化合物含量之影響

Duell-Pfaff 及 Wellmann (1982) 利用不同波長照射植物並測量其黃酮類化合物含量。將生長 8 d 歐洲芹 (Parsley, *Petroselinum hortense* Hoffm.) 組織培養

細胞懸浮液，照射不同波長光照後，置於黑暗中 48 h。之後將細胞以液態氮凍住，並以 0.05 M 硼酸緩衝溶液 (Borate buffer) 萃取，離心後取其上清液，以光譜儀測量波長 370 nm 之吸收強度，計算黃酮類化合物之含量。

將照射 10 min UV-B 之組別其黃酮類化合物含量定為 100%，其餘光照組別除以該組後得到相對含量。在不同光照順序中比較黃酮類化合物的相對含量結果顯示 (表 2)，照射遠紅光 (FR) 之組別，其黃酮類化合物含量均較未照射者下降約 30%；而額外照射紅光 (R) 則對黃酮類化合物含量改變不大；然而，在這些光照順序中，可以發現 UV-B 與藍光 (B) 之組合將會大幅增加黃酮類化合物之含量，特別是於 UV-B 照射前先給予藍光照射之組別又更加顯著；相較之下，UV-B 與紅光、UV-B 與遠紅光及藍光與紅光之間則沒有明顯的協同作用。

表 2、連續照射紅光、遠紅光及藍光於照射 UV-B 前後之比較結果 (Duell-Pfaff and Wellmann, 1982)。

Table 2. Comparison between the effects of continuous red (R), far-red (FR) or blue (B) given before or after the UV irradiation.

Program	Amount of flavonoid (%)
10 min UV-B	100
10 min UV-B → 10 min R	100
10 min UV-B → 4 h R	129
4 h R → 10 min UV	127
10 min UV-B → 4 h R → 10 min FR	83
10 min UV-B → 10 min FR	67
10 min UV-B → 10 min B	143
10 min UV-B → 10 min B → 10 min R	141
10 min UV-B → 10 min B → 10 min FR	93
10 min UV-B → 4 h B	241
4 h B → 10 min UV-B	472
10 min UV → 4 h B → 10 min FR	176

UV-B light ( $\lambda < 320$ , fluence rate:  $7.8 \text{ W m}^{-2}$ ); R, red light ( $\lambda_{\text{max}} = 658$ , fluence rate:  $6.7 \text{ W m}^{-2}$ ); FR, far red light ( $\lambda_{\text{max}} = 740$ , fluence rate:  $3.5 \text{ W m}^{-2}$ ); B, blue light ( $\lambda_{\text{max}} = 436$ , fluence rate:  $7.0 \text{ W m}^{-2}$ )

### 2.3.3 不同照射時間之 UV-B 對植株活性化合物含量之影響

Wang 等人 (2017) 以發芽 60 h 之綠豆 (*Vigna radiata*) 幼苗進行試驗，分別對其照射不同時數之 UV-B，0.5 h (0.37 kJ m<sup>-2</sup>)、1 h (0.74 kJ m<sup>-2</sup>)、1.5 h (1.11 kJ m<sup>-2</sup>)、2 h (1.48 kJ m<sup>-2</sup>)、2.5 h (1.85 kJ m<sup>-2</sup>)、3 h (2.21 kJ m<sup>-2</sup>) 及 3.5 h (2.58 kJ m<sup>-2</sup>)，並於照射後採收，乾燥 24 h 後進行化合物含量測定。表 3 顯示綠豆幼苗於 UV-B 照射後亦會累積黃酮類化合物，於照射 UV-B 2.5 h 後 TFC 增加最多，與未照射 UV-B (0 h) 之組別相比，TFC 增為原本之約 1.5 倍；而綠豆幼苗之 TPC 變化情形則顯示照射 0.5、2.0、3.0 及 3.5 h UV-B 與未照射 UV-B 之組別相比並未出現統計上之顯著差異。其中 TPC 增加最多組別同樣為照射 UV-B 2.5 h，但相較於 TFC，綠豆幼苗之 TPC 最大增加倍率僅有 1.03 倍。

表 3、UV-B 照射對綠豆其總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 及總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 變化 (Wang *et al.*, 2017)。

Table 3. The effect of UV-B radiation on total flavonoids contents (TFC) and total phenolic contents (TPC) in mung bean sprouts.

UV-B exposed time (h)	Total flavonoid contents (mg of RE/100 g DW*)	Total phenolic contents (mg of GAE/100 g DW)
0	474.6 ± 4.8 <sup>g</sup>	10434.7 ± 120.1 <sup>b</sup>
0.5	597.6 ± 12.9 <sup>d</sup>	10373.3 ± 86.3 <sup>b</sup>
1.0	546.1 ± 9.0 <sup>e</sup>	10090.7 ± 113.5 <sup>c</sup>
1.5	652.1 ± 6.9 <sup>c</sup>	10053.3 ± 85.5 <sup>c</sup>
2.0	682.4 ± 6.9 <sup>b</sup>	10621.3 ± 121.4 <sup>ab</sup>
2.5	726.7 ± 7.4 <sup>a</sup>	10741.3 ± 68.0 <sup>a</sup>
3.0	637.0 ± 11.6 <sup>c</sup>	10570.7 ± 166.0 <sup>ab</sup>
3.5	525.5 ± 17.3 <sup>f</sup>	10496.0 ± 65.5 <sup>b</sup>

\*DW: Dry weight. Different letters within the same column indicate significant difference at  $p < 0.05$ . Values are mean ± SD ( $n = 3$ ).

Inostroza-Blancheteau 等人 (2014) 對兩種基因型藍莓 (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Brigitta and Bluegold) 之一年生樹苗葉子分別給予不同能量之 UV-B (0.07、

0.12 及 0.19 W m<sup>-2</sup>) 並照射不同時間 (6、24、48 及 72 h) 後，以 Folin-Ciocalteu 法將 Chlorogenic acid 做為標準品測定葉子中之 TPC。圖 7 顯示在兩種基因型的藍莓葉子中，無論照射時間長短，照射能量為 0.12 W m<sup>-2</sup> 之 UV-B 幾乎在所有組別中之 TPC 皆為最高，其中 Brigitta 之 TPC 在照射 24 h 能量 0.12 W m<sup>-2</sup> UV-B 有著最大值；Bluegold 則是以 0.12 W m<sup>-2</sup> 之 UV-B 照射 24 與 72 h 時有最大 TPC。

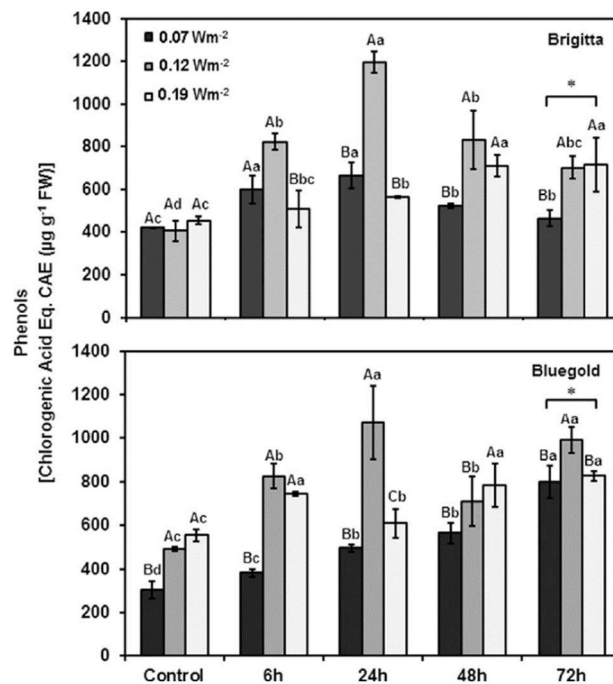


圖 7、兩種基因型之藍莓葉子於不同時間及能量 (UV-B 0.07 Wm<sup>-2</sup>; 0.12 Wm<sup>-2</sup> and 0.19 Wm<sup>-2</sup>) 之 UV-B 照射後總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) (Inostroza-Blancheteau *et al.*, 2014)。

Figure 7. Total phenolic contents (TPC) of leaves of two highbush blueberry genotypes exposed for different hours to different UV-B doses (UV-B 0.07 Wm<sup>-2</sup>; 0.12 Wm<sup>-2</sup> and 0.19 Wm<sup>-2</sup>). Values are mean ± SD (*n* = 3). Different capital letters indicate differences (*p* < 0.05) between UV-B treatments at the same timepoint for the same cultivar. Different lowercase show differences between the same treatment and the same cultivar (*p* < 0.05). Asterisk indicate significant differences (*p* < 0.05) between genotypes at the same timepoint.

#### 2.3.4 重覆每日照射 UV-B 對植株之影響

Harbaum-Piayda 等人 (2010) 對種植 4 週之白菜 (*Brassica campestris* L. ssp *chinensis* var. *communis*) 以能量 0.35-0.42 W m<sup>-2</sup> 之 UV-B 燈源進行採收前處理，每日照射 16 h，並在照射 10 d 後取葉片以球磨方式加入甲醇以超音波振盪進行萃取，離心後取上清液以 HPLC 進行定量分析。表 4 顯示，除了 Hydroxycinnamic acids 之外，白菜葉子經由 10 d UV-B 照射處理之後，其餘黃酮類化合物含量有顯著的提升，而總黃酮類化合物的含量升高了約 1.8 倍 ( $p < 0.001$ )。

表 4、不同採收前處理白菜葉片黃酮類化合物含量 (mg g<sup>-1</sup> dry matter) (Harbaum-Piayda *et al.*, 2010)。

Table 4. Contents of flavonoids in leaf blades of different pre-harvest-treated pak choi plants.

Compound	-UV-B	+UV-B
Total <sup>a</sup>	28.44 ± 3.93	50.24 ± 5.78
Flavonoids (Total) <sup>b</sup>	25.02 ± 4.08	45.85 ± 5.39
Kaempferol-3- <i>O</i> -diglucoside-7- <i>O</i> -glucoside	2.27 ± 0.27	4.02 ± 0.68
Kaempferol-3- <i>O</i> -hydroxyferuloyldiglucoside-7- <i>O</i> -glucoside	1.74 ± 0.44	3.02 ± 0.30
Kaempferol-3- <i>O</i> -caffeoyldiglucoside-7- <i>O</i> -glucoside	5.35 ± 0.91	7.66 ± 1.31
Kaempferol-3- <i>O</i> -sinapoyldiglucoside-7- <i>O</i> -glucoside	6.15 ± 1.65	6.33 ± 2.24
Kaempferol-3- <i>O</i> -feruloyldiglucoside-7- <i>O</i> -glucoside / Kaempferol-diglucoside	5.00 ± 1.06	6.13 ± 1.18
Kaempferol-3- <i>O</i> -feruloyldiglucoside-7- <i>O</i> -glucoside / Isorhamnetin-diglucoside	4.51 ± 1.09	18.70 ± 2.99
Hydroxycinnamic acids (Total) <sup>c</sup>	3.42 ± 0.40	4.39 ± 1.18
Caffeoylmalate	0.30 ± 0.16	0.55 ± 0.10
Hydroxyferuloylmalate	0.11 ± 0.33	0.66 ± 0.98
Feruloylmalate	1.09 ± 0.08	1.08 ± 0.10
Sinapoylmalate	1.45 ± 0.28	1.36 ± 0.60

Results are mean ± SE ( $n = 6$ ). <sup>a</sup>: Sum of all polyphenolic compounds. <sup>b</sup>: Expressed as kaempferol-3-*O*-hydroxyferuloyldiglucoside-7-*O*-glucoside equivalents. <sup>c</sup>: Total hydroxycinnamic acids content was calculated by the sum of quanic acid derivatives (expressed as chlorogenic acid equivalents) and malate and glucose derivatives (expressed as sinapoylmalate equivalents). Each single hydroxycinnamoylmalate was expressed as sinapoylmalate equivalents.

Leon-Chan 等人 (2017) 對播種後成長 28 d 之甜椒 (*Capsicum annuum*) 給予每日 12 h 之生長燈光照 (06:00-18:00), 維持溫度於 25/20°C (日/夜), 並設定相對濕度為 65% 維持 7 d 作為對照組; 低溫處理組 (Low temperature, LT) 則將溫度改為 15/10°C (日/夜); UV-B 處理組則將生長燈光照時間減為 6 h (06:00 至 10:00 及 16:00 至 18:00), 並於每日照射 UV-B 6 h (10:00 至 16:00);

UV-B 能量為  $72 \text{ kJ m}^{-2}$ ，燈管距離植物 50 cm)。並對 Bell pepper 葉子之總黃酮類化合物含量以其中兩種主要的黃酮類化合物 Luteolin-7-*O*-glucoside (L-7-G) 及 Apigenin-7-*O*-glucoside (A-7-G) 進行測定。圖 8 顯示 Bell pepper 葉子之 TFC 於照射 UV-B 後有顯著的增加，TFC 約增為對照組的一倍；然而，LT 處理則對 TFC 並無顯著影響。而圖 9 顯示 Bell pepper 葉子中之兩種黃酮類化合物 L-7-G 及 A-7-G 於照射 UV-B 後均有顯著的增加，其中 L-7-G 之含量更增加為對照組 5 倍。

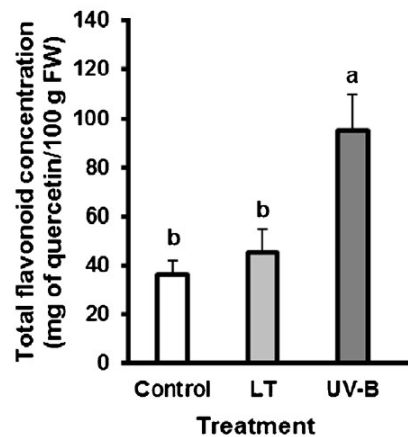


圖 8、Bell pepper 葉子之於低溫處理 (LT) 及照射 UV-B 後總黃酮類化合物含量 (mg of quercetin per 100g of fresh weight) (Leon-Chan *et al.*, 2017)。

Figure 8. Total flavonoid content (mg of quercetin per 100g of fresh weight) in bell pepper leaves exposed to low temperature (LT) and UV-B radiation. Results are mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Numbers followed by different letters are significantly different at the level of  $p < 0.10$  according to the Fisher's test



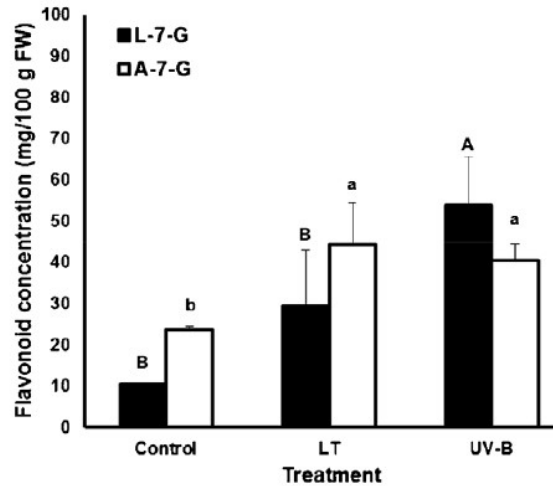


圖 9、Bell pepper 葉子之 Luteolin-7-O-glucoside(L-7-G)及 Apigenin-7-O-glucoside (A-7-G)含量於低溫處理及照射 UV-B 後之含量(Leon-Chan *et al.*, 2017)。

Figure 9. Concentrations of luteolin-7-O-glucoside (L-7-G) and apigenin-7-O-glucoside (A-7-G) in bell pepper leaves exposed to low temperature and UV-B radiation. Results are mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Numbers followed by different letters are significantly different at the level of  $p < 0.10$  according to the Fisher's test.

Hectors 等人 (2014) 以品系 Colombia-0 之阿拉伯芥進行試驗，其種子自發芽後移至生長箱內，給予每日生長燈光照 10 h 與黑暗時間 14 h，以生長 4 w 之植株進行試驗。使用能量為  $0.59-0.62 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  之 UV-B 照射 15 min 後，自第 2 日開始於每日中午進行照射 2 h，分別持續 1、2、3、4、8 及 12 d，並於最後一次照射 UV-B 後給予 20 h 黑暗時間後採收阿拉伯芥進行試驗。圖 10 顯示葉子中此 8 種化合物於照射 UV-B 後含量皆有增加，增加倍率最低為 1.7 倍 (B) Kaempferol-3-O-rhamnoside-7-O-rhamnoside，而最高為 8.5 倍 (H) Kaempferol-3-O-glucosyl-glucoside-7-O-rhamnoside。

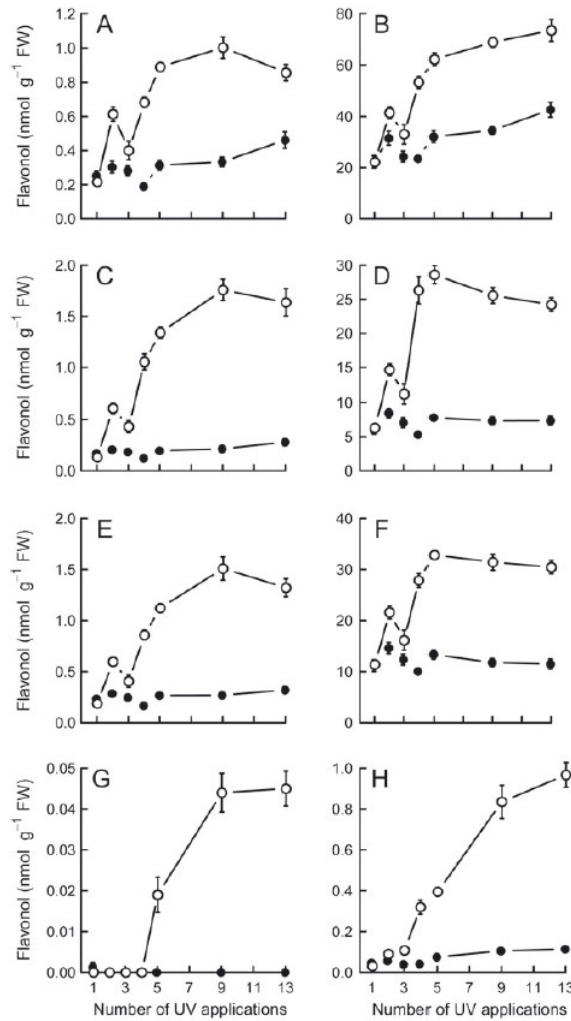


圖 10、阿拉伯芥於未照射 UV (實心圓點) 及照射 UV (空心圓點) 之黃酮醣苷含量變化 (Hectors *et al.*, 2014)。

Figure 10. Flavonol glycoside changes in UV (open circles) and non-UV treated (closed circles) *Arabidopsis thaliana*. (A) Quercetin-3-O-rhamnoside-7-O-rhamnoside. (B) Kaempferol-3-O-rhamnoside-7-O-rhamnoside. (C) Quercetin-3-O-glucoside-7-O-rhamnoside. (D) Kaempferol-3-O-glucoside-7-O-rhamnoside. (E) Quercetin-3-O-rhamnosyl-glucoside-7-O-rhamnoside. (F) Kaempferol-3-O-rhamnosyl-glucoside-7-O-rhamnoside. (G) Quercetin-3-O-glucosylglucoside-7-O-rhamnoside. (H) Kaempferol-3-O-glucosylglucoside-7-O-rhamnoside. Results are mean  $\pm$  SE ( $n = 10$ ). Error bars might be smaller than symbol size. At the beginning of the experiment, plant received 15 min of UV at noon (corresponding to the first application). From the second day on, plants received 2 h of UV daily. Two-way ANOVA showed a significant interaction between treatment and time for all flavonol-glycosides (all  $p < 0.0001$ ).

### III. 研究目的

許多研究已證實多種植株種類照射 UV-B 後，果實或葉子會合成更多總黃酮類及總酚類化合物以降低 UV-B 對細胞造成之傷害。本試驗試材選用之臺灣常見之經濟樹種土肉桂，其葉子主要黃酮類化合物為 Kaempferol 類黃酮醣苷，部分具有良好抗氧化能力及降低血脂潛力。在 UV-B 環境下除了可以做為吸收 UV-B 能量之黃酮類化合物，Kaempferol 類化合物亦對於 UV-B 所誘導生成之自由基亦有良好的清除效果。基於上述推論，土肉桂葉子於照射 UV-B 後可能會累積多量活性化合物。

UV-B 照射試驗中，若於採收後進行光照試驗，則通常活性化合物最大增加倍率有限。而如果是採收前進行 UV-B 照射，先前研究中常照射長時間（12 h 以上）之 UV-B，除了導致日照時間作業困難，較難運用在實際的作物上，對栽種以及生長時間較長的木本植物而言，亦會造成植株受到較大的損傷，甚至枯萎。因此本試驗希望可於不令植株受到不可逆傷害甚至是死亡的情形，測試土肉桂葉子中之活性化合物之含量變化。本試驗於每日固定的生長燈光照後，加入 UV-B 照射，並先對不同光照條件進行測試，嘗試找出可改變最多的活性化合物之條件，並進一步探討增加的化合物，希望可有效率增加其經濟利用價值。



## IV. 材料與方法

### 4.1 試驗材料

本試驗中所使用之土肉桂 (*C. osmophloeum Kanehira*) 購自苗栗之種苗商之 3 年生幼苗，存置於臺北烏來信賢苗圃，於 2013 年移至國立臺灣大學農場溫室栽種，經由氣相層析質譜儀 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 分析鑑定其化學品系為肉桂醛型 (Cinnamaldehyde type)。試驗所採用葉片為發芽後成長三個月以上之深綠色健康成熟葉。此外，進行下列光照試驗後，土肉桂植株皆未出現無法生長、大量落葉或死亡等情形。

### 4.2 光照環境

本試驗之以下各試驗條件中，皆會於生長箱 (Firstek, GC-102H) 中置入 3 株土肉桂植株，相對濕度固定為 90%，溫度則為 25°C，生長燈 (Philips, TLD 36W/840 NS) 光照時間為 06:00-18:00。植株自溫室移入生長箱後，馴化 3 d 後，再加入進行下列不同光照測試條件。

#### 4.2.1 光照距離測定試驗

UV-B 燈管 (Sankyo denki, Japan, G40T 10E) 距離葉片分別為 30、45 及 60 cm (葉片表面測得能量分別為 4.20、3.62 及 2.30 W m<sup>-2</sup>)。植株於生長箱內馴化 3 d 後，於 18:00-22:00 照射 UV-B 4 h，於 22:00-06:00 維持 8 h 之黑暗時間，並於黑暗時間結束後 (06:00) 採收不同距離之目標葉片。

#### 4.2.2 光照順序試驗

本試驗中將植株馴化 3 d 後之植株於 18:00 以 UV-B 及藍光 (東亞電器，臺灣，FL40B/38) 進行不同光照順序試驗，分別為 4 h UV-B(4U)、4 h 藍光(4B)、2 h 藍光 + 2 h UV-B (2B2U)、2 h UV-B + 2 h 藍光 (2U2B)、1 h 藍光 + 3 h

UV-B (1B3U) 及 3 h 藍光 + 1 h UV-B (3B1U)，爾後皆於 22：00-06：00 維持 8 h 之黑暗時間，並於黑暗時間結束後 (06：00) 採收目標葉片。



#### 4.2.3 不同時數光照試驗

馴化 3 d 後之植株自 18：00 開始照射不同時數之 UV-B：2 h (18：00-20：00 為 UV-B，20：00-06：00 為黑暗時間)、4 h (18：00-22：00 為 UV-B，22：00-06：00 為黑暗時間)、6 h (18：00-24：00 為 UV-B，24：00-06：00 為黑暗時間) 及 8 h (18：00-02：00 為 UV-B，02：00-06：00 為黑暗時間)，並於黑暗時間結束後 (06：00) 採收目標葉片。

#### 4.2.4 不同天數連續光照試驗

於生長箱內馴化 3 d 之植株後於 18：00-22：00 照射共 4 h 之 UV-B，並於 22：00-06：00 維持 8 h 之黑暗時間，分別重複此步驟 2、4 及 8 d，並每日之 06：00-18：00 仍維持生長燈照射，於完成指定照射天數後隔日 06：00 採收葉片。

### 4.3 土肉桂葉子抽出物之萃取

本試驗採收土肉桂同一枝條同側之成熟葉片作為對照組，而另一側為光照試驗組。每組內包含約 1 g 鮮重葉子，於該日 06：00 採收後立即浸泡於液態氮中，葉片取出後磨碎至粉狀，浸泡於 45 mL 乙醇(Ethanol, EtOH)中，並以超音波(Crest, CP230 ultrasonic cleaner, 45 kHz, 80 W) 振盪 1 h，過濾後移除葉粉後將濾液分成 2 份，分別做為化合物含量分析及進行水可溶部化合物提取。皆以減壓濃縮機移除溶劑後凍乾，得到土肉桂葉子乙醇粗萃物。

### 4.4 水可溶部化合物提取

土肉桂葉子乙醇粗萃物以二氯甲烷 (Dichloromethane, DCM) 及水 (Water, H<sub>2</sub>O) 進行分層處理，首先將乙醇粗萃物加入 15 mL DCM 及 15 mL 水之後移入

離心管中，將之均勻混合後於 3000 rpm 離心 10 min，並將 DCM 可溶部移除後再次加入 15 mL DCM 混勻後離心，最後再次重複移除及加入 15 mL DCM 混勻並離心之步驟，將上層之水可溶部溶液減壓濃縮後凍乾，即可得水可溶部化合物。

## 4.5 化合物含量分析

### 4.5.1 總酚類化合物含量

總酚類化合物含量 (Total phenolic content, TPC) 試驗參照 Lin 和 Chang (2013) 之 Folin-Ciocalteu 法，使用五倍子酸 (Gallic acid) 為標準品，並以 50% ( $v v^{-1}$ ) 乙醇製備為不同濃度 (5、10、20、40 及 80  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) 300  $\mu\text{L}$  溶液，分別加入濃度 300  $\mu\text{L}$  1N Follin-Ciocalteu 試劑於微量離心管中進行反應，避光靜置 5 min 後加入 600  $\mu\text{L}$  20% ( $w w^{-1}$ ) 碳酸鈉 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )，混合均勻後避光靜置 8 min 後，於 12000 rpm 下離心 10 min。離心後取 300  $\mu\text{L}$  上清液於 96 孔微量測量盤 (96 well microplate) 中並以微量盤式分析儀 (SpectraMax 190, Molecular Devices) 測量 754 nm 之吸光值。各濃度試驗重複數為 3 次，並另外取一組以 50% ( $v v^{-1}$ ) 乙醇取代 Follin-Ciocalteu 試劑作為空白組 (Blank)，最後以五倍子酸濃度對上清液之吸光值計算其標準曲線之回歸式。

分析樣品時則以土肉桂粗萃物取代五倍子酸進行試驗並測量其吸光值，各樣品試驗重複數為 3 次，同樣另外取一組以 50% ( $v v^{-1}$ ) 乙醇取代 Follin-Ciocalteu 試劑作為空白組 (Blank)。將試驗所得之吸光值代入上述五倍子酸之標準回歸式中，即可算出每克乙醇萃取液中所含五倍子酸當量 (Gallic acid equivalent, GAE)，並以  $\text{mg of GAE g}^{-1}$  作為土肉桂葉子乙醇粗萃物中酚類化合物含量單位。

### 4.5.2 總黃酮類化合物含量

總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid content, TFC) 試驗參照 Lin 和 Chang (2013) 用蘆丁 (Rutin) 做為標準品，並以甲醇製備為不同濃度 (6.25、12.5、

25、50 及 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) 150  $\mu\text{L}$  溶液，並加入濃度 2% (w w<sup>-1</sup>) 150  $\mu\text{L}$  之三氯化鋁 ( $\text{AlCl}_3$ ) 於 96 孔微量測量盤混合均勻後，避光靜置 10 min。各濃度試驗重複數為 3 次，另取一組以水取代三氯化鋁溶液作為空白組，以微量盤式分析儀測量 405 nm 之吸光值，以蘆丁濃度對其吸光值計算其標準曲線之回歸式。

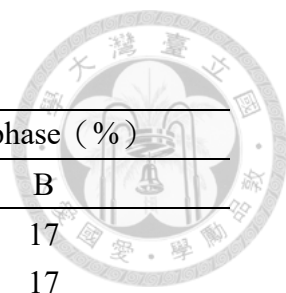
分析樣品時則以土肉桂粗萃物取代蘆丁進行試驗並測量其吸光值，各樣品試驗重複數為 3 次，空白組則以水取代三氯化鋁。將試驗所得之吸光值代入上述蘆丁之標準回歸式中，即可算出每 g 乙醇萃取液中所含蘆丁當量 (Rutin equivalent, RE)，並以 mg of RE g<sup>-1</sup> 作為土肉桂葉子乙醇粗萃物中總黃酮類化合物含量單位。

#### 4.5.3 水可溶部化合物絕對定量

水可溶部中主要化合物於植物照射 UV-B 後之含量變化情形，以高效液相層析儀 (High performance liquid chromatography, HPLC) 分析。使用之管柱為 5C18-AR-II (Cosmosil, Japan, 250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )。高壓幫浦為 Agilent 1200 series quaternary pump G1311A，檢測器則使用 Agilent 1200 series diode array -detector (DAD, 190-950 nm) 多波長檢測器。試驗條件之管柱溫度為 40°C，偵測波長為 280 nm，流速固定為 0.3 mL min<sup>-1</sup>，移動相之溶液系統以極性梯度變化進行，A 為水/甲酸 (Formic acid) (99.9/0.1, v/v) 溶液，B 為乙腈 (Acetonitrile) /甲酸 (99.9/0.1, v/v)。0-10 min 沖提極性固定為 17% B，10-25 min 由 17% B 至 18% B，25-35 min 固定為 18% B，35-45 min 由 18% B 至 40% B，45-55 min 由 40% B 至 50% B，55-65 min 由 50% B 至 60% B，65-70 min 則固定為 60% B 進行沖提 (表 5)。

表 5、HPLC 溶液。

Table 5. HPLC solvent.



Time (min)	Solvent mixture ratios of mobile phase (%)	
	A	B
0	83	17
10	83	17
25	82	18
35	82	18
45	60	40
55	50	50
65	40	60
70	40	60

A : Water

B : Acetonitrile

#### 4.6 統計分析

本研究使用之統計分析是利用統計軟體 R (Version 3.0.2) 進行多樣本中位數差異檢定 (Kruskal-Wallis rank sum test)，檢驗多組不同處理試樣是否具顯著差異，並以 Dunn 法事後比較各處理之差異，分析的信賴區間為 90%。



## V. 結果與討論

### 5.1 單日照射條件對土肉桂葉子活性化合物含量之影響

本試驗為了求得肉桂醛型土肉桂葉子照射 UV-B 後抽出成分之變化，於每日 06：00-18：00 以生長燈照射土肉桂植株 12 h，接著對葉子加入 UV-B 照射，以了解不同 UV-B 照射能量對土肉桂葉子中活性化合物含量之影響。此外，由 Duell-Pfaff 及 Wellmann (1982) 研究結果得知，藍光與 UV-B 搭配照射時常見協同作用，因此，為提升其抽出成分含量，本試驗亦將土肉桂分別經過不同順序的藍光及 UV-B 照射，期能尋得最佳照射條件。

#### 5.1.1 光照距離測定

為尋找最佳之光照距離，對土肉桂植株於生長燈照射結束後加入照射 UV-B 4 h (18：00-22：00)，並量測不同距離 (30、45 及 60 cm，接收 UV-B 能量分別為 60.2、46.3 及 33.5 kJ m<sup>-2</sup>)UV-B 燈源對土肉桂葉子中總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 及總酚類化合物含量變化 (Total phenolic contents, TC) 情形。表 6 顯示土肉桂葉子之總黃酮類化合物含量，距燈源 30 cm 組別照射前 TFC 為 113.7 ± 1.5 mg of RE g<sup>-1</sup>，於照射 UV-B 後顯著提升為 137.5 ± 6.7 mg of RE g<sup>-1</sup>，增為 1.21 ± 0.07 倍；距燈源 45 cm 之組別照射前 TFC 為 103.3 ± 6.2 mg of RE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為 96.1 ± 3.5 mg of RE g<sup>-1</sup>，稍減為原本的 0.93 ± 0.03 倍；距燈源 60 cm 之組別照射前 TFC 為 96.2 ± 2.3 mg of RE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為 100.0 ± 2.1 mg of RE g<sup>-1</sup>，增加為 1.04 ± 0.00 倍。結果顯示，光照距離為 30 及 60 cm 兩組別中土肉桂葉子之 TFC 及改變倍率皆出現顯著差異，其中又以距燈源 30 cm 組別之 TFC 改變倍率最高，增為照射前的 1.21 倍。

表 6、不同距離下 UV-B 照射對土肉桂葉子中總黃酮類化合物含量影響。

Table 6. Changes of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum* leaves from UV-B irradiation with different distances.

Irradiation distances (cm)	Treatments	Total flavonoid contents (mg of RE g <sup>-1</sup> ) <sup>A</sup>	Changing ratio of total flavonoid contents (UV-B Control <sup>-1</sup> , fold) <sup>B</sup>
30	Control	113.7 ± 1.5	1.21 ± 0.07 <sup>a</sup>
	UV-B(4.20 W m <sup>-2</sup> )	137.5 ± 6.7*	
45	Control	103.3 ± 6.2	0.93 ± 0.03 <sup>b</sup>
	UV-B(3.62 W m <sup>-2</sup> )	96.1 ± 3.5	
60	Control	96.2 ± 2.3	1.04 ± 0.00 <sup>ab</sup>
	UV-B(2.30 W m <sup>-2</sup> )	100.0 ± 2.1*	

Results are mean ± SE ( $n = 3$ ). <sup>A</sup> : Results are significantly different (\*) at the level of  $p < 0.10$  according to the  $t$ -test between control and UV-B treatment. <sup>B</sup> : Different letters (<sup>a, b</sup>) are significantly different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different irradiation distances.

表 7 顯示總酚類化合物含量試驗中，距燈源 30 cm 之組別照射前 TPC 為  $70.2 \pm 4.4$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為  $83.8 \pm 6.3$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，增為  $1.21 \pm 0.16$  倍；距燈源 45 cm 之組別照射前 TPC 為  $55.8 \pm 2.3$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為  $64.6 \pm 3.7$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，增為原本的  $1.17 \pm 0.12$  倍；距燈源 60 cm 之組別照射前 TPC 為  $71.0 \pm 4.7$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為  $75.9 \pm 2.8$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，增為  $1.08 \pm 0.06$  倍。結果顯示各組中土肉桂葉子 TPC 於照射 UV-B 後平均值皆有增加，但統計分析上顯示無論是 TPC 或改變倍率皆無顯著差異。

表 7、不同距離下 UV-B 照射對土肉桂葉子中總酚類化合物含量影響。

Table 7. Changes of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from UV-B irradiation with different distances.

Irradiation distances (cm)	Treatments	Total phenolic contents (mg of GAE g <sup>-1</sup> ) <sup>A</sup>	Changing ratio of total phenolic contents (UV-B Control <sup>-1</sup> , fold) <sup>B</sup>
30	Control	70.2 ± 4.4	1.21 ± 0.16 <sup>a</sup>
	UV-B(4.20 W m <sup>-2</sup> )	83.8 ± 6.3	
45	Control	55.8 ± 2.3	1.17 ± 0.12 <sup>a</sup>
	UV-B(3.62 W m <sup>-2</sup> )	64.6 ± 3.7	
60	Control	71.0 ± 4.7	1.08 ± 0.06 <sup>a</sup>
	UV-B(2.30 W m <sup>-2</sup> )	75.9 ± 2.8	

Results are mean ± SE ( $n = 3$ ). <sup>A</sup> : Results are significantly different (\*) at the level of  $p < 0.10$  according to the  $t$ -test between control and UV-B treatment. <sup>B</sup> : Letters (<sup>a</sup>) are no different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different irradiation distances.

Dwivedi 等人 (2014) 對 *Vigna aconitifolia* (Jacq.) 幼苗在 1 d 內分別給予 9.8-15.8 kJ m<sup>-2</sup> 之 UV-B 照射。結果顯示幼苗中 TFC 及 TPC 含量皆隨著 UV-B 能量增加而上升，其中 TFC 於照射 13.6 kJ m<sup>-2</sup> 之 UV-B 後出現最大值，約增為 1.5 倍；TPC 則是於給予 11.0 kJ m<sup>-2</sup> 之 UV-B 照射後出現最大值，約增為 1.5 倍。Inostroza-Blancheteau 等人 (2014) 對藍莓 (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Brigitta) 葉子分別以 0.07、0.12 及 0.19 W m<sup>-2</sup> 強度之 UV-B 照射 72 h。結果顯示照射 0.07 W m<sup>-2</sup> 之 UV-B 可使葉子中蘆丁含量增加為最大值，而蘆丁含量隨能量增加而逐漸減少。由此推測，本試驗土肉桂葉子中之 TPC 於 UV-B 照射前後無顯著差異，可能起因於 UV-B 能量尚未達到足以令 TPC 變化出現顯著差異，亦或給予之 UV-B 能量已超過使其增加臨界值，而令 TPC 已開始減少。此外，光照距離試驗中尚未出現 TFC 或 TPC 倍率有顯著減少之組別，顯示可能可以更進一步的拉進光照距離或者增加光照時間以求得土肉桂葉子中化合物之最大變化倍率，然而由於距離燈管少於 30 cm 會使 UV-B 能量分布不均勻，因此仍決定 UV-B 光照距離為 30 cm。

### 5.1.2 光照順序對活性化合物含量之影響

根據文獻證實，藍光與 UV-B 結合照射會形成協同作用，可以使 UV-B 照射植物的效果提升 (Duell-Pfaff and Wellmann, 1982; Fuglevand *et al.*, 1996; Wade *et al.*, 2001)。因此，得到最佳光照距離後，本研究進一步探討不同種類的光照順序對土肉桂中活性化合物含量之影響，除了照射 4 h UV-B (4U) 之外 (即為光照距離試驗中距燈源 30 cm 之試驗條件)，也測試 4 h 藍光(4B)、2 h 藍光 + 2 h UV-B (2B2U)、2 h UV-B + 2 h 藍光 (2U2B)、1 h 藍光 + 3 h UV-B (1B3U) 及 3 h 藍光 + 1 h UV-B (3B1U) 等光照順序，希望可得到較 4 U 組更高化合物含量之條件。

表 8 結果顯示 4U 組於照射前 TFC 為  $113.7 \pm 1.5$  mg of RE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後顯著提升為  $137.5 \pm 6.7$  mg of RE  $g^{-1}$ ，增為  $1.21 \pm 0.07$  倍；4B 組照射前 TFC 為  $97.6 \pm 2.2$  mg of RE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後為  $102.0 \pm 6.4$  mg of RE  $g^{-1}$ ，增為  $1.04 \pm 0.05$  倍；2B2U 組照射前 TFC 為  $78.3 \pm 3.1$  mg of RE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後顯著提升為  $92.2 \pm 2.5$  mg of RE  $g^{-1}$ ，增為  $1.18 \pm 0.08$  倍；2U2B 組照射前 TFC 為  $84.1 \pm 3.9$  mg of RE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後為  $89.4 \pm 7.2$  mg of RE  $g^{-1}$ ，增為  $1.06 \pm 0.04$  倍；1B3U 組照射前 TFC 為  $101.7 \pm 11.6$  mg of RE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後為  $107.4 \pm 4.1$  mg of RE  $g^{-1}$ ，增為  $1.08 \pm 0.10$  倍；3B1U 組照射前 TFC 為  $117.3 \pm 26.1$  mg of RE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後為  $101.8 \pm 4.4$  mg of RE  $g^{-1}$ ，減為  $0.96 \pm 0.21$  倍。其中顯示僅有 4U 及 2B2U 組別之 TFC 在照射 UV-B 前後會出現顯著差異。值得注意的是 4B 組別之結果顯示僅照射藍光並不會增加葉子之 TFC，但以藍光與 UV-B 交替組合中的 2B2U 組別試驗結果顯示，TFC 增加倍率與 4U 相近 ( $1.21 \pm 0.07$  倍)。但其餘以藍光與 UV-B 交替組合的組別 2U2B、1B3U 及 3B1U 則顯示照射前後與增加倍率並無統計上之顯著差異。上述結果顯示，單獨照射藍光並不會令 TFC 出現顯著提升，但是照射藍光可以與 UV-B 產生協同作用，提高 UV-B 照射的效果；此外 2B2U 與 2U2B 的組別進一步顯示先照射藍光對提高 TFC 的效果較佳。Duell-Pfaff 和 Wellmann

(1982) 及 Fuglevand 等人 (1996) 之結果亦指出，交替使用藍光及 UV-B 可增強植株中 TFC 含量，其中又以先照射藍光再照射 UV-B 之組別增加較多。



表 8、不同光照順序對土肉桂葉子中總黃酮類化合物含量影響。

Table 8. Changes of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum* from irradiation with different order of lights.

Group <sup>A</sup>	Treatment	Total flavonoid contents (mg of RE g <sup>-1</sup> ) <sup>B</sup>	Changing ratio of total flavonoid contents (UV-B Control <sup>-1</sup> , fold) <sup>C</sup>
4U	Control	113.7 ± 1.5	1.21 ± 0.07 <sup>a</sup>
	Irradiated	137.5 ± 6.7*	
4B	Control	97.6 ± 2.2	1.04 ± 0.05 <sup>a</sup>
	Irradiated	102.0 ± 6.4	
2B2U	Control	78.3 ± 3.1	1.18 ± 0.08 <sup>a</sup>
	Irradiated	92.2 ± 2.5*	
2U2B	Control	84.1 ± 3.9	1.06 ± 0.04 <sup>a</sup>
	Irradiated	89.4 ± 7.2	
1B3U	Control	101.7 ± 11.6	1.08 ± 0.10 <sup>a</sup>
	Irradiated	107.4 ± 4.1	
3B1U	Control	117.3 ± 26.1	0.96 ± 0.21 <sup>a</sup>
	Irradiated	101.8 ± 4.4	

<sup>A</sup>: 4U, 4 h UV-B; 4B, 4 h 藍光; 2B2U, 2 h 藍光 + 2 h UV-B; 2U2B, 2 h UV-B + 2 h 藍光; 1B3U, 1 h 藍光 + 3 h UV-B; 3B1U, 3 h 藍光 + 1 h UV-B。Results are mean ± SE ( $n = 3$ ). <sup>B</sup>: Results are significantly different (\*) at the level of  $p < 0.10$  according to the  $t$ -test between control and irradiated treatment. <sup>C</sup>: Letters (<sup>a</sup>) are no different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different groups.

表 9 則顯示不同光照順序對土肉桂葉子中 TPC 之影響，結果顯示 4U 組別照射前 TPC 為  $70.2 \pm 4.4$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為  $83.8 \pm 6.3$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，增為  $1.21 \pm 0.16$  倍；4B 組照射前 TPC 為  $38.4 \pm 5.8$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為  $36.1 \pm 1.6$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，減為  $0.97 \pm 0.09$  倍；2B2U 組照射前 TPC 為  $39.2 \pm 4.3$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，照射 UV-B 後為  $41.5 \pm 2.9$  mg of GAE g<sup>-1</sup>，增為  $1.07 \pm 0.05$  倍；

2U2B 組照射前 TPC 為  $49.7 \pm 5.4$  mg of GAE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後為  $49.4 \pm 4.1$  mg of GAE  $g^{-1}$ ，倍率為  $1.00 \pm 0.02$  倍；1B3U 組照射前 TPC 為  $62.7 \pm 9.9$  mg of GAE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後為  $64.6 \pm 7.8$  mg of GAE  $g^{-1}$ ，增為  $1.04 \pm 0.04$  倍；3B1U 組照射前 TPC 為  $57.0 \pm 9.8$  mg of GAE  $g^{-1}$ ，照射 UV-B 後為  $44.1 \pm 2.0$  mg of GAE  $g^{-1}$ ，減為  $0.81 \pm 0.12$  倍。於 TPC 之分析中，同樣為 4U 組具有最大之增加倍率，但統計分析結果顯示，無論是其光照前後 TPC，或者是其增加倍率，此 6 種光照順序於統計上並無顯著差異。

表 9、不同光照順序對土肉桂葉子中總酚類化合物含量影響。

Table 9. Changes of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different order of lights.

Group <sup>A</sup>	Treatment	Total phenolic contents (mg of GAE $g^{-1}$ ) <sup>B</sup>	Changing ratio of total phenolic contents (UV-B Control <sup>-1</sup> , fold) <sup>C</sup>
4U	Control	70.2 ± 4.4	1.21 ± 0.16 <sup>a</sup>
	Irradiated	83.8 ± 6.3	
4B	Control	38.4 ± 5.8	0.97 ± 0.09 <sup>a</sup>
	Irradiated	36.1 ± 1.6	
2B2U	Control	39.2 ± 4.3	1.07 ± 0.05 <sup>a</sup>
	Irradiated	41.5 ± 2.9	
2U2B	Control	49.7 ± 5.4	1.00 ± 0.02 <sup>a</sup>
	Irradiated	49.4 ± 4.1	
1B3U	Control	62.7 ± 9.9	1.04 ± 0.04 <sup>a</sup>
	Irradiated	64.6 ± 7.8	
3B1U	Control	57.0 ± 9.8	0.81 ± 0.12 <sup>a</sup>
	Irradiated	44.1 ± 2.0	

<sup>A</sup> : 4U, 4 h UV-B; 4B, 4 h 藍光; 2B2U, 2 h 藍光 + 2 h UV-B; 2U2B, 2 h UV-B + 2 h 藍光; 1B3U, 1 h 藍光 + 3 h UV-B; 3B1U, 3 h 藍光 + 1 h UV-B。 <sup>B</sup> : Results are significantly different (\*) at the level of  $p < 0.10$  according to the *t*-test between control and irradiated treatment. <sup>C</sup> : Letters (<sup>a</sup>) are no different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different groups.

上述試驗證明照射藍光與 UV-B 會產生協同作用，使照射效果等同於照射較

高能量的 UV-B。但儘管証明了照射藍光與 UV-B 之間距有協同作用，於 TFC 分析試驗結果中，2B2U 組之增加倍率卻未超越 4U，因此後續決定僅採用 UV-B 作為光照。



## 5.2 照射時數對活性化合物增加倍率之影響

由於上述試驗中皆將總試驗光照時間固定為 4 h，因此為測試單日內可能得到的最大化合物改變倍率，本試驗進一步將 UV-B 光照時間調整為 2、4、6 及 8 h。此外為了減低生物變異性造成之影響，往後試驗皆將重複數提升，每組光照試驗分 3 次獨立試驗，每次包含生物性的 3 重複試驗，圖中每點代表單次獨立試驗之平均值。圖 11 顯示 UV-B 光照時間為 2、4、6 及 8 h 此 4 組之 TFC 分別為  $1.06 \pm 0.03$ 、 $1.11 \pm 0.07$ 、 $1.06 \pm 0.08$  及  $1.09 \pm 0.05$  倍，其中照射 4 h 及 8 h UV-B 的組別 TFC 改變倍率相近，故單日對土肉桂葉子增加 TFC 最佳的 UV-B 光照時間為 4 h 或 8 h。Yang 等人 (2017) 之試驗結果顯示，植株於照射高強度的 UV-B 後加入黑暗時間，會較僅有照射 UV-B 之組別有更高的蘆丁及 Kaempferol-3-*O*-rutinose 含量。且有部分酵素之活性會隨著照射 UV-B 後，給與黑暗時間增長而增加；因此，照射 UV-B 後給予的黑暗時間，可能亦為照射 4 h UV-B 組別之 TFC 較高的原因。

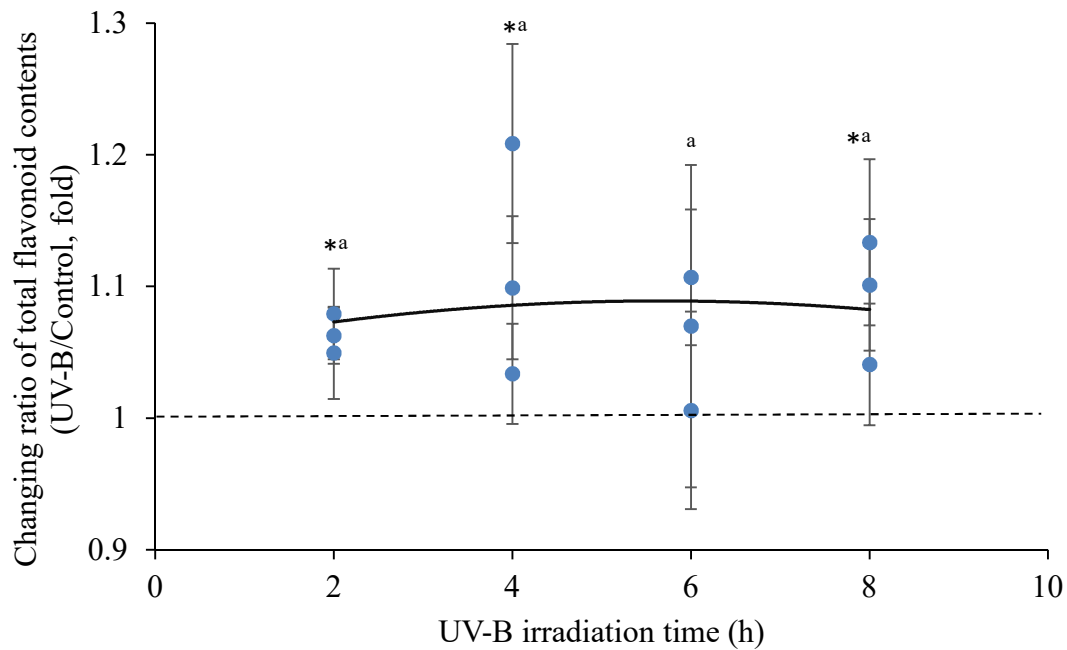


圖 11、UV-B 不同光照時數土肉桂葉子總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 之改變倍率。

Figure 11. Changing ratios of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different hours of UV-B. Results are mean  $\pm$  SE (For each point  $n = 3$ ). Results of the changing ratio from individual irradiation time are significantly different (\*) at the level of  $p < 0.10$  according to the  $t$ -test from 1. Letters (a) are no different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different irradiation time.

圖 12 顯示單日內對土肉桂葉子照射 2、4、6 及 8 h UV-B 後，其 TPC 分別增加為  $1.03 \pm 0.06$ 、 $1.11 \pm 0.05$ 、 $1.17 \pm 0.06$  及  $1.14 \pm 0.03$  倍，UV-B 照射時間由 6 h 增加為 8 h 則會使 TPC 改變倍率下降。Inostroza-Blancheteau 等人 (2014) 亦對藍莓葉片分別以  $0.07$  及  $0.12 \text{ W m}^{-2}$  強度之 UV-B 照射不同時間 (6、24、48 及 72 h)，兩種強度之 UV-B 對藍莓 TPC 增加倍率皆於照射 24 h 後出現最大值，並隨著照射時間增加為 48 及 72 h 而增加倍率下降，與本試驗結果相似。



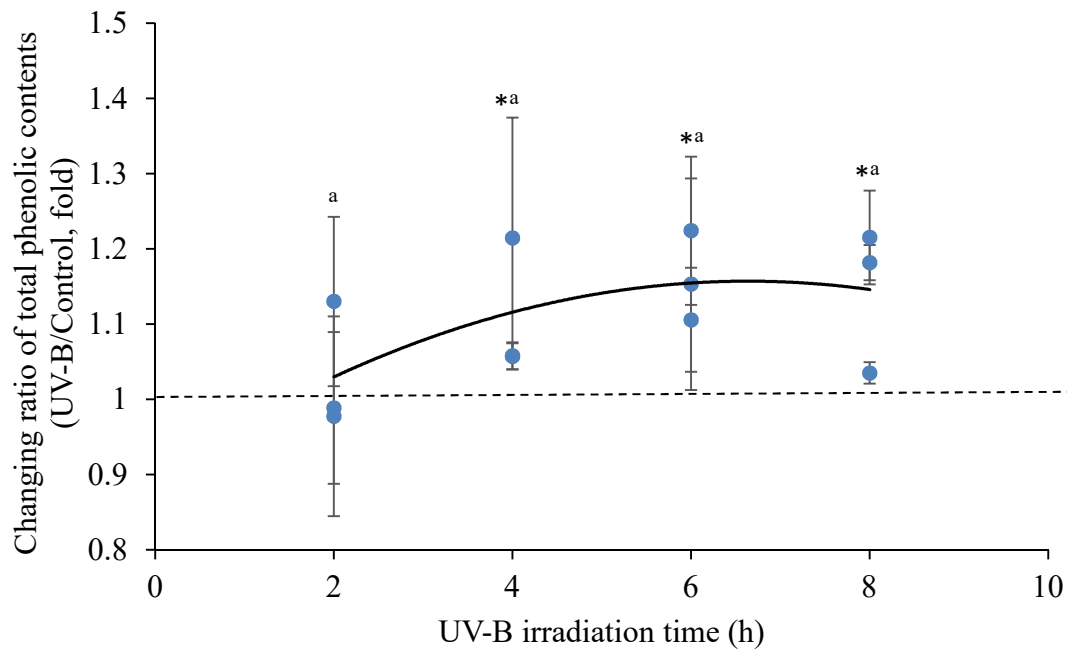


圖 12、UV-B 不同光照時數對土肉桂葉子總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 之改變倍率。

Figure 12. Changing ratios of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different hours of UV-B. Results of the changing ratio from individual irradiation time are mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Results are significantly different (\*) at the level of  $p < 0.10$  according to the  $t$ -test from 1. Letters (a) are no different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different irradiation time.

本試驗為利用生長燈照射期間外，共 12 h (18:00-06:00) 之時間進行 UV-B 照射與黑暗時間之分配，UV-B 照射時間過長會使植物修復時間不足，而黑暗時間過長則會使 UV-B 刺激植株的能量不足，因此會有一改變倍率最大值。TFC 改變倍率之趨勢線顯示照射 4 h 及 6 h 同樣有相近的單日最大的增加倍率，但實際上多給予的 1.5 倍 UV-B 照射能量並未令 TFC 倍率有更大的提升。此外照射 2、4 及 8 h UV-B 之組別其 TFC 改變倍率與 1 有統計上之顯著差異，反之照射 6 h UV-B 之組別並未出現統計上之顯著差異；於 TPC 改變倍率中，趨勢線顯示照射

6 h UV-B 時有最大的改變倍率，此外照射 4、6 及 8 h UV-B 之 TPC 改變倍率與 1 有顯著差異。因此綜合 TFC 與 TPC 結果，選擇照射 4 h UV-B 可能為單日改變最大倍率之合適條件。



### 5.3 光照後水可溶部黃酮醣苷化合物含量變化

#### 5.3.1 水可溶部化合物

為進一步瞭解土肉桂葉子中化合物變化倍率情形，因此將土肉桂葉子之粗萃物以水與二氯甲烷進行分層處理。其中二氯甲烷可溶部中主要化合物為葉綠素及構成葉子表面蠟質成分之烴類化合物；水可溶部經由 HPLC 分析後得到其層析圖（圖 13）。與文獻（林岳賢，2008；陳科如，2007；俞伯誠，2014）比對後，水可溶部之主要 5 種黃酮類化合物分別為，Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F1)、Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F2)、Kaempferitrin (F3)、Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F4) 及 Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (F5) (圖 14)。因此決定對此 5 種化合物進行絕對定量，測定其在土肉桂葉子中照射 UV-B 前後之變化。

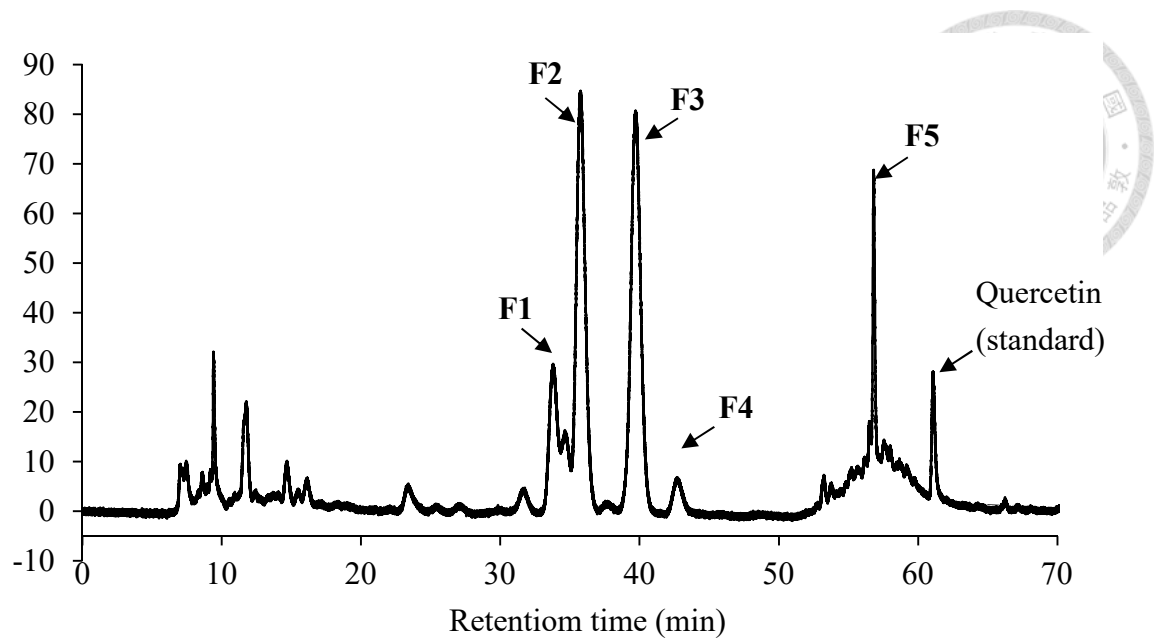


圖 13、土肉桂葉子抽出物之水可溶部之 HPLC 圖譜。

Figure 13. HPLC chromatogram of water fraction from *C. osmophloeum* leaves extraction. **F1**: Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. **F2**: Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. **F3**: Kaempferitrin. **F4**: Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. **F5**: Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside.

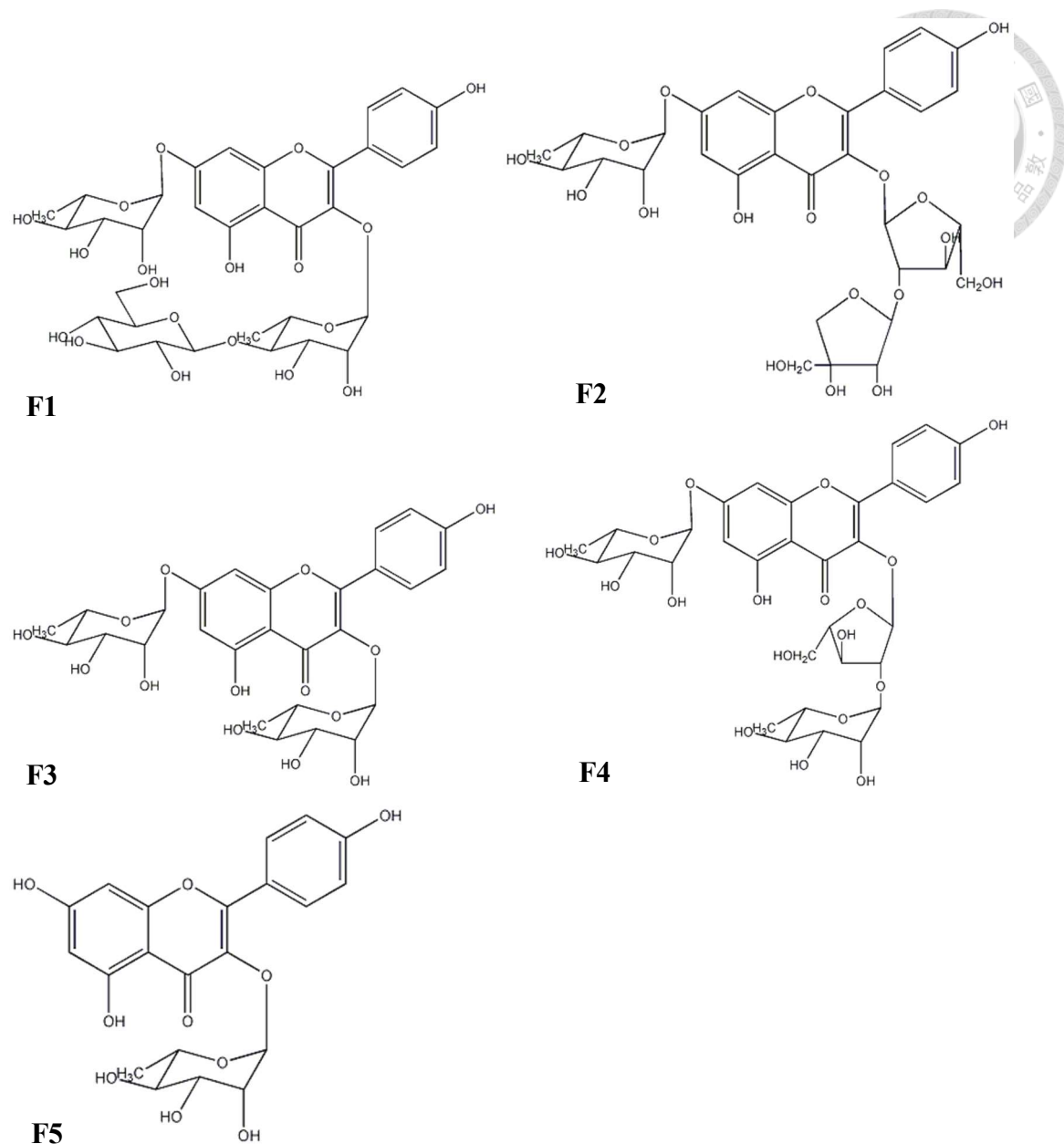


圖 14、土肉桂葉子抽出物之水可溶部化合物 **F1-F5** 之結構 (林岳賢, 2008; 陳科如, 2007; 俞伯誠, 2014)。

Figure 14. Structure of compound **F1-F5** from the water fraction of *C. osmophloeum* leaves extracts. **F1**: Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. **F2**: Kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. **F3**: Kaempferitrin. **F4**: Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. **F5**: Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside.

### 5.3.2 單日光照試驗水可溶部化合物含量變化

絕對定量結果顯示，在未照射 UV-B 的組別中，土肉桂葉子中每 g 水可溶部化合物中分別含有化合物 F1：22.2 ± 1.5 mg、F2：109.7 ± 8.2 mg、F3：51.6 ± 4.5 mg、F4：8.7 ± 0.7 mg 及 F5：3.9 ± 0.7 mg (Results are mean ± SE,  $n = 27$ )。圖 15 顯示對土肉桂葉子光照不同時數之 UV-B 後水可溶部化合物之改變倍率，化合物 F1 分別於照射 2、4、6 及 8 h UV-B 後改變為原本之 1.07、1.08、1.08 及 1.09 倍；F2 為 1.06、1.11、1.10 及 1.10 倍；F3 改變為 1.11、1.07、1.10 及 1.12 倍；F4 改變為 1.00、1.16、1.05 及 1.12 倍；F5 則是改變為原本之 1.06、1.11、1.15 及 1.29 倍。然而即便平均值有上升，統計結果則顯示無論何種化合物，照射不同時數的 UV-B 對其改變倍率影響皆沒有顯著差異。

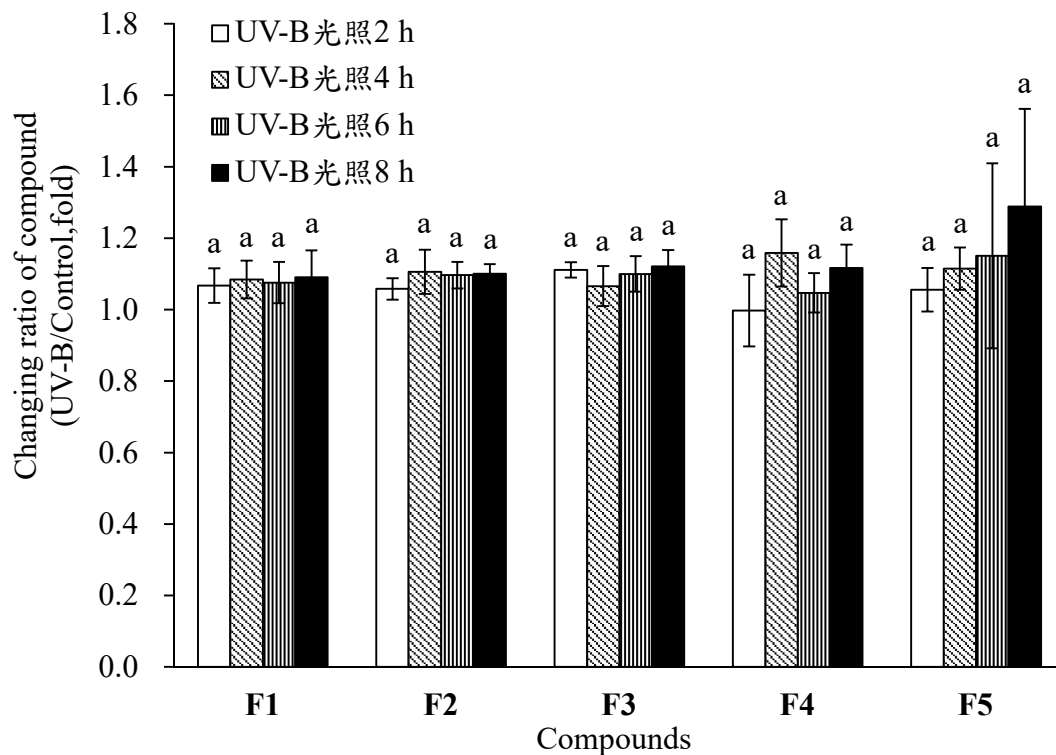


圖 15、UV-B 光照不同時數對水可溶部化合物之改變倍率。

Figure 15. Changing ratios of the water fraction compounds from irradiation with different hours of UV-B. Results are mean ± SE ( $n = 3-9$ ). Letters (<sup>a</sup>) are no different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different treatments at the same compound.

以上結果顯示，照射不同時數之 UV-B 對水可溶部中 5 種化合物之改變倍率影響沒有顯著差異；而從總黃酮類及總酚類化合物改變倍率（圖 11 和圖 12）顯示，照射 UV-B 4 h 可能是較佳的試驗條件。後續試驗為測試土肉桂葉子之各種活性化合物是否可能有更大的改變倍率，因此將以前述試驗得出，距離燈源 30 cm，僅使用 UV-B 燈源照射 4 h 為條件進行後續試驗。

## 5.4 連續光照後化合物含量變化

### 5.4.1 連續光照對活性化合物改變倍率之影響

前述試驗中顯示單日照射 4 h UV-B 可使土肉桂葉子之 TFC 有著最單日之最大的增加倍率，為進一步測試土肉桂葉子之化合物是否有更高之增加倍率，因此將照射 4 h UV-B 之過程重複 2、4 及 8 d。圖 16 顯示土肉桂葉子之 TFC 改變倍率會於照射 2、4 及 8 d UV-B 後分別增為  $1.11 \pm 0.03$ 、 $1.39 \pm 0.10$  及  $1.43 \pm 0.11$  倍，其中照射時間由 2 d 增為為 4 d 時 TFC 增加倍率會顯著的增為 1.39 倍，但近而將照射時間再延長為 8 d，其 TFC 增加倍率（ $1.43 \pm 0.11$ ）卻並未與照射 4 d 時有顯著差異。

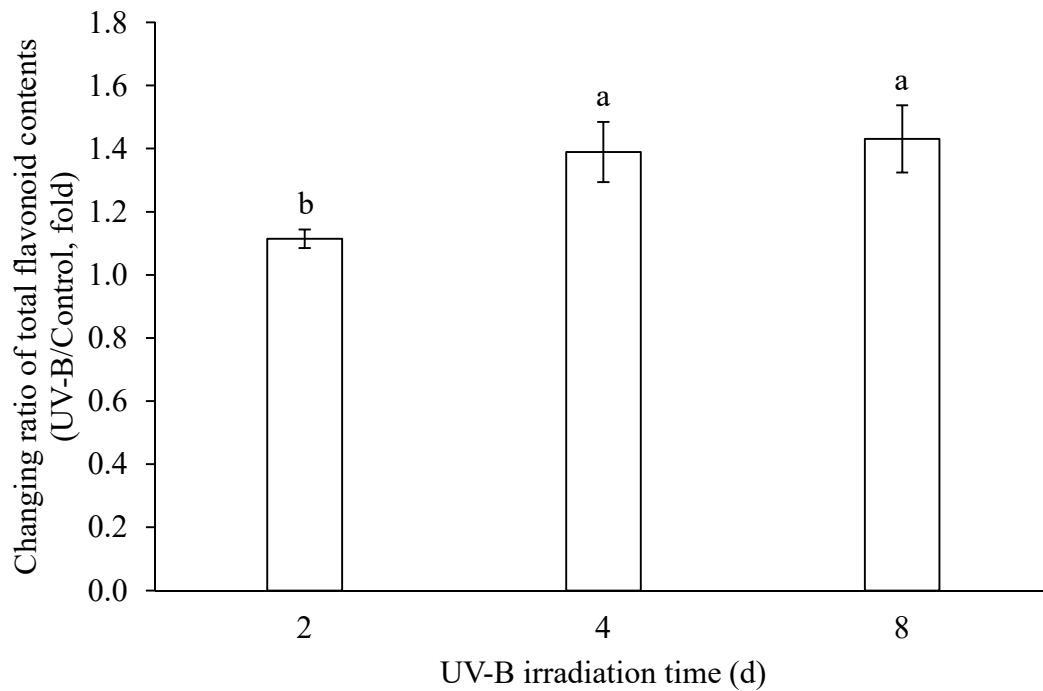


圖 16、UV-B 光照不同天數對土肉桂葉子總黃酮類化合物含量 (Total flavonoid contents, TFC) 之改變倍率。

Figure 16. Changing ratios of total flavonoid contents (TFC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different days of UV-B. Results are mean  $\pm$  SE ( $n = 9$ ). Different letters (<sup>a, b</sup>) are significantly different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test.

圖 17 顯示，土肉桂葉子於重複照射 2、4 及 8 d 之 4 h UV-B 後，TPC 改變倍率分別增為  $1.12 \pm 0.02$ 、 $1.20 \pm 0.05$  及  $1.37 \pm 0.08$  倍，其中照射 UV-B 時間由 2 d 增加為 4 d 時 TPC 增加倍率未顯著提升，但進一步延長照射時間為 8 d 時，其 TPC 增加倍率顯著增為  $1.37 \pm 0.08$  倍。

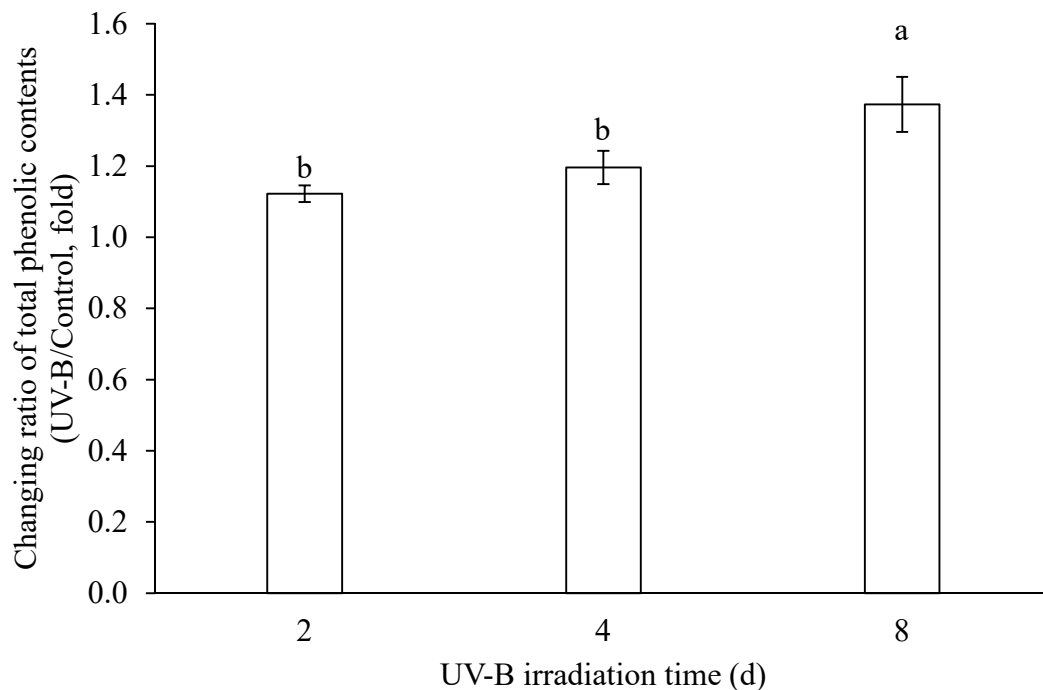


圖 17、UV-B 光照不同天數對土肉桂葉子總酚類化合物含量 (Total phenolic contents, TPC) 之改變倍率。

Figure 17. Changing ratios of total phenolic contents (TPC) of *C. osmophloeum* leaves from irradiation with different days of UV-B. Results are mean  $\pm$  SE ( $n = 9$ ). Different letters (<sup>a, b</sup>) are significantly different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test.

Dwivedi 等人 (2014) 及 Inostroza-Blancheteau 等人 (2014) 之試驗方式雖然與連續光照試驗之條件不同，但兩者之試驗中之 TFC 或 TPC 到達最大值之後均會隨著照射時間或給予 UV-B 能量增加而下降。本試驗中 TFC 結果顯示照射 2 d UV-B 與照射 4 d 有顯著差異，但照射時間延長至 8 d 後雖然 TFC 平均值有增加，但未與 4 d 的組別出現顯著差異。此變化趨勢顯示，土肉桂之 TFC 改變倍率在照射 4-8 d UV-B 時出現最大值，並可能於照射天數增加後改變倍率逐漸減少；或者亦有可能於照射天數增加之後顯示 TFC 改變倍率仍會增加，但增加幅度並未如照射 2 d UV-B 增加為 4 d 如此之大。但無論是何種假設，照射 4 d UV-B 仍為最有效率增加土肉桂葉子中 TFC 的條件。而 TPC 部分結果顯示，照射 8 d UV-B 較照射 4 d 時 TPC 改變倍率有顯著增加，因此可能土肉桂葉子仍有更大之 TPC



增加倍率。但 TPC 增加倍率卻並無在照射 UV-B 能量加倍 (4 d 增為 8 d) 之情形下加倍 (1.20 增為 1.37 倍), 因此以上結果顯示決定照射土肉桂 4 h UV-B 連續 4 d 為最有效率增加葉子之 TPC 之方式。



#### 5.4.2 連續光照對水可溶部化合物增加倍率及推論

以 HPLC 將土肉桂葉子中水可溶部化合物進行絕對定量, 圖 18 顯示水可溶部中此 5 種 Kaempferol 類黃酮醣苷, **F1-F5** 於照射 2 d UV-B 後分別增為  $1.17 \pm 0.07$ 、 $1.16 \pm 0.04$ 、 $1.23 \pm 0.04$ 、 $1.29 \pm 0.10$  及  $1.21 \pm 0.08$  倍; 照射 4 d 後則增為  $1.42 \pm 0.10$ 、 $1.42 \pm 0.08$ 、 $1.52 \pm 0.10$ 、 $1.57 \pm 0.13$  及  $1.61 \pm 0.18$  倍; 照射 8 d 後增為  $1.50 \pm 0.11$ 、 $1.48 \pm 0.08$ 、 $1.54 \pm 0.16$ 、 $1.53 \pm 0.13$  及  $1.73 \pm 0.23$  倍。此結果顯示化合物 F1-F5 之改變倍率與 TFC 改變倍率變化趨勢相似。其中 **F1**、**F2** 與 **F3** 於照射 4 d 後進一步顯著增為 1.42、1.42 及 1.52 倍, 然而將照射時間延長至 8 d 時雖含量比起照射 4 d 時改變倍率略有增加, 但與照射 4 d 時相比並未出現顯著差異; 化合物 **F4** 及 **F5** 之化合物改變倍率趨勢雖與 **F1-F3** 相近, 但於統計上並未顯示出照射不同時日造成的改變倍率差異。

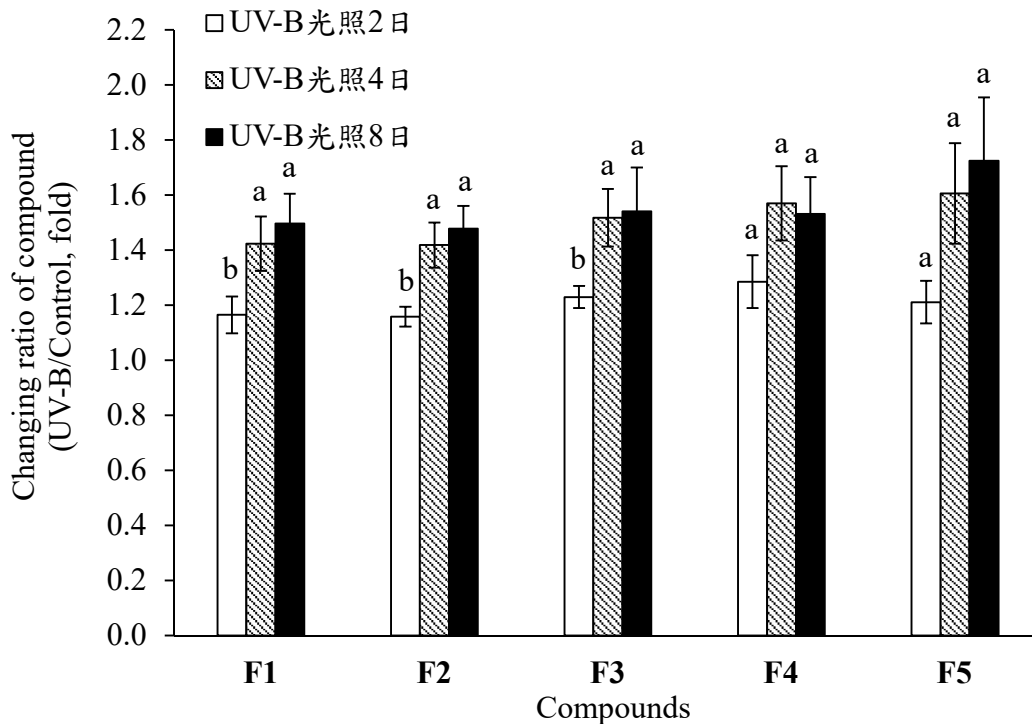


圖 18、UV-B 光照不同天數對水可溶部化合物之改變倍率。

Figure 18. Changing ratios of the water fraction compounds from irradiation with different days of UV-B. Results are mean  $\pm$  SE ( $n = 9$ ) Different letters (<sup>a</sup>, <sup>b</sup>) are significantly different at  $p < 0.10$  according to Kruskal-Wallis rank sum test and Dunn test between different treatments at the same compound.

此結果與 Harbaum-Piayda 等人(2010)及 Hectors 等人(2014)之結果一致，白菜及阿拉伯芥中 Kaempferol 類黃酮醣苷含量皆於照射 UV-B 之後有顯著提升；其中 Hectors 等人(2014)試驗結果中顯示阿拉伯芥連續照射 UV-B 後提升的 8 種黃酮醣苷中，亦包含土肉桂葉子水可溶部中之 F1 及 F3，而此 2 種化合物在阿拉伯芥中連續照射 UV-B 14 h 持續 12 d 後約改變原本之 2 倍。

此外 Hectors 等人(2014)對 Kaempferol-3-*O*-rhamnosyl-glucoside、Kaempferol、Quercetin-3-*O*-rhamnosyl-glucoside 及 Quercetin 4 種化合物測定其吸收光譜，結果顯示在吸收光譜中，此 2 種 Flavonol di-glycosides 於 UV-B 波段的吸收效率皆較其 Aglycone 提高約 30%。證實 Kaempferol 類黃酮醣苷在隨著 UV-B 能量增強後也逐漸累積在葉子中，推測可用以吸收更多 UV-B 能量及清除細胞內之自由基以

減少 UV-B 照射所造成的傷害。

Hectors 等人 (2014) 及 Yin 等人 (2014) 對阿拉伯芥中之黃酮醣苷進行試驗，其中 Kaempferol-3-*O*-glucosyl-glucoside-7-*O*-rhamnoside、Kaempferol-3-*O*-glucoside-7-*O*-rhamnoside、Kaempferol-3-*O*-rhamnosyl-glucoside-7-*O*-rhamnoside (即為圖 14 之 F1) 及 Kaempferol-3-*O*-rhamnoside-7-*O*-rhamnoside (即為圖 14 之 F3) 4 種 Kaempferol 黃酮醣苷在阿拉伯芥連續光照 12 d UV-B 後，化合物含量會顯著增加。而其中生合成黃酮類化合物的數種基因，包含 *CHALCONE SYNTHASE* (*CHS*)、*CHALCONE ISOMERASE* (*CHI*) 及 *FLAVONOL SYNTHASE* (*FLS*)，受到數種轉錄因子調控，這些轉錄因子又會由於 UV-B 照射而活化。因此 UV-B 照射會使 *CHS*、*CHI* 及 *FLS* 等基因表現量增加 (Stracke *et al.*, 2010)。此外，Oravec 等人 (2006) 利用 *uvr8-1* 突變株的研究證實其中的 Flavonol-7-*O*-rhamnosyltransferase, UGT89C1 (AT1G06000 encoded)，此酵素在 UV-B 照射後表現量會增加。而 Flavonol-7-*O*-rhamnosyltransferase 在阿拉伯芥中為 Kaempferol-3-*O*-glucoside-7-*O*-rhamnoside、Kaempferol-3-*O*-rhamnosyl-glucoside-7-*O*-rhamnoside 及 Kaempferol-3-*O*-rhamnoside-7-*O*-rhamnoside 4 種 Kaempferol 黃酮醣苷生合成路徑中的最後一步。因此，綜合上述之調控，UV-B 照射可能為這 4 種阿拉伯芥中黃酮醣苷含量增加的原因之一。

比較文獻後可以得知土肉桂葉子水可溶部中的其中 2 種黃酮醣苷 F1 及 F3，亦存在於阿拉伯芥葉子中，且同樣會於照射 UV-B 後有顯著增加；此外，阿拉伯芥的黃酮類生合成路徑中亦證實照射 UV-B 後，合成 F1 及 F3 之酵素表現量會上升。雖然目前土肉桂葉子中黃酮類化合物生成機制尚未被確認，但阿拉伯芥的試驗結果顯示土肉桂葉子中之酵素也有可能於照射 UV-B 後會提高表現量。

## VI. 結論及建議

近年來已有許多 UV-B 照射對植株活性化合物含量影響的相關研究，採收後再照射 UV-B 通常會導致化合物之最大改變倍率較低；此外，採收前照射之相關的研究多為高強度長時間照射，雖然可以得到較佳的改變倍率，但對於生長時間較長的木本植物而言，此照射方式常常會對植株造成大量傷害，甚至死亡。本試驗模擬實際應用時，於日落後對植株照射 UV-B，並給予植株修復組織之黑暗時間，期許可以在不對植株造成太大損傷的同時，亦找出增加活性化合物含量的良好光照條件。

本試驗先對不同距離的土肉桂葉片照射 UV-B，並以葉子中總黃酮及總酚類化合物含量的改變決定最佳的光照距離。結果顯示距燈源 30 cm 之組別照射 4 h UV-B 後，葉子中 TFC 顯著增為  $1.21 \pm 0.07$  倍，較距燈源 45 cm 及 60 cm 2 組之 TFC 增加倍率更高。而 3 種光照距離下，葉子中 TPC 於照射前後並無顯著差異，故決定採用 30 cm 作為光照距離，以此條件測試更多光照方式。

進一步於距燈源 30 cm 下以不同光照順序照射土肉桂葉子 4 h，結果顯示，2B2U 的組別 TFC 於光照後顯著增為  $1.18 \pm 0.08$  倍，但是 4B 及 2U2B 組別之 TFC 則於光照前後沒有顯著差異，證實照射藍光與 UV-B 的協同作用亦存在於土肉桂葉子中。但由於 TPC 部分在光照前後沒有顯著差異，且 TFC 的改變倍率仍較照射 4 h UV-B 組別低，因此最後決定僅採用 UV-B 作為照射燈源。

接著改變照射 UV-B 之時間，測試單日中土肉桂葉子內活性化合物的含量變化。結果顯示照射 4 h 或 8 h UV-B 可以使 TFC 有較佳的增加效果；而 TPC 部分則在照射 6 h UV-B 時增加倍率最高，照射 4 h 及 8 h 之 TPC 改變倍率則較照射 6 h 組為低。而除了 TFC 及 TPC，亦對土肉桂葉子水可溶部中 5 種黃酮糖苷進行含量分析，結果顯示可能由於生物變異性較大，因此照射不同時間之 UV-B 對 5 種化合物各含量改變皆沒有顯著差異。因此，TFC 部分照射時間由 4 h 增加至 8

h，並未使 TFC 增為原本 2 倍；TPC 部分照射時間由 4 h 增為 6 h 後，TPC 也未增為原本 1.5 倍，故選擇僅以照射 4 h UV-B 為單日照射時間之條件。

綜合先前條件，土肉桂葉片距燈源 30 cm，以 UV-B 照射 4 h 是單日內最有效率增加葉子中活性化合物的條件。為測試土肉桂葉片活性化合物最大改變倍率，因此決定將此條件重複多日並觀察活性化合物之改變倍率變化。結果顯示土肉桂葉子於照射 UV-B 時間由 2 d 增為照射 4 d 後，TFC 倍率會由  $1.11 \pm 0.03$  倍顯著上升為  $1.39 \pm 0.10$  倍，但進一步延長照射 UV-B 時間為 8 d，則未顯示與照射 4 d UV-B 組有 TFC 增加倍率的顯著差異。因此，照射 4 d UV-B 是最有效率的 TFC 增加條件。TPC 部分則是於照射時間由 4 d 增為 8 d 後，TPC 增加倍率由  $1.20 \pm 0.05$  增為  $1.37 \pm 0.08$  倍。其中 UV-B 照射時間延長 1 倍，但 TPC 增加倍率卻未增加 1 倍。因此雖然 TPC 結果顯示照射 8 d 有著最大的增加倍率，但以效率而言，照射 4 d 才是最有效的 TPC 增加條件。

水可溶部中 5 種黃酮醣苷 F1-F5 變化情形則近似 TFC 之變化趨勢。其中照射 UV-B 時間由 2 d 增為 4 d 後，F1、F2 及 F3 化合物之改變倍率會出現顯著差異，但照射時間為 4 d 與 8 d 之組別其改變倍率卻並未於統計上有顯著差異；而 F4 及 F5 化合物，可能由於標準差較大，因此統計結果顯示無論照射時間長短，F4 及 F5 化合物之改變倍率間皆沒有顯著差異。因此由 F1、F2 及 F3 3 種黃酮醣苷變化情形顯示，照射 4 d 是最有效率的照射方式。

本研究模擬日照，並於日照後額外照射 UV-B 及給與黑暗修復時間，重複數日以增加土肉桂葉子中活性化合物含量，試驗結果顯示 TFC、TPC 及 5 種黃酮醣苷變化情形而言，距離燈源 30 cm 照射 4 h UV-B 並連續照射 4 d 是有效率增加活性化合物之照射條件。雖然目前土肉桂葉子中黃酮類化合物生合成路徑仍未建立完成，但希望本研究可以作為後續實務應用、生合成路徑及酵素探討等基石。

## VII. 參考文獻

- 林岳賢(2008)土肉桂葉部之生理活性成分分析研究。中興大學化學系碩士論文。155頁。
- 林庭宇(2011)土肉桂葉子熱水抽出物對動物降血脂之功效及其成分解析。中興大學森林系所碩士論文。159頁。
- 李漢中、鄭森松、劉茹芸、張上鎮(2003)不同地理品系土肉桂葉部精油之化學多態性。中華林學季刊 36:411-422。
- 許鴻源、陳玉盤、許順吉、許照信、陳建志、張憲昌(1985)簡明藥材學。新醫藥出版社。718頁。
- 張上鎮、鄭森松、王升陽(2009)土肉桂飄香—葉子的神奇功效及應用。臺灣林業 35:116-122。
- 張上鎮、林群雅(2014)「土肉桂」簡易鑑別法及葉片驚奇功效。臺灣林業 40:63-68。
- 陳品方、張上鎮(2002)木材精油應用於環保防黴紙品之研製。中華林學季刊 35:69-74。
- 陳科如(2007)臺灣土肉桂葉中類黃酮糖苷類胰島素活性之研究探討。朝陽科技大學生物科技研究所碩士論文。115頁。
- 俞伯誠(2014)UV-B對採收後土肉桂葉子黃酮類化合物之含量影響。臺灣大學森林系碩士論文。156頁。
- Agati, G., E. Azzarello, S. Pollastri and M. Tattini. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science* 196: 67-76.
- Alonso R., F. J. Berli, A. Fontana P. Piccoli and R. Bottini (2016) Malbec grape (*Vitis vinifera* L.) responses to the environment: berry phenolics as influenced by solar UV-B, water deficit and sprayed abscisic acid. *Plant Physiology and Biochemistry* 109: 84-90.
- Brown B. A., C. Cloix, G. H. Jiang, E. Kaiserli, P. Herzyk, D. J. Kliebenstein and G. I. Jenkins (2005) A UV-B-specific signaling component orchestrates plant UV protection. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 102: 18225-18230.
- Chang, S. T., P. F. Chen, and S. C. Chang (2001) Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology* 77: 123-127.
- Chang, S. T. and S. S. Cheng (2002) Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 1389-1392.
- Chang, C. W., W. L. Chang, S. T. Chang and S. S. Cheng (2008) Antibacterial activities of plant essential oils against *Legionella pneumophila*. *Water Research*

42: 278-286.

- Chao, L. K., K. F. Hua, H. Y. Hsu, S. S. Cheng, J. Y. Liu, and S. T. Chang (2005) Study on the antiinflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 7274 -7278.
- Cheng, S. S., J. Y. Liu, K. H. Tsai, W. J. Chen and S. T. Chang (2004) Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaces of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4395-4400.
- Cheng, S. S., J. Y. Liu, Y. R. Hsui and S. T. Chang (2006) Chemical polymorphism of essential oils and their antifungal activaties from different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves. *Bioresource Technology* 97: 306-312.
- Cheng, S. S, J. Y. Liu, C. G. Huang, Y. R. Hsu, W. J. Chen and S. T. Chang (2009) Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. *Bioresource Technology* 100: 457-464.
- Duell-Pfaff, N. and E. Wellmann (1982) Involvement of phytochrome and blue light photoreceptor in UV-B induced flavonoid synthesis in parsley (*Petroselinum hortense* Hoffm.) cell suspension cultures. *Planta* 156: 213-217.
- Dwivedi, R., V. P. Singh, J. Kumar and S. M. Prasad (2014) Differential physiological and biochemical responses of two *Vigna* species under enhanced UV-B radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 8: 173-181.
- Fang, S. H., Y. K. Rao and Y. M. Tzeng (2005) Inhibitory effects of flavonol glycosides from *Cinnamomum osmophloeum*. on inflammatory mediators in LPS/IFN-c-activated murine macrophages. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13: 2381-2388.
- Feher, B., L. Kozma-Bognar, E. Kevei, A. Hadju, M. Binket, S. J. Davis , R. Ulm and F. Nagy (2011) Functional interaction of the circadian clock and UV RESISTANCE LOCUS 8-controlled UV-B signaling pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* 67: 37-48.
- Fuglevand, G., J. A. Jackson and G. I. Jenkins (1996) UV-B, UV-A and blue light signal transduction pathways interact synergistically to regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidposis*. *Plant Cell* 8: 2347-2357.
- Harbaum-Piayda, B., B. Walter, G. B. Bengtsson, E. M. Hubbermann, W. Bilger and K. Schwarz (2010) Influence of pre-harvest UV-B irradiation and normal or controlled atmosphere storage on flavonoid and hydroxycinnamic acid contents of pak choi (*Brassica campestris* L. ssp *chinensis* var. *communis*). *Postharvest Biology and Technology* 56: 202-208.

- Hayes S., C. N. Velanis, G. I. Jenkins and F. A. Franklin (2014) UV-B detected by the UVR8 photoreceptor antagonizes auxin signaling and plant shade avoidance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 11894-11899.
- Hectors, K., S. Van-Oevelen, J. Geuns, Y. Guisez, M. A. K. Jansen and E. Prinsen (2014) Dynamic changes in plant secondary metabolites during UV acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum* 152: 219-230.
- Heijde, M. and R. Ulm (2012) UV-B photoreceptor-mediated signaling in plants. *Trends in Plant Science* 17: 230-237.
- Inostroza-Blancheteau C., M. Reyes-Diaz, A. Arellano, M. Latsague, P. Acevedo, R. Loyola, P. Arce-Johnson and M. Alberdi (2014) Effects of UV-B radiation on anatomical characteristics, phenolic compounds and gene expression of the phenylpropanoid pathway in highbush blueberry leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 85: 85-95.
- Lee, J. H. (2016) UV-B signal transduction pathway in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Biology* 59: 223-230.
- Lee, M. J., Y. K. Rao, K. Chen, Y. C. Lee and Y. M. Tzeng (2009) Effect of flavonol glycosides from *Cinnamomum osmophloeum* leaves on adiponectin secretion and phosphorylation of insulin receptor- $\beta$  in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Ethnopharmacology* 126: 79-85.
- Leon-Chan, R. G, M. Lopez-Meyer, T. Osuna-Enciso, J. A. Sanudo-Barajas, J. B. Heredia and J. Leon-Felix (2017) Low temperature and ultraviolet-B radiation affect chlorophyll content and induce the accumulation of UV-B-absorbing and antioxidant compounds in bell pepper (*Capsicum annuum*) plants. *Environmental and Experimental Botany* 139: 143-151.
- Lin, T-Y., J. W. Liaw, S. T. Chang and S. Y. Wang (2011) Antidyslipidemic activity of hot-water extracts from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. *Phytotherapy Research* 25: 1317-1322.
- Lin, H. Y. and S. T. Chang (2013) Antioxidant potency of phenolic phytochemicals from the root extract of *Acacia confusa*. *Industrial Crops and Products* 49: 871-878.
- Lois, R. and B. B. Buchanan (1994) Severe sensitivity to ultraviolet-radiation in an arabidopsis mutant deficient in flavonoid accumulation II. mechanisms of UV-resistance in *Arabidopsis*. *Planta* 194: 504-509.
- Molales, L. O., M. Brosche, J. Vainonen, G. I. Jenkins, J. J. Wargent, N. Sipari, A. Strid, A. V. Lindfors, R. Tegelberg and P. J. Aphalo (2013) Multiple roles for UV RESISTANCE LOCUS8 in regulating gene expression and metabolite accumulation in *Arabidopsis* under solar ultraviolet radiation. *Plant Physiology*



161: 744-759.

- Oravec, A., A. Baumann, Z. Mate, A. Brzezinska, J. Monlinier, E. J. Oakeley, E. Adam, E. Schafer, F. Nagy and R. Ulm (2006) CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC1 is required for the UV-B response in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18: 1975-1990.
- Rai, R., R. P. Menna, S. S. Smita, A. Shukla, S. K. Rai and S. Pandey-Rai (2011) UV-B and UV-C pre-treatments induce physiological changes and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. - An antimalarial plant. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 105: 216-225.
- Rozema, J., L. O. Bjorn, J. F. Bornman, A. Gaberscik, D. P. Hader, T. Trost, M. Germ, M. Klisch, A. Groniger, R. P. Shinha, M. Lebert, Y. Y. He, R. Buffoni-Hall, N. V. J. de Bakker, J. van de Staaij and B. B. Meijkamp (2002) The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems - an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 66: 2-12.
- Stracke, R., J. J. Favory, H. Gruber, L. Bartelniewoehner, S. Bartels, M. Binkert, M. Funk, B. Weisshaar and R. Ulm (2010) The *Arabidopsis* bZIP transcription factor HY5 regulates expression of the PFG1/MYB12 gene in response to light and ultraviolet-B radiation. *Plant Cell and Environment* 33: 88-103.
- Tossi V., L. Lamattina, G. I. Jenkins and R. O. Cassia (2014) Ultraviolet-B-induced stomatal closure in *Arabidopsis* is regulated by the UV RESISTANCE LOCUS8 photoreceptor in a nitric oxide-dependent mechanism. *Plant Physiology* 164: 2220-2230.
- Vandenbussche F., K. Tilbrook, A. C. Fierro, K. Marchal, D. Poelman, D. Van Der Straeten and R. Ulm (2014) Photoreceptor-Mediated Bending towards UV-B in *Arabidopsis*. *Molecular Plant* 7: 1041-1052.
- Wade, H. K., T. N. Bibikova, W. J. Valentine and G. I. Jenlins (2001) Interactions within a network of phytochrome, cryptochrome and UV-B phototransduction pathways regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis* leaf tissue. *Plant Journal* 25: 675-685.
- Wang, H., M. Gui, X. Tian, X. Xin, T. Wang and J. Ii (2017) Effects of UV-B on vitamin C, phenolics, flavonoids and their related enzyme activities in mung bean sprouts (*Vigna radiata*). *International Journal of Food Science and Technology* 52: 827-833.
- Wang, S. Y., P. F. Chen, and S. T. Chang (2005) Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against. *Bioresource Technology* 96: 813-818.
- Wargent J. J., V. C. Gegas, G. I. Jenkins, J. H. Doonan and N. D. Paul (2009) UVR8

- in *Arabidopsis thaliana* regulates multiple aspects of cellular differentiation during leaf development in response to ultraviolet B radiation. *New Phytologist* 183: 315-326.
- Wilson, K. E., M. I. Wilson and B. M. Greenberg (1998) Identification of the flavonoid glycosides that accumulate in *Brassica napus* L. cv. Topas specifically in response to ultraviolet B radiation. *Photochemistry and Photobiology* 67: 547-553.
- Yamasaki, H., Y. Sakihama and N. Ikehara (1997) Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Plant Physiology* 115: 1405-1412.
- Yamasaki, S., K. Mizoguchi, N. Kodama and J. Iseki (2017) Lowbush blueberry, highbush blueberry and cranberry extracts protect cucumber (*Cucumis sativus* L.) cotyledons from damage induced by UV-B irradiation. *JARQ-Japan Agricultural Research Quarterly* 51: 241-250.
- Yang, B., Q. Guan, J. Tian and S. Komatsu (2017) Transcriptomic and proteomic analysis of leaves from *Clematis terniflora* DC. under high level of ultraviolet-B irradiation followed by dark treatment. *Journal of Proteomics* 150: 323-340.
- Yen, T. B. and S. T. Chang (2008) Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresource Technology* 99: 232-236.
- Yin, R., K. Han, W. Heller, A. Albert, P. I. Dobrev, E. Zazimalova and A. R. Schaffner (2014) Kaempferol 3-*O*-rhamnoside-7-*O*-rhamnoside is an endogenous flavonol inhibitor of polar auxin transport in *Arabidopsis* shoots. *New Phytologist* 201: 466-475.
- Yin, R. and R. Ulm (2017) How plants cope with UV-B: from perception to response. *Current Opinion in Plant Biology* 37: 42-48.