

國立臺灣大學生物資源暨農學院農藝學系



博士論文

Department of Agronomy

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Doctoral Dissertation

當歸、丹參優良農業操作栽培體系之建立及其  
有效成分生理活性之研究

Establishment of Good Agricultural Practice and Study on  
Physiological Activity of the Active Ingredients in  
*Angelica acutiloba* and *Salvia miltiorrhiza*

張同吳

Tung-Wu Chang

指導教授：盧虎生 博士、曾英傑 博士

Advisor: Dr. Hsu-Sheng Lur, Dr. Yin-Jeh Tzeng

中華民國 103 年 7 月

July, 2014

國立臺灣大學博士學位論文  
口試委員會審定書



當歸、丹參優良農業操作栽培體系之建立及其  
有效成分生理活性之研究

Establishment of Good Agricultural Practice and Study  
on Physiological Activity of the Active Ingredients in  
*Angelica acutiloba* and *Salvia miltiorrhiza*.

本論文係張同吳君 (D94621101) 在國立臺灣大學農藝  
學系、所完成之博士學位論文，於民國 103 年 07 月 30 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：

盧堯生

(指導教授)

曾榮傑

(指導教授)

黃 鵬

胡澤鏡

張孟基

盧美光

## 致謝

這是人生中一段充滿挑戰與感恩的漫長旅程，由衷感謝二位指導教授盧虎生博士與慈濟大學曾英傑博士悉心指導，獲益匪淺，使本論文得以如期完成，稿成復蒙黃鵬場長、胡澤寬教授、張孟基教授、盧美光教授之詳加斧正與建議，謹致上最深的謝意。

感謝花蓮區農業改良場侯前場長福分的鼓勵薦送進修，現任黃鵬場長在試驗研究上的鼎力支持，場內長官范美玲副場長、宣大平秘書、施清田課長以及退休的周明和股長的支持與鼓勵。感謝張榮乾先生不辭辛勞率領田間短工“小姐們”協助田間種植、管理、收穫及考種等工作，助理林志遠先生、賴思羽小姐協助當歸與丹參的田間試驗調查與成分分析等工作，慈濟大學林珏羽同學協助腫瘤細胞之相關試驗。感謝紀進池理事長及王燕惠女士伉儷、李建新博士、蕭瑞煌先生、郭建昇先生、溫光亮牧師、王連泉先生、林東海先生等人在場外試驗的協助，感謝在這段艱辛日子中協助我的貴人、朋友們，謝謝你們的協助與鼓勵，使本論文得以順利完成，特此致上誠摯謝意。

長達九年的博士生生涯，走過了生命中許多的起起落落，感謝家人一路上的體諒與扶持，特別是妻子玉真每天為我的論文禱告，堅固我對上帝的信心，寶貝女兒以琳貼心給我這老爸鼓勵並用功唸書，讓我無後顧之憂，而這幾年來父親與兄弟姊妹們也都給予持續的關心與鼓勵，家人的愛成為我前進的最大動力。

「曠野和乾旱之地必然歡喜，沙漠也必快樂，又像玫瑰開花，必開花繁盛，樂上加樂，而且歡呼。... 在曠野必有水發出，在沙漠必有河湧流。」  
(以賽亞書 35: 1, 2, 6)

「我們曉得萬事都互相效力，叫愛神的人得益處。」，感謝上帝的恩典與保守，願將一切的榮耀、頌讚都歸給天上的父神！



## 目錄

口試委員會審定書 .....	i
致謝 .....	ii
目錄 .....	iii
圖目錄 .....	iv
表目錄 .....	vi
壹、緒論 .....	1
貳、當歸優良農業操作栽培體系之建立 .....	6
一、摘要 .....	7
二、前言 .....	9
三、材料與方法 .....	12
四、結果與討論 .....	17
五、結論 .....	29
六、參考文獻 .....	30
參、丹參優良農業操作栽培體系之建立 .....	49
一、摘要 .....	50
二、前言 .....	53
三、材料與方法 .....	56
四、結果與討論 .....	61
五、結論 .....	71
六、參考文獻 .....	72
肆、當歸、丹參之有效成分對抑制腫瘤細胞及生理活性之探討 .....	92
一、摘要 .....	93
二、前言 .....	95
三、材料與方法 .....	98
四、結果與討論 .....	102
五、結論 .....	108
六、參考文獻 .....	109
伍、總結 .....	131



## 圖目錄

### 貳、當歸優良農業操作栽培體系之建立

圖 2-1、阿魏酸(ferulic acid)與藁本內酯(Z-ligustilide)的化學構造式	32
圖 2-2、當歸有效成分之 HPLC 指紋圖譜	33
圖 2-3、當歸不同生育階段的植株形態	33
圖 2-4、2007-2009 年花蓮地區的月平均溫度之比較	35
圖 2-5、2007-2009 年花蓮地區的月平均降雨量之比較	35
圖 2-6、花蓮地區生產之當歸與市售當歸有效成分阿魏酸(A)與藁本內酯(B)含量之比較	36
圖 2-7、當歸在不同生育階段農藝性狀之變化情形	37
圖 2-8、當歸不同生育階段有效成分含量之變化情形	38
圖 2-9、當歸不同生育期有效成分及抗氧化能力之變化情形	39
圖 2-10、當歸抽花時將花苞剪除進行比較試驗	40
圖 2-11、當歸不同種植方式的有效成分阿魏酸及藁本內酯含量比較	40

### 參、丹參優良農業操作栽培體系之建立

圖 3-1、丹參酚酸 B (salvianolic acid B)與丹參酮 IIA (tanshinone IIA)的化學構造式	73
圖 3-2、丹參有效成分之 HPLC 指紋圖譜	74
圖 3-3、丹參的植株形態	75
圖 3-4、花蓮地區與市售有效成分丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量之比較	76
圖 3-5、丹參在不同生育期之丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力變化	77
圖 3-6、丹參不同種植時期的有效成分丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量之比較	78
圖 3-7、丹參不同有機質肥料量處理的有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力之比較	79
圖 3-8、丹參不同種植方式的丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力之比較	80

圖 3-9、丹參不同蝦蟹殼粉施用量的丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力之比較 .....	81
圖 3-10、丹參不同部位有效成分含量之比較.....	82
圖 3-11、丹參不同根徑大小之有效成分含量之比較.....	83
圖 3-12、丹參不同收穫期的根部外觀比較.....	84
圖 3-13、丹參不同耕作制度的有效成分丹參酚酸B及丹參酮IIA含量比較 .....	85

#### 肆、當歸、丹參之有效成分對抑制腫瘤細胞及生理活性之探討

圖 4-1、當歸、丹參萃取物抑制腫瘤細胞試驗流程圖 .....	114
圖 4-2、WST-1 assay 試驗流程圖 .....	115
圖 4-3、丹參不同萃取物與濃度對抑制 A cell 腫瘤細胞之比較 .....	116
圖 4-4、丹參不同萃取物與濃度對抑制 MSG-2 腫瘤細胞之比較 .....	117
圖 4-5、當歸不同萃取物與濃度對抑制 A cell 腫瘤細胞之比較 .....	118
圖 4-6、當歸不同萃取物與濃度對抑制 MSG-2 腫瘤細胞之比較 .....	119
圖 4-7、丹參與當歸萃取物聯合使用 60 小時對肝癌細胞 HepG2 之抑制情形 .....	120
圖 4-8、當歸萃取物與順鉑聯合使用 60 小時對肝癌細胞 HepG2 之抑制情形.....	121
圖 4-9、丹參萃取物與順鉑聯合使用 60 小時對肝癌細胞 MSG2 之抑制情形.....	122
圖 4-10、丹參酮 IIA 與白藜蘆醇的化學構造式 .....	123
圖 4-11、HepG2 細胞經不同處理後之形態變化 .....	124
圖 4-12、丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇及二者聯用對細胞凋亡的效應.....	125
圖 4-13、丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇及二者聯用對細胞週期的影響.....	126
圖 4-14、丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇及二者聯用對 DNA 斷裂的影響 .....	126



## 表目錄

### 貳、當歸優良農業操作栽培體系之建立

表 2-1、當歸不同栽培地區與年份對農藝性狀之比較 .....	41
表 2-2、當歸不同栽培地區與年份的有效成分含量比較 .....	42
表 2-3、花蓮地區生產與市售當歸元素含量比較 .....	43
表 2-4、當歸不同種植時期的農藝性狀比較 .....	43
表 2-5、當歸不同種植時期的有效成分含量之比較 .....	43
表 2-6、當歸不同生育時期的農藝性狀調查 .....	44
表 2-7、當歸不同有機質肥料施用量的農藝性狀之比較 .....	44
表 2-8、當歸不同有機質肥料施用量的有效成分含量及抗氧化能力之比較 .....	45
表 2-9、當歸不同栽培密度的農藝性狀比較 .....	45
表 2-10、當歸不同栽培密度的有效成分含量比較 .....	46
表 2-11、剪花與不剪花對當歸農藝性狀及有效成分含量的影響 .....	46
表 2-12、覆蓋資材對當歸農藝性狀之影響 .....	47
表 2-13、覆蓋資材對當歸有效成分含量及抗氧化能力之影響 .....	47
表 2-14、當歸不同種植方式的農藝性狀比較 .....	48

### 參、丹參優良農業操作栽培體系之建立

表 3-1、丹參不同栽培地區的農藝性狀比較 .....	86
表 3-2、丹參不同栽培地區的有效成分含量比較 .....	86
表 3-3、丹參不同生育時期的農藝性狀比較 .....	87
表 3-4、丹參不同種植時期的農藝性狀比較 .....	87
表 3-5、丹參不同有機質肥料處理的農藝性狀比較 .....	88
表 3-6、丹參不同種植方式的農藝性狀比較 .....	88
表 3-7、丹參不同栽培密度的農藝性狀比較 .....	89
表 3-8、丹參不同栽培密度的有效成分含量比較 .....	89
表 3-9、丹參不同蝦蟹殼粉施用量的農藝性狀比較 .....	90
表 3-10、丹參不同收穫期的農藝性狀比較 .....	90
表 3-11、丹參不同收穫期有效成分含量之比較 .....	91
表 3-12、丹參不同耕作方式的農藝性狀比較 .....	91




#### 肆、當歸、丹參之有效成分對抑制腫瘤細胞及生理活性之探討

表 4-1、當歸、丹參萃取條件及代號一覽表 .....	127
表 4-2、當歸不同萃取條件的有效成分含量比較 .....	127
表 4-3、丹參不同萃取條件的有效成分含量比較 .....	128
表 4-4、當歸萃取物對不同腫瘤細胞 50%抑制濃度之比較.....	128
表 4-5、丹參萃取物對不同腫瘤細胞 50%抑制濃度之比較.....	129
表 4-6、丹參酮 IIA 與白藜蘆醇二者聯用與順鉑對 HepG2 腫瘤細胞 IC <sub>50</sub> 之比較.....	129
表 4-7、丹參酮 IIA、白藜蘆醇二者不同比例之混合物及時間在 IC <sub>50</sub> 之協同效應.....	130
伍、總結.....	131





## 壹、緒論



近年來臺灣積極推動中草藥種植，但中草藥種類與生產量仍不敷國內所需，大部分中藥材仍需倚賴進口才能滿足臺灣市場的需求，目前中草藥推廣栽培面積仍不足，也因此臺灣的中草藥生產仍有很大的發展空間。近幾年臺灣每年當歸的進口量為 1000 多公噸，每年進口的金額約為 9 千萬~1 億元左右；丹參的進口量為 126 噸至 170 噸，每年進口的金額約為 400~500 萬元之間，此二種藥材的市場需求量很大，主要進口國為中國。然而進口中藥材常有農藥殘毒、重金屬及不當炮製等安全的問題，在中草藥市場更常有「一日三市」之現象，藥材的價格與品質波動很大，影響國內中草藥產業之發展，因此穩定生產與提供安全、優質之中藥材，為目前重要的課題。臺灣當歸與丹參的主要栽培地區在花蓮，至 2013 年當歸的推廣面積為 60 公頃，丹參為 20 公頃，主要種植在花蓮的吉安、壽豐、光復、瑞穗、卓溪、玉里、富里等鄉鎮，但生產的中草藥品質與產量，在不同栽培地區仍有參差不齊的現象，因此需建立一套適合臺灣的當歸與丹參之優良農業操作體系，提供農民生產高產量、品質穩定以及有效成分含量高的當歸與丹參等中藥材，不僅可提供國內消費者、中醫藥業者、生技業者以及藥廠等利用，亦可活化部分休耕農地，滿足國內對中藥材之需求，逐步減少對進口藥材的倚賴，進而達到藥材自給自足的目標，並促進臺灣中草藥產業之發展。

臺灣的氣候較高溫多濕，在農作物的栽培上較易有病蟲害為害，以往為了增加產量，大量使用化學合成農藥及肥料，造成農業生態環境日益惡化，許多農藥施用不當造成農藥殘留，蓄積在人體中危害人體健康，因此，近幾年來農政單位致力於安全農業及有機農業之推展，希望合理的施用有機質肥料或利用生物性藥劑，少施或不施化學農藥與肥料，來生產優質、安全之農產品。

在保健植物方面，近年積極推動發展安全與優良之栽培模式，以生產安全之中草藥產品。目前推行優良農業操作（Good Agricultural Practice；簡稱 GAP）可分為兩種不同概念之系統。第一種為推動產銷履歷驗證制度中之臺灣良好農業規範(TGAP)；另一種為概念式的優良農業操作，是各試驗改良場所或大專院校為提供農民栽培中草藥優良農業栽培操作模式。產銷履歷驗證制度中之臺灣良好農業規範(TGAP)，為行政院農業委員會依據「農產品生產及驗證管理法」所推動，為確保農產品安全性及可信賴性，所推動的自願性農產品產銷履歷驗證制度，制度中各項實施作物品項制定包括「生產流程圖」、「風險管理表」及「查核表」等部份，供農民於栽培流程中控管各項操作方式，著重在農產品農藥殘留量、重金屬含量皆能符合安全標準。產銷履歷推動建立於良好農業規範(TGAP)、第三者認驗證制度及資訊化之追溯體系，農民需申請

驗證及投入驗證成本。主要是為了因應近年來層出不窮的農產品安全事件，強調的農產品安全管制制度，透過良好農業規範（Taiwan Good Agriculture Practice，簡稱 TGAP）的實施及驗證，以及建立履歷追溯體系（Traceability，食品產銷所有流程可追溯、追蹤制度）兩種作法，前者旨在降低生產過程及產品之風險（包括食品安全、農業環境永續、從業人員健康等風險），後者目的除在賦予產銷流程中所有參與者明確責任，尚可作為一旦食品安全事件發生時，快速釐清責任並及時從市場中移除問題產品，降低該等事件對消費者的危害，期能透 TGAP 的栽培模式的建立，生產符合市場所需，與世界接軌的安全保健植物原料及產品。本項制度較著重於安全，申請驗證通過後有標章可貼於產品上供消費者鑑別。農委會為推動作物生產履歷制度，並制定 TGAP 之標準作業準則，目前在保健作物方面已有紅棗、山藥、牛蒡、桑椹、枇杷、落神葵、葉用枸杞、仙草、及金線蓮等藥用或保健相關作物，已建立有機栽培或一般慣行栽培之 GAP 模式提供農民使用，以生產安全優質之農產品。

第二種為概念式的優良農業操作是以提高中草藥產量、品質與安全為目標，此項栽培操作模式為各試驗改良場所或大專院校等研究單位，經長年田間試驗結果所制定之操作模式或準則，以增進作物的產量與品質為主要目標，但在試驗過程中會以合理化的施肥方式及正確使用病蟲害防治藥劑等，生產優質、安全的中草藥。因此本項優良農業操作栽培體系，從中草藥基原植物之鑑定，選擇正確的中草藥基原植物、優良品種的選育與推薦、栽培繁殖體系之建立，從播種、育苗、種植環境、種植時期、種植方式、肥料施用量、病蟲害管理、安全用藥、收穫適期、栽培制度的建立、有效成分含量分析及收穫後之調製、加工、貯藏及包裝等，建立標準化操作模式，達到適地適作，提供農民參考，生產高品質、安全之藥材。本類之優良農業操作（GAP），是一項提供農民參考之優良模式，但並不是驗證制度，與第一項官方強調生產履歷、回溯追蹤農產品安全之 TGAP 訴求與功能不盡相同，但經由栽培過程中的各項的操作程序，管控作物生長環境與使用之資材等，亦是以生產安全的農產品為最終目標，使生產者與消費者共創雙贏之局面，進而達到永續農業經營目的。

當歸(*Angelica acutiloba*)自日本引進臺灣種植已有 60 年歷史，主要集中在花東地區零星栽培，故在臺灣其實早已有當歸的栽培與食用，但在市場上並不普遍使用與推廣。花蓮區農業改良場自 2000 年開始建立當歸的優良農業操作栽培體系，輔導轄區農民生產安全優良之藥材，提供消費者使用，而當歸的優良農業操作栽培體系之建立，不僅可穩定其產量，其有效成分含量亦佳，可提供給國人作為安全優質的保健中藥

材。當歸(*Angelica spp.*) 為繖形科多年生草本植物，《神農本草經》中將之列為中品藥，為一使用很廣泛的傳統中藥材，當歸入藥開始記載於《神農本草經》，稱為乾歸，使用歷史已超過 2,000 年以上，利用部位為根部，有活血補血、調經止痛及潤腸通便等功效(Zhao *et al.*, 2003)。近年來在藥理之研究及臨床上主要應用於貧血、高血壓、慢性氣管炎、氣喘及心血管疾病(Lin *et al.*, 1998)；促進血液循環、調節免疫系統(Zhao *et al.*, 2003)。當歸目前被分離證實之化合物種類達 70 種以上，主要成分為揮發油、butylidenephthalide、醣類、氨基酸及 bergaptene 等(顏, 1985)。其中最主要的生理活性成分為阿魏酸(ferulic acid)、藁本內酯(Z-ligustilide)及 phthalides 等成分(Lin *et al.*, 1998)。其有效成分阿魏酸屬於酚類化合物，具有抑制血小板凝集、增進心血管血液流量、抗氧化、抗菌、抗發炎、抗癌及抗血栓等功能(Lu *et al.*, 2005)。藁本內酯為芳香類揮發油之酯類化合物，具有抑制血小板凝集、鬆弛子宮、預防婦科疾病、治療月經失調及高血壓等功能(Lu *et al.*, 2005)。為使當歸之品質標準化與產業化，利用當歸的二個生理活性成分阿魏酸 與藁本內酯含量作為品質評估的標準(Tianniam *et al.*, 2010)。因此，以有效成分阿魏酸與藁本內酯含量進行探討，以瞭解當歸的生育特性，作為當歸在栽培利用與品質評估之參考依據。

臺灣目前種植的丹參為 *S. miltiorrhiza*，為正品丹參，主要栽培地區在花蓮地區，近幾年來花蓮區農業改良場致力於建立適合臺灣的丹參優良農業操作栽培體系，解決不同地區栽培管理上所面臨的問題，輔導轄區農民生產安全優良之藥材，提供給消費者使用，而丹參的優良農業操作栽培體系之建立，不僅可穩定其產量，其有效成分含量甚至更勝於市售進口者，可提供給國人作為安全優質的保健中藥材。丹參利用部位為根部，為一傳統之中藥材，『神農本草經』列為上品生藥，廣泛用於婦女月經失調、失眠、關節炎及心血管、血液類等之疾病，『本草綱目』有「一味丹參功同四物湯」之記載(陸和黎, 1993)。現代之研究顯示其對於抗腫瘤、抗菌、冠心病、特別是心血管方面如心絞痛、和心肌梗塞有良好的治療功用(Gu *et al.*, 2007)。丹參具有很強的抗氧化能力，對心血管疾病之預防有很大的助益(Weng and Gordon, 1992; Zhao *et al.*, 1996)；丹參之有效活性成分主要分為水溶性及脂溶性化合物等二大類，水溶性之化合物主要為酚類化合物如丹參酚酸 B (salvianolic acid B)等，脂溶性化合物主要為丹參酮類(tanshinones)，包括隱丹參酮 (cryptotanshione)、丹參酮 I、丹參酮 II 及丹參酮 II A 等(Liu *et al.*, 2007)。丹參酮 IIA 有促進血液循環之功效(Gu *et al.*, 2004)；丹參酚酸 B 有清除自由基及保護因局部缺血對心臟及腦部之傷害(Gu *et al.*, 2007)。由學者之研究

丹參對於心血管方面具有很好的療效，具發展為心血管疾病保健用之食材與保健產品潛力的中藥草之一。


最近很多研究企圖合併使用兩種藥劑來進行協同效應，本研究中，以丹參酮IIA與反式白藜蘆醇合併使用在 HepG2 肝癌細胞的細胞毒素活性，並與順鉑藥物比較，並對其作用機制進行初步的研究與探討，證實二種天然物聯用對抑制 HepG2 肝癌細胞有協同效應。丹參酮 IIA 是一種植物防禦素 (phytoalexin)，是丹參(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)中主要的脂溶性成分，為一個植物藥 (phytomedicine)，在傳統亞洲民間醫療系統主要作為藥膳料理，臨床治療各種心血管疾病，如心絞痛 (angina pectoris)、心肌梗塞 (myocardial infarction)、動脈粥樣硬化 (atherosclerosis)或凝血異常 (blood clotting abnormalities)。研究證實丹參酮 IIA 可抑制人類胃癌、結腸癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、血癌等細胞株的增殖(Chen *et al.*, 2012; Su *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2005; Jiao *et al.*, 2011; Yun *et al.*, 2013)，而最近研究指出，丹參酮 IIA 和它的天然類似物 (natural analogues)能對 HepG2 肝癌細胞產生細胞毒性作用(Lee *et al.*, 2008)，主要是經由細胞凋亡和細胞週期停止所產生。反式白藜蘆醇是一種天然酚類化合物，在葡萄皮、花生和虎杖(*Polygonum cuspidate*)中含量豐富，其功能如同植物防禦素。多項研究指出反式白藜蘆醇對心血管系統有所助益，它表現出很多生物活性，如抗炎 (anti-inflammation)和抗癌 (anti-carcinogenesis)作用，抑制一些細胞株的增殖，如膀胱癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌、以及黑色素瘤與白血病(Bai *et al.*, 2010; Osman *et al.*, 2012; Amiri *et al.*, 2013; Yin *et al.*, 2013; Osmond *et al.*, 2013; Siedlecka-Kroplewska *et al.*, 2013)，主要是藉由誘導細胞發生細胞凋亡或細胞週期停止之反應。

本研究之目的為建立當歸與丹參的優良農業操作栽培體系，探討如何利用栽培管理技術提高保健作物的產量與品質，並經由有效成分的檢測進行品質管制，提供農民在種植當歸與丹參的優良農業操作栽培依據，建立我國中草藥生產的準則，以生產優質、安全的中草藥，提供中草藥業者、消費者等使用。本研究並萃取本土所生產的當歸與丹參之有效成分，進行生理活性研究，瞭解有效成分在抗腫瘤細胞的作用機制，證實保健作物的有效成分生理活性能有效抑制體外腫瘤細胞生長，誘發腫瘤細胞的細胞凋亡效應，並可減少化療藥物之使用，提供未來開發保健產品以及天然植物藥的應用。



## 貳、當歸優良農業操作栽培體系之建立

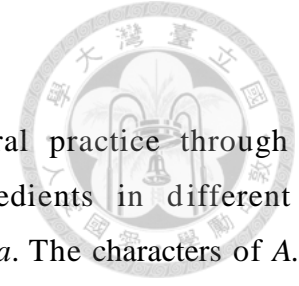
## 摘要



本研究目的為建立當歸之優良農業操作栽培體系，探討不同栽培地區與栽培管理方式對當歸產量與有效成分含量之影響，以生產根部產量高及有效成分含量高之當歸。試驗結果顯示：2007-2009年在花蓮縣五個不同地區所種植當歸的調查情形，單株平均根重以壽豐地區最高；阿魏酸 (ferulic acid) 含量與藁本內酯 (Z-ligustilide) 含量均以玉里地區最高。以花蓮地區所生產的當歸與市售進口的當歸進行有效成分與營養元素含量的比較，花蓮地區所生產的當歸有效成分阿魏酸含量比市售進口者為低，藁本內酯含量則無顯著性差異；營養元素含量則花蓮生產的當歸比市售進口者為高。10月份為當歸種植適期，10月份種植的當歸產量與有效成分含量均較高。當歸在盛花期的根部產量最高，為最適收穫期。當歸的生育日數在農藝性狀上的表現，如株高、全株重、根重以及根直徑等，皆以205天的生育日數較佳；在阿魏酸含量上亦以205天的生育日數較高；而藁本內酯則以160天的生育日數較高。有機質肥料施用量建議以每公頃施用8,000 kg之有機質堆肥可得最高產量。栽培密度以行株距100×60 cm的產量最高。在當歸開花期間以剪花處理對當歸並無增產之效果。以不織布與雜草抑制蓆覆蓋畦面處理之根部產量較高並可防除雜草。比較種子直播與育苗移植二種栽培方式，以種子直播種植方式所生產的根直徑較大且無分支，但產量比育苗移植栽培者為低。本試驗研究結果可作為農民優良農業操作的參考。

關鍵詞：當歸、產量、品質、有效成分、阿魏酸、藁本內酯

## Abstract




The purpose of this project was to develop good agricultural practice through studying the effects on the yield, quality and active ingredients in different cultivated areas and cultivation management of *Angelica acutiloba*. The characters of *A. acutiloba* were measured and compared from harvests cultivated in five different areas within Hualien County from 2007 to 2009. In comparison of the average root weight of *A. acutiloba*, the highest value was obtained from roots cultivated in Shoufeng area. Those roots with highest active ingredient content of ferulic acid and Z-liguistilide were the harvest cultivated in Yuli area. It is also found October is the most appropriate cultivated period for *A. acutiloba*. Among the growth stages, the full bloom stage had the highest root yield, and this is the most suited period for harvest. As for comparison on the agronomic traits of different day lengths on growth, two hundred and five days had the highest value in plant height, root weight and root width. Those of two hundred and five growth days had the highest ferulic acid content in *A. acutiloba*. Harvest of one hundred and sixty growth days had the highest Z-liguistilide content in *A. acutiloba*. In organic fertilizer trial, those with application rate at 8,000 kg ha<sup>-1</sup> had the highest root yield. The planting density 100 × 60 cm had the highest root yield. There was no increase effect with cut flowers in the root yield of the flowering in *A. acutiloba*. The mulching treatment with non-woven fabric and weed control mat material had the highest root yield than other mulching material. The transplanting cultivation had higher root yield than direct seeding method, yet in the root diameter, the direct seeding was larger than transplanting. The good agricultural practice of *A. acutiloba* will be introduced to farmers in the future in order to produce the high yield, stable quality, and high active ingredients contents of the *A. acutiloba*.

Key words :

*Angelica acutiloba*, yield, quality, active ingredient, ferulic acid, Z-liguistilide



## 前言



當歸(*Angelica* spp.) 為繖形科多年生草本植物，《神農本草經》中將之列為中品藥，為一使用很廣泛的傳統中藥材，當歸入藥開始記載於《神農本草經》，稱為乾歸，使用歷史已超過 2,000 年以上，利用部位為根部，有活血補血、調經止痛及潤腸通便等功效(Zhao *et al.*, 2003)。明代李時珍《本草綱目》記載：「當歸調血為女人要藥。」，清代《本草經百種錄》亦指出：「當歸為血家必用之藥，...實為養血之要品。」近年來在藥理之研究及臨床上主要應用於貧血、高血壓、慢性氣管炎、氣喘及心血管疾病(Lin *et al.*, 1998)；促進血液循環、調節免疫系統(Zhao *et al.*, 2003)。在中國的藥典中記載有超過 80 種以上的方劑以當歸為主要原料(Lu *et al.*, 2005a)，在日本有 56 種以上複方使用當歸作為主要原料(Zhao *et al.*, 2003)，在歐洲及美洲等國家亦以當歸的根部作為婦女保健用的產品及化妝品之利用(Zhang and Cheng, 1989)。

當歸屬的植物在全世界約有 80 種(Lu *et al.*, 2009)，常用的當歸種類有 *A. sinensis*、*A. acutiloba* 及 *A. gigas* 等，*A. sinensis* 主要栽培於中國，*A. acutiloba* 主要分布於東亞及日本，*A. gigas* 則分布於韓國地區(Zhao *et al.*, 2003)。當歸的主要產區在中國，栽培種類為 *A. sinensis*，中國的甘肅、雲南、四川及陝西為中國當歸的主要產區，其中又以甘肅為最大產區，佔中國生產量的 80% 以上，甘肅岷縣生產的當歸也最負盛名，品質最佳。大和當歸 (*A. acutiloba*) 主要生產地為日本的和歌山縣、奈良、長野縣等地，為日本藥局方之收載品，據學者研究指出，大和當歸的含糖量較高，與『神農本草經』的收載品吻合。

臺灣在 1950 年代引進大和當歸 (*A. acutiloba*) 於臺灣東部地區推廣栽培，適應性良好，惜因加工技術欠佳及農民改種金針等因素，一度僅有零星栽培。近年來由於國內保健養生之風盛行，對於本土生產的保健中草藥需求增加，因此讓昔日曾在東部地區推廣種植的當歸重現風華，近年來更在筆者及相關人員的研究與努力之下，建立當歸的優良農業操作栽培體系，提升當歸的產量與品質，並已開發當歸多樣化保健產品，目前已成為東部地區最具特色的保健作物之一。

當歸為多年生草本植物，全株具濃厚之辛香氣味，利用種子繁殖，發芽適溫為 15-20°C，性喜冷涼氣候，忌高溫及陽光直射，平地地區種植之植株由於溫度較高及日照較強，使其生育情形較差，有提早開花之現象。當歸於種植後至翌年才採收其根部，開花後種子逐漸成熟，俟種子成熟後植株即死亡。當歸之種植以平坦、通風良好之地

點為佳，土壤以排水良好、富含有機質之砂質壤土為宜。平地種植之當歸植株在生育中後期適逢夏季，陽光較強，溫度亦較高，植株生長不佳或提早開花，影響根部產量及品質。當歸種植需作畦栽培，以利當歸根系之生長。整地前先將有機質肥料均勻撒施於田間，再將有機質肥料翻犁至土壤中。當歸的根系較長，入土較深，整地時土壤宜深耕並細碎土壤再作畦，畦高約 30 公分。作畦的方向以南北向為宜。當歸之利用為根部，為了防範地下根部浸水，以作畦方式栽培方便植株之灌溉與排水，有利植株之生長。

當歸目前被分離證實之化合物種類達 70 種以上，主要成分為揮發油、butylidenephthalide、醣類、氨基酸及 bergaptene 等 (顏, 1985)。其中最主要的生理活性成分為阿魏酸 (ferulic acid)、藁本內酯 (Z-ligustilide) 及 phthalides 等成分 (Lin *et al.*, 1998)。當歸的生理活性成分含量及種類在不同物種間有差異存在，一般以 *A. sinensis* 的含量較高於 *A. acutiloba* (Zhao *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2005a, Cho *et al.*, 2007)。

阿魏酸屬於酚類化合物，廣泛存在於番茄、胡蘿蔔、甜玉米、柑橘及稻米麩皮等蔬果之中，在植物代謝過程中扮演重要角色，對於癌症、糖尿病、心血管疾病等具有治療的效果 (Srinivasan *et al.*, 2007)。阿魏酸具有抗脂質過氧化作用，能清除自由基，抑制氧化反應和自由基反應，並能與生物膜磷脂結合，保護膜脂質拮抗自由基對組織的損害 (Srinivasan *et al.*, 2007)。當歸的有效成分阿魏酸，具有抑制血小板凝集、增進心血管血液流量、抗氧化、抗菌、抗發炎、抗癌及抗血栓等功能 (Lu *et al.*, 2005b)。

藁本內酯為芳香類揮發油之酯類化合物，具有抑制血小板凝集、鬆弛子宮、預防婦科疾病、治療月經失調及高血壓等功能 (Lu *et al.*, 2004)。藁本內酯主要分為 Z-ligustilide 及 E-ligustilide 二種，除存在於 *A. sinensis*、*A. acutiloba* 二種當歸中，亦存在於川芎 (*Ligusticum chuanxiong*) 中，在 *A. gigas* 則沒有含藁本內酯成分 (Lu *et al.*, 2004)。Z-ligustilide 在當歸的含量較高且穩定，而 E-ligustilide 在當歸的含量較少，因此常以 Z-ligustilide 作為當歸的有效成分指標之一 (Lu *et al.*, 2004)。

不同栽培地區對作物的二次代謝產物酚類化合物含量有顯著之差異 (Yu *et al.*, 2003)。Tianniam *et al.* (2008) 以當歸在日本不同栽培地區種植，不同栽培環境下，當歸的產量與品質有顯著的差異。栽培地區是普遍認為影響當歸品質有關的重要因子 (Tianniam *et al.*, 2010)。張 (2010) 探討黃芩在不同栽培環境下其產量與有效成分含量有顯著性之差異。而其他作物如小麥，長期以來多作為糧食作物，但近年來的研究顯示其麩皮的抗氧化能力很高，並具有保健功效。Yu *et al.* (2003) 為瞭解栽培地區對小麥抗

氧化特性之影響，以小麥“Akron”品種栽培於不同環境，分析其麥麩萃取物 (bran extracts)之 DPPH 抗氧化能力、總酚類化合物(Total phenolic contents)等，小麥“Akron”品種之 DPPH 抗氧化能力及總酚類化合物含量(Total phenolic content)在不同生長環境表現，呈現顯著性之差異，此顯示環境因子影響作物有效成分含量之表現有關。

當歸的品質在以往均以當歸根部的物理特性如外觀、氣味及食味等作為品質優劣判斷的標準，但外觀、氣味及食味等物理特性易受作物品種的不同與環境所影響，而環境為影響品質的最重要因子之一，以外觀、氣味及食味等物理特性無法客觀提供作為品質判斷的標準，影響當歸市場與產業之發展(Tianniam *et al.*, 2008)；為使當歸之品質標準化與產業化，近年來大都以當歸的二個活性生理成分阿魏酸與藁本內酯含量作為品質評估的標準(Tianniam *et al.*, 2010)。因此，本研究之目的為探討當歸在不同栽培地區與栽培管理對當歸根部產量與有效成分阿魏酸與藁本內酯含量之影響，建立適合臺灣栽培當歸的優良農業操作體系，作為當歸在栽培利用與品質評估之依據，生產品質佳、產量高之當歸，未來可擴大當歸生產栽培面積，促進臺灣中草藥產業之發展。

## 材料與方法



### 一、栽培地區與年份對當歸農藝性狀、有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗時間：2007年、2008年、2009年共3年試驗。
- (三) 試驗設計：行長20 m，行株距1.0 × 0.5 m，6行區。
- (四) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場、花蓮縣壽豐鄉、花蓮縣瑞穗鄉、花蓮縣玉里鎮、花蓮縣卓溪鄉等地區。
- (五) 調查項目：每一試區取樣調查20株，調查不同地區之氣候日照、雨量、溫度，植株之株高、全株重、根部重量、根長、根徑等農藝性狀，有效成分阿魏酸、藁本內酯含量及抗氧化能力分析等。

### 二、花蓮地區種植之當歸與市售進口當歸有效成分及營養元素含量之比較


- (一) 當歸樣品：分別取樣自花蓮縣吉安、瑞穗及玉里等鄉鎮地區種植之當歸(*A. acutiloba*)及購自花蓮縣吉安鄉及花蓮縣花蓮市2家中藥行之市售當歸(*A. sinensis*)。
- (二) 調查項目：有效成分阿魏酸與藁本內酯、營養元素含量及抗氧化能力分析等。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

### 三、種植時期對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗處理：分為3月(春作)、10月(秋作)等二種植期處理。
- (三) 田間試驗設計：順序排列，行長40 m，6行植，行株距1.0 × 0.5 m。
- (四) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。
- (五) 調查項目：逢機取樣調查植株30株，調查植株之株高、全株重、根部重量、根長、根徑等農藝性狀，抗氧化能力、阿魏酸及藁本內酯等成分含量之分析等。

### 四、當歸生育時期之農藝性狀及有效成分含量之變化

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。

- 
- (二) 試驗處理：順序排列，行長 40 m，6 行植，行株距 1.0 × 0.5 m，種植 10 行，順序排列。於 10 月份（秋作）種植後六個月，每隔 15 天進行不同生育期之取樣調查。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。
- (四) 調查項目：當歸種植後在植株開花前、開花初期、開花盛期及結種子期分別進行不同生育期取樣調查，每次逢機取樣 20 株。調查植株之株高、全株重、根部重量、根長、根徑等農藝性狀，抗氧化能力、阿魏酸及藁本內酯等成分含量之分析等。

#### 五、當歸生育日數之農藝性狀及有效成分含量之變化

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗處理：當歸 10 月份種植，種植六個月後每隔 15 天取樣調查一次，共調查 7 次，進行不同生育日數的農藝性狀調查。
- (三) 田間設計：順序排列，行長 40 m，6 行植，行株距 1.0 × 0.5 m。
- (四) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。
- (五) 調查項目：每次逢機取樣 20 株。調查當歸植株之株高、全株重、根部重量、根長、根徑等農藝性狀，抗氧化能力、阿魏酸及藁本內酯等成分含量之分析等。

#### 六、有機質肥料施用量對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗處理：以 N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O = 5.5 : 2.5 : 2.5 之腐熟有機質堆肥。每公頃施用 A: 2,000 公斤堆肥、B: 4,000 公斤堆肥、C: 6,000 公斤堆肥、D: 8,000 公斤堆肥等 4 處理，於種植前 2 星期一次施用於田間。
- (三) 試驗方法：田間設計採 RCBD，三重複，行長 12 m，3 行植，小區面積 36 m<sup>2</sup>，行株距 1.0 × 0.5 m。
- (四) 調查項目：每重複取樣中間行 10 株進行調查，調查植株之株高、全株鮮重、鮮根重、根長、根徑等農藝性狀，有效成分阿魏酸及藁本內酯含量及抗氧化能力分析等。
- (五) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。



#### 七、栽培密度對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗處理：行距為 1.0 m，株距分為 30、40、50 及 60 cm 等 4 個處理。RCBD，三重複。小區面積 15 m<sup>2</sup>。
- (三) 調查項目：每重複取樣 10 株進行調查，調查株高、全株鮮重、鮮根重、根徑及阿魏酸及藁本內酯含量及抗氧化能力分析等。
- (四) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場

#### 八、剪花與不剪花對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗處理：分為剪花與不剪花 2 處理，剪花處理者於當歸抽花時將花剪除，俟未剪花處理者於當歸盛花期取樣調查。
- (三) 試驗方法：田間設計採順序排列，行長 40 m，4 行植，行株距為 1.0 × 0.5 m。
- (四) 調查項目：每次取樣 20 株進行調查，調查 2 次，第一次調查時間是在未剪花處理者正值盛花期取樣調查；2 週後進行第二次取樣調查。調查植株之全株鮮重、鮮根重、根長、根徑等農藝性狀，有效成分阿魏酸及藁本內酯含量及抗氧化能力分析等。
- (五) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

#### 九、覆蓋資材對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗處理：以 PE 銀黑色塑膠布、雜草抑制蓆、及不織布等 3 種不同覆蓋資材處理，於田間作畦完成後覆蓋畦面。
- (三) 試驗方法：田間設計採 RCBD，三重複，行長 12 m，小區面積 12 m<sup>2</sup>，行株距為 1.0 × 0.5 m。
- (四) 調查項目：每重複取樣 10 株進行調查，調查植株之株高、全株鮮重、鮮根重、根長、根徑等農藝性狀，有效成分阿魏酸及藁本內酯含量及抗氧化能力分析等。
- (五) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。



## 十、種植方式對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：當歸(*A. acutiloba*)。
- (二) 試驗處理：分為種子直播與育苗方式 2 種處理。種子直播係以整地、作畦、覆蓋完成後，將當歸種子 2-3 粒直接播於土中，覆土約 2 公分；移植之方式種植者為將種子先行播種於穴盤中，於溫室中育苗，俟種苗長出本葉 4 片之後移植至田間定植。二處理之施肥、田間管理方式相同。
- (三) 有機質肥料施用量：以  $N:P_2O_5:K_2O=5.5:2.5:2.5$  之粒狀有機質肥料為基肥，一次施用，每公頃的施用量為 6,000 公斤。
- (四) 試驗方法：四重複，行長 18 公尺，小區面積  $18\text{ m}^2$ ，行株距為  $1.0 \times 0.5\text{ m}$ 。
- (五) 調查項目：株高、全株鮮重、鮮根重、根長、根徑等農藝性狀，病蟲害發生及有效成分阿魏酸及藁本內酯含量檢測等。
- (六) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

## 十一、抗氧化能力分析

### (一) 樣品處理：

新鮮當歸根部以  $40^\circ\text{C}$  熱風乾燥的方式烘乾 48 小時，再以粉碎機磨成粉末備用。精確稱量粉末狀樣品 1.0 g，加入 10 ml methanol，以  $37^\circ\text{C}$  水浴浸泡方式過夜，以振盪機搖勻 30 min 後過濾，以此溶液為試驗樣品溶液。

### (二) 抗氧化能力測定：

抗氧化能力分析參考 Shimada *et al.* (1992) 之 DPPH 測定方法。在試管中加入 150  $\mu\text{l}$  的樣品溶液，再加 methanol 定量至 4 ml，混勻後加入 1 mM 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) methanol 溶液 1 ml，再次混勻，在  $37^\circ\text{C}$  水浴中反應 30 min。反應完成後以分光光度比色計測定其 517 nm 之吸光值，分光光度比色計廠牌為 GBC；型號為 Cintra 202。同法以 4 ml methanol 加 1 mM DPPH methanol 溶液 1 ml 測定 30 min 後的吸光值，作為空白值。DPPH 抗氧化能力之計算方式為： $\left[1 - \left(\frac{\text{樣品吸光值}}{\text{未加樣品之控制組吸光值}}\right)\right] \times 100\%$ ，即得自由基清除百分率。

## 十二、當歸之有效成分分析

### (一) 樣品處理：

供試樣品當歸根部以 40°C 熱風乾燥的方式烘乾 48 小時，再以粉碎機磨成粉末備用。

(二) 樣品溶液製備：

精確定量樣品粉末 1.0 g，加 methanol 10 ml，以 37°C 萃取 24 小時，再以 0.2 μm 濾膜過濾備用。

(三) 樣品分析：

當歸之有效成分阿魏酸 (圖 2-1) 與藁本內酯 (圖 2-2) 分析儀器為高效液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography；簡稱 HPLC)，HPLC 型號為 Waters 2695，光電二極體偵測器 (Photodiode Array Detector) 型號為：Waters 2998。分析管柱採 HypURITY C18 (250×4.6 mm)，吸光值偵測設為 284 nm，樣品注射量為 20 μl。分析方式採用梯度模式，沖提溶液分為：A：Acetonitrile；B：1% Acetic acid 水溶液；C：Methanol，起始時間 A 5%，B 95%；10 min 時 A 35%，B 65%；30 min 時 A 70%，B 30%；40 min 時 A 95%，B 5%，分別對不同溶液梯度濃度轉換；41 min 時 C 100% 維持至 50 min，流洗管柱中殘餘的化合物；51 min 時換回起始條件 A 5%，B 95%。當歸標準品阿魏酸及藁本內酯購至台灣默克股份有限公司 (Merck, Taiwan)。

### 十三、統計分析

統計分析採用 Excel 2007 套裝軟體分析。

### 十四、當歸植株形態

圖 2-3。



## 結果與討論



### 一、栽培地區與年份對當歸產量及品質之影響：

#### (一) 當歸不同栽培地區與年份的產量比較

2007 年在花蓮縣 5 個不同鄉鎮地區試驗之農藝性狀調查結果如表 2-1 顯示：當歸單株平均重量以瑞穗地區的 188 g 最高，其次依序為壽豐地區的 185 g、吉安地區的 162 g、玉里地區的 129 g、卓溪地區的 103 g 最低。單株平均株高以吉安地區的 72 cm 最高，其次依序為瑞穗地區的 65 cm、卓溪地區的 52 cm、壽豐地區的 49 cm、玉里地區的 48 cm 為最低。單株平均根重以瑞穗地區的 102 g 最高，吉安地區的 98 g 次之，卓溪地區的 68 g 最低。以吉安地區的根徑 27 mm 為最大，玉里地區的 24 mm 次之、壽豐地區的 11 mm 最小。2007 年度之試驗根部產量以瑞穗地區重量較高，以卓溪地區的重量最低。

2008 年在花蓮縣 5 個不同鄉鎮地區試驗之農藝性狀調查結果如表 2-1 顯示：當歸單株平均重量以壽豐地區的 245 g 最高，其次依序為吉安地區的 236 g、卓溪地區的 213 g、瑞穗地區的 161 g、玉里地區的 150 g 最低。單株平均株高以壽豐地區的 59 cm 最高，其次依序為吉安地區的 58 cm、卓溪地區的 44 cm、瑞穗地區的 35 cm、玉里地區的 34 cm 為最低。單株平均根重以卓溪地區的 83 g 最高，吉安地區的 77 g 次之，玉里地區的 48 g 最低。根徑以吉安及壽豐地區的 23 mm 最大、卓溪地區的 18 mm 次之、玉里地區的 13 mm 最小。

2009 年在當歸在花蓮縣 5 個不同鄉鎮地區試驗之農藝性狀調查結果如表 2-1 顯示：當歸單株平均重量以玉里地區的 739 g 最高，其次依序為卓溪地區的 580 g、壽豐地區的 557 g、吉安地區的 550 g、瑞穗地區的 536 g 最低。單株平均株高以吉安地區的 76 cm 最高，其次依序為玉里地區的 71 cm、瑞穗地區的 64 cm、卓溪地區的 63 cm、壽豐地區的 60 cm 為最低。單株平均根重以玉里地區的 165 g 最高，卓溪地區的 158 g 次之，吉安地區的 97 g 最低。根徑以玉里地區的 43 mm 最大、卓溪地區的 40 mm 次之、吉安地區的 33 mm 最小。

#### (二) 當歸不同栽培地區與年份的有效成分含量比較

2007 年在花蓮縣五個不同地區取樣，分析有效成分含量之結果如表 2-2 顯示：當歸的阿魏酸含量以玉里地區的  $263 \mu\text{g g}^{-1}$  最高，卓溪地區的  $217 \mu\text{g g}^{-1}$

次之，壽豐地區的  $87 \mu\text{g g}^{-1}$  最低。藁本內酯的含量以玉里地區及卓溪的  $4.6 \text{ mg g}^{-1}$  最高，壽豐地區的  $4.4 \text{ mg g}^{-1}$  次之，以吉安地區的  $1.6 \text{ mg g}^{-1}$  最低。

2008 年在花蓮縣五個不同地區取樣分析有效成分含量結果如表 2-2 顯示：阿魏酸含量以玉里地區的  $196.0 \mu\text{g g}^{-1}$  最高，卓溪地區的  $152.8 \mu\text{g g}^{-1}$  次之，壽豐地區的  $74.8 \mu\text{g g}^{-1}$  最低。藁本內酯以玉里地區的  $3.1 \text{ mg g}^{-1}$  最高，吉安地區的  $2.6 \text{ mg g}^{-1}$  次之，以壽豐地區的  $0.8 \text{ mg g}^{-1}$  最低。試驗結果顯示當歸的阿魏酸及藁本內酯有效成分含量均以玉里地區的含量較高，在不同環境間的有效成分含量有顯著性的差異。

2009 年在花蓮縣五個不同地區取樣分析有效成分含量之結果如表 2-2 顯示：阿魏酸含量以瑞穗地區的  $158.2 \mu\text{g g}^{-1}$  最高，玉里地區的  $153.3 \mu\text{g g}^{-1}$  次之，吉安地區的  $83.0 \mu\text{g g}^{-1}$  最低。藁本內酯以吉安地區的  $2.6 \text{ mg g}^{-1}$  最高，卓溪地區的  $2.5 \text{ mg g}^{-1}$  次之，以壽豐地區的  $1.5 \text{ mg g}^{-1}$  最低。試驗結果顯示當歸的阿魏酸及藁本內酯有效成分含量，在不同環境間有顯著性的差異。

作物的生長受作物之基因型、環境及二者交互作用之影響，選育優良之品種及適地適作的栽培環境，有助於作物產量與品質之提升。近年來的研究除了致力於提高產量之外，作物的營養成分與有效成分之研究日益受到重視，其中不同的栽培地區常影響作物的二次代謝產物酚類化合物的累積(Yu *et al.*, 2003)。Mpfu *et al.* (2006) 在 4 個不同地區栽培 6 個小麥品種，對影響其穀粒品質之總酚類化合物含量、抗氧化能力進行試驗，結果顯示在品種間與不同的栽培地區，其總酚類化合物含量與抗氧化能力有顯著性差異，而且栽培地區的環境影響大於基因型間之效應。張(2010)探討在花蓮不同栽培地區種植黃芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)，分析其產量與有效成分黃芩素、黃芩苷及漢黃芩素含量，有顯著性差異。Zhao *et al.* (2003)分析取自中國的當歸(*A. sinensis*)、日本的當歸(*A. acutiloba*)及韓國的當歸(*A. gigas*)，發現其阿魏酸與藁本內酯等成分，在不同種與栽培地區間有顯著性差異。Tianniam *et al.* (2008)在日本不同地區栽培當歸(*A. acutiloba*)，比較其品質與成分的差異，結果以 Nara 地區種植的當歸產量與品質最佳，此顯示不同栽培地區影響當歸的產量與品質。

本試驗在 5 個試驗地區 3 年的根部平均產量之比較，以壽豐地區的  $104 \text{ g}$  最高，吉安試區的  $91 \text{ g}$  最低，各試區之間的產量差異不大，平均根部產量為  $91 - 104 \text{ g}$  (表 2-1)。有效成分阿魏酸含量為  $84.0 - 204.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ，以玉里試區的

204.1  $\mu\text{g g}^{-1}$ 最高，壽豐試區的 84.0  $\mu\text{g g}^{-1}$ 最低（表 2-2）；有效成分藁本內酯含量為 2.2 - 3.3  $\text{mg g}^{-1}$ ，以玉里試區的 3.3  $\text{mg g}^{-1}$ 最高，壽豐試區的 2.2  $\text{mg g}^{-1}$ 最低（表 2-2）。在有效成分含量上以玉里試區的表現最佳。

本試驗在 3 個年度試驗中以 2008 年在不同年度的試驗中的根部產量表現較差，根部產量 48 - 83 g，其中玉里試區的產量僅為 48 g，針對其氣象因子雨量及溫度對產量之影響，2007 年至 2009 年的溫度變化不大，無明顯的差異（圖 2-4）。2007 年至 2009 年的月平均雨量則有較大的差異（圖 2-5）。2008 年其生育期 5 月的總降雨量僅 66 mm，降雨量偏低且遠低於其他年度的降雨量，5 月份為當歸抽花至開花期，水分的需求較多，降雨量減少會影響當歸的生長與發育，導致當歸根部產量偏低，進而影響當歸的總產量表現。在三個年度的月平均溫度並無明顯的變化，故影響不大。

## 二、花蓮地區種植之當歸與市售進口丹參有效成分與營養元素含量之比較

### （一）當歸有效成分阿魏酸與藁本內酯含量之比較

為瞭解花蓮地區種植之當歸與市售進口之當歸之有效成分之差異，於花蓮縣收集七個不同地區種植的當歸根部與購至花蓮地區二個中藥行之當歸進行有效成分阿魏酸與藁本內酯含量之比較，試驗分析結果顯示：花蓮地區生產當歸的阿魏酸含量為 74.8 - 217.2  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，市售的當歸阿魏酸含量為 366.7  $\mu\text{g g}^{-1}$  及 449.1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，市售進口當歸的阿魏酸含量高於花蓮地區所生產者（圖 2-6-A）。花蓮地區生產的當歸其藁本內酯含量為 1.3 - 4.6  $\text{mg g}^{-1}$ ，市售進口者其藁本內酯含量分別為 4.4  $\text{mg g}^{-1}$  及 5.8  $\text{mg g}^{-1}$ （圖 2-6-B），花蓮地區生產的當歸與市售進口者之藁本內酯含量差距較小，而卓溪地區生產的藁本內酯含量為 4.6  $\text{mg g}^{-1}$ ，較市售其一者高。Zhao *et al.* (2003) 收集藥用當歸 *A. sinensis*、*A. acutiloba* 及 *A. gigas*，比較三種不同當歸之阿魏酸及藁本內酯含量，分析結果 *A. sinensis* 的阿魏酸含量為 350 - 1430  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，高於 *A. acutiloba* 的 60 - 90  $\mu\text{g g}^{-1}$  及 *A. gigas* 的 120 - 200  $\mu\text{g g}^{-1}$ ；*A. sinensis* 的藁本內酯含量為 4.5 - 14.6  $\text{mg g}^{-1}$ ，高於 *A. acutiloba* 的 0.9 - 1.5  $\text{mg g}^{-1}$  及 *A. gigas* 的 2.5 - 2.9  $\text{mg g}^{-1}$ ；並以 PCR 分析三個物種的 5S-rRNA 序列，發現 *A. sinensis* 與 *A. acutiloba* 的遺傳相似度為 72.87%，*A. sinensis* 與 *A. gigas* 的遺傳相似度為 73.58%，*A. acutiloba* 及 *A. gigas* 的遺傳相似度 93.57%，表示 *A. sinensis* 與另外二種當歸在親緣關係上有較大的

差異，在有效成分的含量上也表現出三個當歸物種間之差異。Lu *et al.* (2005) 的研究亦顯示 *A. sinensis* 的藁本內酯含量高於 *A. acutiloba*。花蓮地區種植的當歸屬於 *A. acutiloba*，與市售進口的 *A. sinensis* 物種不同，有效成分含量阿魏酸比市售進口者較低，但藁本內酯含量差距較小，顯示花蓮地區所生產的當歸 (*A. acutiloba*) 其藁本內酯接近市售當歸 (*A. sinensis*) 的藁本內酯含量，有潛力取代目前進口的當歸。

## (二) 花蓮地區生產與市售進口者在營養元素含量上之比較

取自花蓮縣三個不同地區種植之當歸 (*A. acutiloba*) 植株，採收後之當歸與市售進口的當歸 (*A. sinensis*) 進行營養元素成分比較，初步結果顯示花蓮地區種植的當歸其 Ca 含量分別為 0.8%、0.7%、0.5%，高於市售進口者之 0.3%。Fe 含量分別為 352 ppm、566 ppm、282 ppm，高於市售進口者之 260 ppm 及 244 ppm。Mn 含量分別為 72.8 ppm、130.0 ppm、68.0 ppm，高於市售進口者之 0.3 ppm。在其他 Mg、P、Mn、Cu 及 Zn 等元素含量，花蓮地區種植之當歸均較市售進口者為佳 (表 2-3)。Fe 為人體補血中最重要元素，能促進血紅素及紅血球的生成，增加動脈血流量，可作為當歸品質好壞的指標元素之一。Ca 亦為身體所需的重要礦物質，且易於加工過程中流失，花蓮地區生產的當歸為新鮮農產品，其 Ca 含量較市售進口者為高，另外當歸所含的 Mn、Cu、Zn 等微量元素，能協助體內細胞或組織發揮正常生理、生化功能，參與人體中重要的代謝功能。

## 三、種植時期對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

### (一) 當歸不同種植時期的農藝性狀比較

為生產高產量與有效成分含量高之當歸，分析不同種植時期對當歸生育之影響，作為當歸適合種植時期之參考。以 3 月 (春作) 及 10 月 (秋作) 進行不同種植時期的比較試驗，試驗結果顯示：當歸在 10 月種植之試驗在株高、全株重、根長、新鮮根重及根徑大小之農藝性狀表現均比 3 月種植時期佳，在產量表現上平均根重為 95 g，比 3 月的 56 g 為佳，產量上有明顯之差異；另外在株高的表現上，3 月種植的當歸株高為 48 cm，10 月種植的株高為 76 cm，10 月種植的株高較高；植株成熟收穫時間，3 月種植為 160 天，10 月種植為 280 天，

生育時間相差約 120 天，生長期有明顯之差異（表 2-4）。整體而言以 10 月份種植者有較高的產量，因此以 10 月份（秋作）為當歸的種植適期。

## （二）當歸不同種植時期的有效成分含量比較

以 3 月份及 10 月份二個不同種植時期對當歸有效成分含量進行比較試驗，結果顯示，以 10 月份種植的阿魏酸含量  $103.1 \mu\text{g g}^{-1}$  較高於 3 月份種植的  $77.0 \mu\text{g g}^{-1}$ ；藁本內酯含量亦以 10 月份種植的  $2.2 \text{mg g}^{-1}$  較高於 3 月份種植之  $2.1 \text{mg g}^{-1}$ （表 2-5）。故在 10 月份種植的當歸其有效成分含量較高。

當歸生育環境較適合冷涼之氣候，因此春作種植後氣溫開始逐漸上升，至夏季氣溫變高較不利於當歸的生長，植株會有提早抽苔開花之現象，由種植時間顯示，10 月份種植的當歸從種植到收穫期約為 280 天，3 月份種植者從種植到收穫期僅為 160 天，生育時間相差約 120 天，3 月份種植者營養生長時間較短，影響當歸植株之生育及根部產量，由此試驗結果顯示，10 月份為當歸適合種植之時期。綜合產量試驗及有效成分含量分析結果顯示，當歸在 10 月（秋作）的產量及有效成分的含量均比 3 月（春作）種植者為佳，因此，以 10 月（秋作）為當歸最適的種植時期。

## 四、生育時期對當歸產量及有效成分含量之影響

### （一）當歸不同生育時期的產量比較

為瞭解當歸不同生育期之農藝性狀表現，在當歸種植後各不同生理階段：開花前、開花期、開花盛期及結種子期等不同階段進行取樣調查，瞭解當歸不同生理階段的農藝性狀及其有效成分含量之變化情形，作為當歸收穫之參考。試驗結果顯示：當歸的株高從當歸花苞抽花苔開始進行調查，此階段的平均株高為 48 cm，開花期時株高為 64 cm，到盛花期之株高增加至 76 cm 最高，結種子期之株高為 75 cm（圖 2-7-A）。植株高度隨著生育日數之增加而增高，至植株盛花期及結種子階段達到植株最高高度。全株重亦隨著植株生育階段成熟而增加，但至結種子時期有減少之趨勢，此與植株漸趨枯萎有關（圖 2-7-B）。當歸之根長至開花初期的 22.4 cm 最長，但各生育期之間的變化不大，根長範圍為 18.8 - 22.4 cm（圖 2-7-C）。當歸之根重隨著生育日數增加而增加，開花前之平均根重為 80 g，開花初期增加至 85 g，而開花盛期更增加到 100 g，此時為根

部產量最高之階段，但結種子階段時根部重量降低，且根部質地呈現木質化現象，根部重量下降至 44 g (圖 2-7-D)。根徑亦以開花盛期的 34 mm 最大，結種子時期的 26 mm 最小 (圖 2-7-E)。試驗結果顯示，當歸在盛花期階段的根部產量最高，此時為當歸最佳之收穫適期。



## (二) 當歸不同生育時期的有效成分含量比較

為探討當歸在不同生育階段之農藝性狀表現，以及當歸的生理活性成分阿魏酸與藁本內酯含量，作為當歸收穫之依據。於開花前、開花期、開花盛期及結種子期等不同生育時期，分析當歸的有效成分。試驗結果顯示：當歸根部阿魏酸含量在開花前為  $49.3 \mu\text{g g}^{-1}$ ，開花期為  $78.6 \mu\text{g g}^{-1}$ ，至開花盛期增為  $83 \mu\text{g g}^{-1}$ ，結種子時期則降為  $60.8 \mu\text{g g}^{-1}$ ，以開花前期的阿魏酸含量最低 (圖 2-8-A)。當歸根部有效成分藁本內酯含量在開花前之階段含量為  $3.2 \text{ mg g}^{-1}$ ，開花期為  $2.3 \text{ mg g}^{-1}$ ，開花盛期為  $2.6 \text{ mg g}^{-1}$ ，結種子時期為  $2.7 \text{ mg g}^{-1}$ ，以開花初期的含量較低 (圖 2-8-B)。此結果顯示當歸的有效成分含量，在不同生育階段其有效成分含量有變化，試驗綜合分析之結果，以開花盛期階段為當歸根部的收穫適期。Qian *et al.* (2013) 分析中國甘肅岷縣所產的中國當歸 (*A. sinensis*)，發現當歸生長過程中，其 4 個指標性化學成分 Z-ligustilide、butylphthalide、Z-butylidenephthalide 及 linoleic acid 的含量在 9 月與 10 月較高，而此時期為中國當歸傳統的收穫期，故當歸二次代謝產物之累積與其生長期有密切相關，以此可作為選擇收穫適期的依據。其他作物如百里香 (*Origanum syriacum*)，Shiyab *et al.* (2012) 分析其不同生育期的精油含量變化，結果顯示百里香在開花期 (blooming stage) 生育階段的精油含量高於開花前 (pre-flowering stage) 的生育階段，故百里香的開花期階段為其最適收穫期。

## 五、生育日數對當歸產量及品質之影響

### (一) 當歸不同生育日數的產量比較

為瞭解當歸在不同生育時期之農藝性狀表現，在當歸種植後 160 天開始進行取樣調查，調查當歸之農藝性狀及其有效成分含量，以瞭解當歸在不同生育日數之變化情形，作為當歸收穫之依據。試驗結果顯示：當歸的株高從種植後 160 天開始調查，在 160 天時其株高為 43 cm，175 天時株高為 55 cm，到生育

日數 205 天之株高 77 cm 最高，生育日數從 205 天至 250 天的株高變化不大，維持一定的高度，植株高度隨著生育日數之增加而增高，至植株開花的 205 天之後達到最高。根重在 160 天時為 50 g，175 天時為 62 g，到生育日數 205 天為 77 g 達到最高，但 205 天之後根重逐漸降低。全株重及根徑亦以生育日數 205 天之表現較佳（表 2-6）。當歸之根重隨生育日數增加至 205 天時達到最高，此時為當歸花苞開始形成之時，之後隨著花朵盛開、結種子至種子成熟後逐漸遞減，因此，試驗結果顯示當歸在生育日數約 205 天的開花期，為最佳之收穫適期。

## （二）當歸不同生育日數的有效成分含量比較

作物不同生育時期的產量與有效成分含量均會有所差異，為瞭解當歸在不同生育階段的有效成分含量變化情形以及最適收穫時期，以其生理活性成分阿魏酸與藁本內酯的含量來分析評估，作為當歸收穫之依據。不同生育日數對當歸之有效成分影響結果顯示：當歸的根部阿魏酸含量以生育日數 205 天之  $79 \mu\text{g g}^{-1}$  表現較佳、220 天的  $37 \mu\text{g g}^{-1}$  最低（圖 2-9-A）。當歸根部的有效成分藁本內酯則以生育日數 160 天的  $1.94 \text{ mg g}^{-1}$  較高，生育日數 205 天的  $1.93 \text{ mg g}^{-1}$  次之、以生育日數 250 天的  $1.54 \text{ mg g}^{-1}$  最低（圖 2-9-B）。當歸的抗氧化能力以生育日數 235 天的 83.8% 最佳，生育日數 205 天的 80.5% 次之、生育日數 250 天的 43.6% 最低（圖 2-9-C）。此結果顯示，當歸的有效成分含量在不同的生育日數有變化，有效成分含量的多寡並未隨著生育日數而增加，由此綜合試驗分析結果，以生育日數 205 天（開花期），為當歸根部收穫適期。

作物在代謝過程中二次代謝產物如酚類化合物，具有抗氧化作用，可清除人體自由基，調節免疫力，抑制癌細胞生長，預防自由基造成之相關疾病等(Yu *et al.*, 2002b)。如小麥除了提供作為主要糧食之外，近年來的研究顯示，其穀粒所含的生理化學物質如酚類化合物，可以減輕自由基所引起之傷害、預防慢性疾病 (chronic disease)、降低心血管疾病 (coronary heart disease) 及中風 (stroke) 等功能 (Yu *et al.*, 2002a)。當歸的有效成分阿魏酸為酚類化合物，具有抑制血小板凝集、增進心血管血液流量、抗氧化、抗菌、抗發炎、抗癌及抗血栓等功能(Lu *et al.*, 2005)。其他如漿果類作物的抗氧化能力，Wang and Lin (2000) 分析其在不同生育階段之抗氧化能力，結果顯示漿果類在不同生育期的代謝產物含量亦有

變化。本研究試驗結果顯示，花蓮地區種植之當歸具有很高的抗氧化能力，當歸的抗氧化能力以生育日數 235 天最佳，生育日數 205 天次之、生育日數 250 天最低，在不同生育期間其抗氧化能力變化很大，故收穫適期為影響有效成分含量的重要因素之一。當歸的地上部具有很高的抗氧化能力，DPPH 清除自由基能力達 90% 以上（數據未列出），可作為新鮮蔬菜食用，增加當歸的利用性，並提高農民的收益。

## 六、有機質肥料施用量對當歸產量與品質之影響

### （一）當歸不同有機質肥料施用量的農藝性狀比較

以不同有機質肥料施用量進行當歸之產量試驗，試驗結果顯示：當歸單株平均重量以施用 8,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料的 425 g 最高，以施用 4,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料的 316 g 最低；單株平均根重以施用 8,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料的 87 g 最高，施用 6,000 kg ha<sup>-1</sup> 有機質肥料的 74 g 次之，施用 4,000 kg ha<sup>-1</sup> 為 72 g，三處理間無顯著性差異，施用 2,000 kg ha<sup>-1</sup> 的平均根重 70 g 為最低，與施用 8,000 kg ha<sup>-1</sup> 有機質肥料的處理有顯著性之差異；株高、根長及根徑等農藝性狀在各個處理之間則無顯著性差異（表 2-7）。本試驗結果顯示施用 8,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料可達到最高產量。

### （二）當歸不同有機質肥料施用量的有效成分含量及抗氧化能力之比較

以不同有機質肥料施用量進行當歸有效成分含量與抗氧化能力之試驗，試驗結果顯示：當歸施用 2,000 kg ha<sup>-1</sup> 有機質肥料，其根部阿魏酸含量 98.1 μg g<sup>-1</sup> 為最高，以施用 6,000 kg ha<sup>-1</sup> 者阿魏酸含量 21.1 μg g<sup>-1</sup> 為最低（表 2-8）。藁本內酯含量以施用 8,000 kg ha<sup>-1</sup> 的 1.3 mg g<sup>-1</sup> 最高，施用 6,000 kg ha<sup>-1</sup> 的 0.7 mg g<sup>-1</sup> 最低，各肥料處理間無顯著性差異（表 2-8）。抗氧化能力以施用 6,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料之 68.1% 最高，以施用 2,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料的 61.1% 次之，施用 8,000 kg ha<sup>-1</sup> 為 58.2%，三種肥料處理之間無顯著性差異，但以施用 4,000 kg ha<sup>-1</sup> 的 48.6% 最低（表 2-8）。本試驗結果顯示，以施用較少量的有機質肥料 2,000 kg ha<sup>-1</sup> 及 4,000 kg ha<sup>-1</sup>，生產的當歸根部阿魏酸含量最高，不同肥料施用量之間呈顯著性差異，顯示阿魏酸含量受到有機質肥料施用量影響。藁本內酯含量則與有機質肥料施用量無顯著性差異。



## 七、栽培密度對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

### (一) 當歸不同栽培密度的農藝性狀比較

適合的行株距可使土地達到最有效率之利用，栽培最適的作物株數，有助於單位面積作物產量的提升。本試驗以 4 種不同栽培密度處理進行當歸的產量比較試驗，試驗調查結果顯示：株高以行株距 100 × 60 cm 之 75 cm 最高，行株距 100 × 50 cm 之 72 cm 次之，行株距 100 × 40 cm 為 71 cm，行株距 100 × 30 cm 之 67 cm 最矮。株重以行株距 100 × 60 cm 之 400 g 最高，行株距 100 × 50 cm 之 369.3 g 次之，行株距 100 × 40 cm 為 333 g，行株距 100 × 30 cm 之 287 g 最低。根長以行株距 100 × 60 cm 及 100 × 50 cm 之 28 cm 最長，行株距 100 × 40 cm 為 25 cm，行株距 100 × 30 cm 之 23 cm 最短。根重以行株距 100 × 60 cm 之 118 g 最高，行株距 100 × 50 cm 之 107 g 次之，行株距 100 × 40 cm 為 80 g，行株距 100 × 30 cm 之 71 g 最低。根直徑以行株距 100 × 60 cm 之 24 mm 最大，行株距 100 × 50 cm 及 100 × 40 cm 之 22 mm 次之，行株距 100 × 30 cm 之 19 mm 最小（表 2-9）。

### (二) 當歸不同栽培密度的有效成分含量之比較

當歸不同栽培密度對有效成分含量之比較試驗，試驗調查分析結果：阿魏酸含量以行株距 100 × 60 cm 之 110.3  $\mu\text{g g}^{-1}$  最高，100 × 30 cm 之 109.3  $\mu\text{g g}^{-1}$  次之，100 × 40 cm 為 106  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，100 × 50 cm 之 103.8  $\mu\text{g g}^{-1}$  最低，處理之間無顯著性差異。藁本內酯含量亦以 100 × 60 cm 之 2.7  $\text{mg g}^{-1}$  最高，100 × 50 cm 及 100 × 40 cm 處理皆為 2.4  $\text{mg g}^{-1}$ ，100 × 30 cm 之 2.2  $\text{mg g}^{-1}$  最低，處理之間無顯著性差異（表 2-10）。

綜合上述之結果，當歸根重以 100 × 60 cm 之 118 g 最高，100 × 50 cm 之 107 g 次之，但二者之間無顯著差異，有效成分阿魏酸與藁本內酯含量在 4 個處理間無顯著之差異。行株距 100 × 50 cm 時，每公頃之株數為 20,000 株，換算公頃產量為 2130 kg；行株距 100 × 60 cm 時，每公頃之株數為 16,666 株，換算公頃產量約為 1972 kg。故當歸栽培的行株距以 100 × 50 cm 之根部產量較高，可作為農民栽培之參考。

## 八、剪花與不剪花對當歸農藝性狀及有效成分含量之影響

為瞭解當歸生育過程中，剪除花穗與否對當歸產量與有效成分含量之影響，於當歸植株花苞形成時剪除花苞，並與未剪除花苞者進行產量與有效成分含量之比較試驗(圖 2-10)，試驗調查分為 2 次，2 次調查時間相差 15 天。第一次調查結果顯示：當歸未剪花之株高為 78 cm，剪花處理者為 46 cm；單株平均根重未剪花為 78 g，剪花處理者為 69 g；根長未剪花處理者為 25 cm，剪花處理者為 28 cm；阿魏酸含量未剪花為  $150.7 \mu\text{g g}^{-1}$ ，剪花處理者為  $242.0 \mu\text{g g}^{-1}$ ；藁本內酯未剪花處理含量為  $2.9 \text{ mg g}^{-1}$ ，剪花處理者為  $2.6 \text{ mg g}^{-1}$  (表 2-11)。第二次調查植株之產量與有效成分含量，試驗調查結果顯示：未剪花處理者的株高為 77 cm，剪花處理者為 45 cm；單株平均根重未剪花處理者為 68 g，剪花處理者為 55 g；根長未剪花處理者為 26 cm，剪花處理者為 30 cm；在阿魏酸含量方面，未剪花處理者為  $185.9 \mu\text{g g}^{-1}$ ，剪花處理者為  $201.7 \mu\text{g g}^{-1}$ ；在藁本內酯含量方面，未剪花處理者為  $2.3 \text{ mg g}^{-1}$ ，剪花處理者為  $2.6 \text{ mg g}^{-1}$  (表 2-11)。根據 2 次調查結果，當歸經剪花處理者，僅在阿魏酸含量上大於不剪花處理者，究其原因為阿魏酸具有傷口修復之功能，植株剪花後會促進阿魏酸之生成，故施以剪花處理後，阿魏酸含量有提高之現象。其他作物有類似情形，Surjadinata and Cisneros-Zevallos (2012)研究指出，將胡蘿蔔進行割傷處理，有可能促進酚類抗氧化物質之生合成。在本研究中，藁本內酯含量在二處理間並無明顯差異；在平均根重的表現上則以不剪花處理者較高，剪花處理對當歸之產量並無增加的效益。一般農民常誤以為剪花處理後可增加其產量，但本試驗結果顯示，剪除花苞並無增加根部產量之效益，另外，從主莖剪除花苞之後，亦會從側枝伸出新的花苞，因此當歸在開花期剪花對提升產量並無助益，反而徒增勞力付出，並可能因此導致傷口的病蟲害感染，造成產量與品質的損失，故建議當歸在栽培過程中不需進行剪除花苞之工作，此可作為農民田間栽培之參考。

## 九、覆蓋資材對當歸農藝性狀與有效成分含量之影響

### (一) 覆蓋資材對當歸農藝性狀之影響

為瞭解不同覆蓋資材對當歸生長的影響，以銀黑色塑膠布、PE 雜草抑制蓆及不織布等 3 種不同覆蓋資材進行畦面覆蓋處理試驗，試驗處理結果顯示：以不織布資材進行覆蓋處理的平均根重 89 g 最高，雜草抑制蓆處理的 78 g 次之，

以銀黑色塑膠布覆蓋處理的 64 g 最低，不織布與雜草抑制蓆處理間無顯著性差異；在株高的表現上以不織布資材進行覆蓋處理的 66 cm 最高，但與其他二者處理有顯著性之差異。在根長與根徑之調查結果亦顯示三個處理間無顯著性之差異（表 2-12）。

畦面覆蓋具有抑制雜草生長，提高地溫，保持土壤水份，並防止雨水沖刷及土壤壓實，減少肥料的淋洗流失，減少病蟲害發生，促進作物生育，提高作物產量及品質的作用。雜草是田間栽培目的以外的植物，它會妨礙作物生育，影響收穫物品質，也會成為病蟲害傳播媒介，因此雜草的控制成為栽培的重要作業。一般為防止雜草生長，可以覆蓋銀黑色不透光的塑膠布或雜草抑制蓆等材料，或是在雜草苗期以人工除草之方式進行除草作業，惟較耗費人工與成本，在工資昂貴與人力欠缺的環境下，人工除草為較不經濟的方式；此外，當歸為一保健養生食材，在注重食品安全與環境保育的今日，若施用除草劑防除雜草，較易引起消費者的疑慮，且除草劑施用不當會影響當歸之生育，故有必要尋找較優良的覆蓋材料來取代昂貴的人工除草和除草劑。

Wang *et al.* (1998)研究不同顏色的覆蓋資材，如紅色、黑色、銀色等對草莓品質的影響進行試驗，結果以紅色與黑色覆蓋資材處理者，能有最佳的產量與品質，而以銀色覆蓋資材處理者最差，顯示不同顏色的覆蓋資材對作物之產量與有效成分含量皆有影響。本次試驗結果，不織布與雜草抑制蓆這二種黑色覆蓋資材的處理，比銀黑色塑膠布處理者有較高的當歸產量，而不織布與雜草抑制蓆處理間無顯著性差異。但比較不織布與雜草抑制蓆二者，雜草抑制蓆為目前田間常使用之覆蓋資材，具有可重複使用、輕便、不易破損及低成本等特性，在田間栽培上較為便利。

## （二）覆蓋資材對當歸有效成分含量之影響

為瞭解不同覆蓋資材對當歸有效成分含量影響，以銀黑色塑膠布、PE 雜草抑制蓆及不織布等 3 種不同覆蓋資材進行畦面覆蓋處理試驗，試驗處理結果顯示：當歸以雜草抑制蓆處理的阿魏酸含量為  $120.9 \mu\text{g g}^{-1}$  最高，以不織布資材進行覆蓋處理者為  $108.9 \mu\text{g g}^{-1}$  次之，而以銀黑色塑膠布覆蓋處理者為  $80.9 \mu\text{g g}^{-1}$  最低，不織布與雜草抑制蓆處理之間無顯著性差異；以銀黑色塑膠布覆蓋處

理的藁本內酯含量為  $2.5 \text{ mg g}^{-1}$  最高，不織布與雜草抑制蓆二種處理者均為  $1.8 \text{ mg g}^{-1}$ ，但三個處理間無顯著性差異（表 2-13）。


#### 十、種植方式對當歸農藝性狀與有效成分含量之影響

為探討不同種植方式對當歸產量與品質之影響，以種子直播與育苗後移植等二種不同種植方式進行比較試驗，試驗結果顯示：單株平均根重以育苗移植種植方式的  $112 \text{ g}$  較高於直播方式的  $74 \text{ g}$ 。根長亦以移植種植方式的  $28 \text{ cm}$  較高於直播方式的  $22 \text{ cm}$ 。根直徑大小以種子直播方式的  $20 \text{ mm}$  較高於移植種植方式的  $11 \text{ mm}$ 。當歸根數採移植栽培者根的分支數為 19，採種子直播栽培者僅有 1 主根。在株高、根長、根重、根徑及根數上，直播與移植此二種不同種植方式間有顯著性差異（表 2-14）。

比較有效成分含量，以移植種植方式的阿魏酸含量為  $114.5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ，高於以種子直播者  $105.5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ （圖 2-11-A）；藁本內酯含量亦以移植種植方式者之  $3.7 \text{ mg g}^{-1}$  較高於以種子直播者  $3.3 \text{ mg g}^{-1}$ （圖 2-11-B），在有效成分含量上並無顯著性差異。

綜合試驗結果顯示：當歸的根重雖以育苗移植者較種子直播者為高，但在根直徑以種子直播者較大並具主根，支根從主根長出，若以根徑大小為主要生產者，則以直播栽培者較佳。當歸採育苗種植者，在種子播種於穴盤需 3 - 4 週才開始發芽，發芽後再需 5 - 6 週時間長出 3 - 4 片本葉，此時才可移植田間定植，因此在苗期管理需較長的時間。

## 結論



本試驗已建立當歸之優良農業操作栽培體系，可作為農民栽培當歸之參考。當歸在花蓮地區之試驗結果顯示，當歸極適合於花蓮地區種植，但溫度太高的地區較不利於有效成分含量之累積，會影響其產量與品質。當歸的主要利用部位為根部，種植的環境須排水良好，並以富含有機質的砂質壤土為宜；生育期間應注意水分供應，避免因乾旱缺水造成植株萎凋，影響根部發育。10 月份為當歸之種植適期，若太晚延至 3 月份種植，會因生育時間較短，影響當歸的產量與品質。當歸開始抽花至盛花的生育時期，在根部外觀、產量及有效成分含量均較佳，以此時的生育階段作為根部收穫適期的依據。花蓮地區種植的當歸有效成分阿魏酸含量雖較市售進口者為低，但藁本內酯含量與市售進口者並沒有差異，營養元素含量則高於市售進口者，此雖與當歸不同物種間有關，但後續可因地制宜，再經由品種選育以及配合各項栽培技術與田間管理操作調整改進，將可提高當歸的產量與品質，改善當歸在不同地區之產量與品質不均的問題。花蓮種植的當歸主要利用部位為新鮮根部，沒有經過炮製等加工處理，此與市售進口當歸藥材多經過硫化與酒炙等炮製方式有極大的不同，故本土生產的新鮮當歸可與市售進口當歸藥材作為市場區隔，再加上是以優良農業操作方式種植，可保障消費者使用上無安全之虞。根據試驗分析結果，當歸的地上部具有很高的抗氧化能力，DPPH 清除自由基能力達 90% 以上，可作為新鮮蔬菜食用，增加當歸的利用性，並提高農民的收益。本研究中所採取的田間試驗，皆以有機的栽培管理方式，試驗成果可作為臺灣制定當歸 GAP 之參考，提供農民從事有機栽培與優良農業操作的依據，生產安全、優質的當歸藥材，並提供農民栽培新興作物之選擇，未來可作為活化休耕地的地方特產作物，提高農民的收益。

## 參考文獻

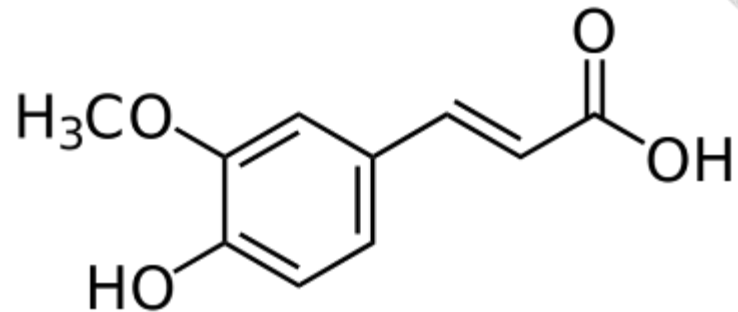


- 張同吳。2010。不同栽培環境及種植期對黃芩產量與品質之影響。行政院農業委員會  
花蓮區農業改良場研究彙報 28：1-7。
- 顏焜熒。1985。原色生藥學。南天書局。台北。
- Cho S., A. M. A. El-Aty, J. Choi, M. R. Kim and J. H. Shim. 2007. Optimized conditions for the extraction of secondary volatile metabolites in *Angelica* roots by accelerated solvent extraction. J. Pharm. Biomed. Anal. 44: 1154-1158.
- Lin L., X. He, L. Lian, W. King and J. Elliott. 1998. Liquid chromatographic–electrospray mass spectrometric study of the phthalides of *Angelica sinensis* and chemical changes of Z-ligustilide. J. Chromatogr. A. 810: 71-79.
- Lu G. H., K. Chan, C. L. Chan, K. Leung, Z. H. Jiang and Z. Z. Zhao. 2004. Quantification of ligustilides in the roots of *Angelica sinensis* and related umbelliferous medicinal plants by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. A. 1046: 101-107.
- Lu G. H., K. Chan, Y. Z. Liang, K. Leung, C. L. Chan, Z. H. Jiang and Z. Z. Zhao. 2005. Development of high-performance liquid chromatographic fingerprints for distinguishing Chinese *Angelica* from related umbelliferae herbs. J. Chromatogr. A. 1073:383-392.
- Lu G. H., K. Chan, K. Leung, C. L. Chan, Z. Z. Zhao, and Z. H. Jiang. 2005. Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis*. J. Chromatogr. A. 1068: 209-219.
- Lu J., J. Duan, Y. Tang, N. Yang, and L. Zhang. 2009. Phthalide mono- and dimers from the radix of *Angelica sinensis*. Biochem. Syst. Ecol. 37: 405-411.
- Mpofu, A., H. D. Sapirstein and T. Beta. 2006. Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. J. Agric. Food Chem. 54: 1265-1270.
- Qian Y. Y., Y. L. Wang, R. N. Sa, H. Yan, X. B. Pan, Y. W. Yang and Y. J. Sun. 2013. Metabolic fingerprinting of *Angelica sinensis* during growth using UPLC-TOFMS and chemometrics data analysis. Chem. Cent. J. 7: 42.
- Shiyab S., M. Shatnawi, R. Shibli1, M. Al-Zweiri, M. Akash1 and T. Aburijai. 2012. Influence of developmental stage on yield and composition of *Origanum syriacum* L. oil

- by multivariate analysis. J. Med. Plants Res. 6: 2985-2994.
- Srinivasan M., A. R. Sudheer, and V. P. 2007. Menon. Ferulic Acid: Therapeutic potential through its antioxidant property. J. Clin. Biochem. Nutr. 40: 92–100.
- Surjadinata B. B. and L. Cisneros-Zevallos 2012. Biosynthesis of phenolic antioxidants in carrot tissue increases with wounding intensity. Food Chem. 134: 615–624.
- Tianniam S., L. Tarachiwin, T. Bamba, A. Kobayashi and E. Fukusaki. 2008. Metabolic profiling of *Angelica acutiloba* roots utilizing gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for quality assessment based on cultivation area and cultivar via multivariate pattern recognition. J. Biosci. Bioeng. 105: 655-659.
- Tianniam S., T. Bamba and E. Fukusaki. 2010. Pyrolysis GC-MS-based metabolite fingerprinting for quality evaluation of commercial *Angelica acutiloba* roots. J. Biosci. Bioeng. 109: 89-93.
- Wang, S. Y., G. J. Galletta, and M. J. Camp. 1998. Fruit quality in strawberry (*Fragaria* sp.) grown on colored plastic mulch. Hort. Science 33(4): 636-640.
- Yu, L., J. Perret, M. Harris, J. Wilson and S. Haley. 2003. Antioxidant properties of bran extracts from “Akron” wheat grown at different locations. J. Agric. Food Chem. 51: 1566-1570.
- Yu, L., S. Haley, J. Perret and M. Harris. 2002a. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. Food Chem. 78: 457-461.
- Yu, L., S. Haley, J. Perret, M. Harris, J. Wilson and M. Qian. 2002b. Free radical scavenging properties of wheat extracts. J. Agric. Food Chem. 50: 1619-1624.
- Zhang, S. Y. and K. C. Cheng. 1989. *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. In vitro culture, regeneration, and the production of medicinal compounds, Biotechnol. Agric. For. 7:1-22.
- Zhao, K. J., T. T. Dong, P. T. Tu, Z. H. Song, C. K. Lo and W. K. Tsim. 2003. Molecular genetic and chemical assessment of *Radix Angelica* (Danggui) in China. J. Agric. Food Chem. 51: 2576-2583.



A: 阿魏酸：(E)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl) prop-2-enoic acid



B: 藜本內酯：(3Z)-3-butylidene-4,5-dihydro-2-benzofuran-1-one

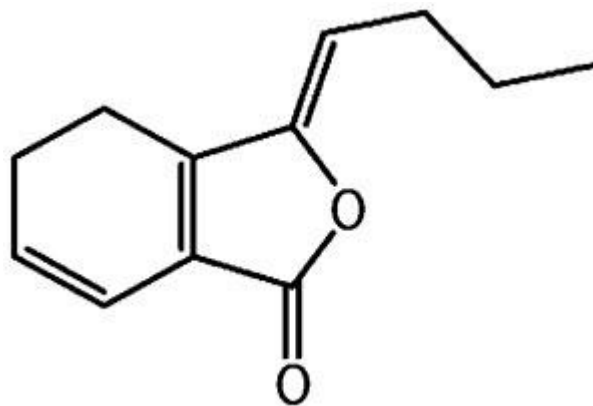


圖 2-1、當歸之阿魏酸 (ferulic acid) 及藜本內酯 (Z-ligustilide) 化學構造式  
Fig. 2-1. The chemical structure of ferulic acid (A) and Z-ligustilide (B) in *A. acutiloba*.



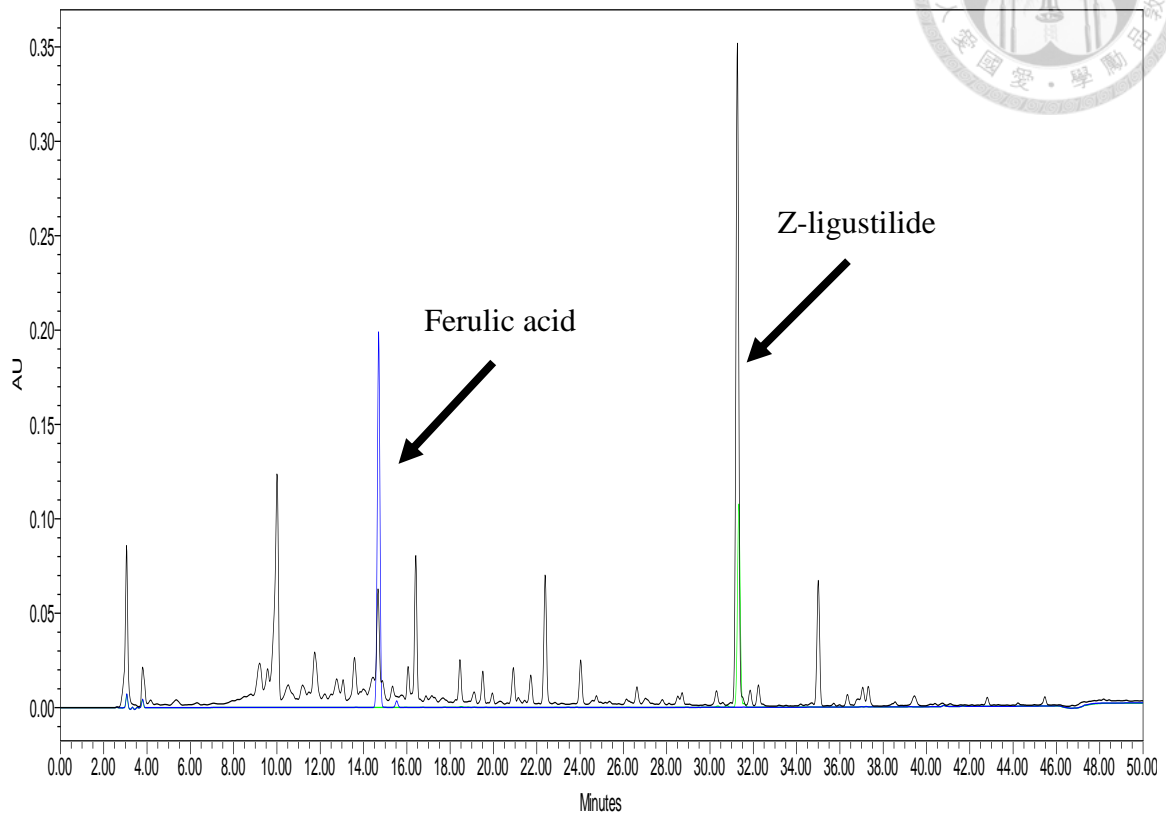


圖 2-2、當歸有效成分之 HPLC 指紋圖譜  
Fig. 2-2. The HPLC fingerprint of *A. acutiloba*.



圖 2-3-A、當歸種子形態



圖 2-3-B、當歸幼苗形態  
(3 個月)



圖 2-3-C、當歸植株形態  
(5 個月)



圖 2-3-D、當歸抽花形態  
(6 個月)



圖 2-3-E、當歸開花形態  
(7 個月)



圖 2-3-F、當歸結種子形態  
(8~9 個月)



圖 2-3-G、當歸以種子直播根部  
生長形態



圖 2-3-H、當歸以育苗移植之  
根部生長形態

圖 2-3、當歸不同生育階段的植株形態

Fig. 2-3. The plant morphology at different stages of *A. acutiloba*.

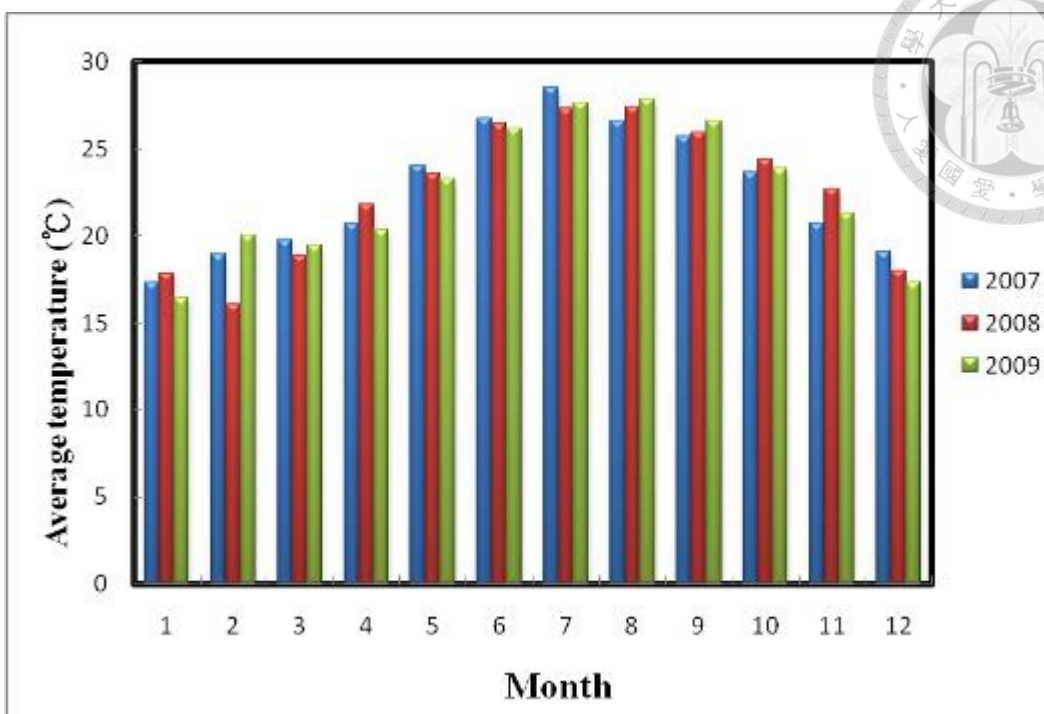


圖 2-4、2007-2009 年花蓮地區的月平均溫度之比較  
Fig. 2-4. The comparison on the monthly average temperature from 2007 to 2009 in Hualien area.

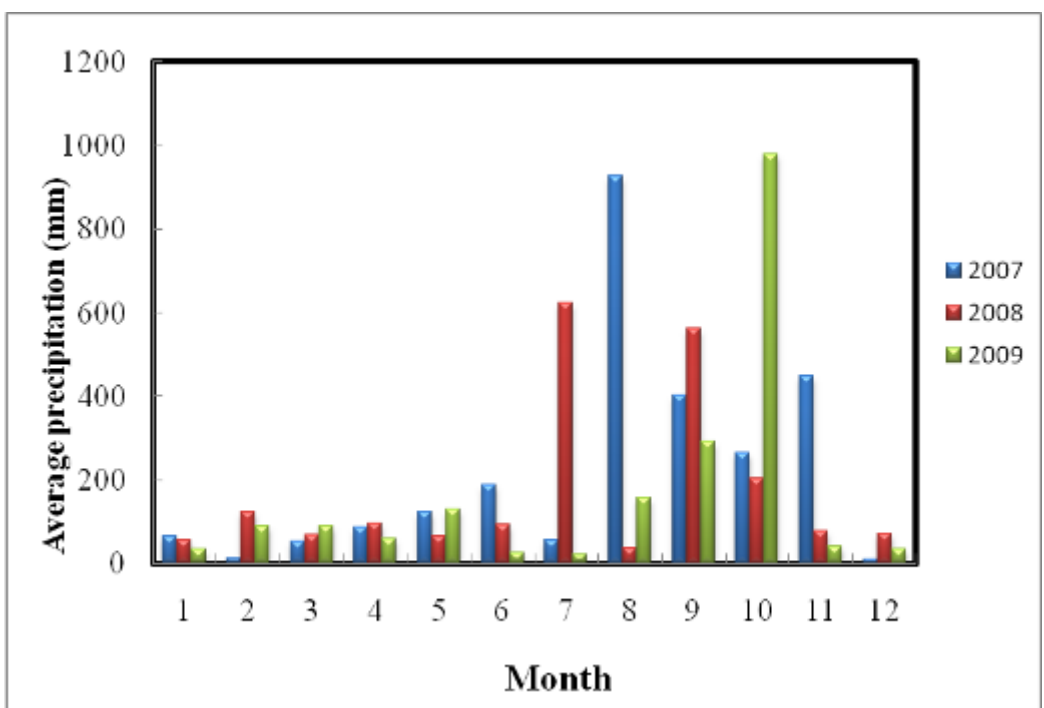
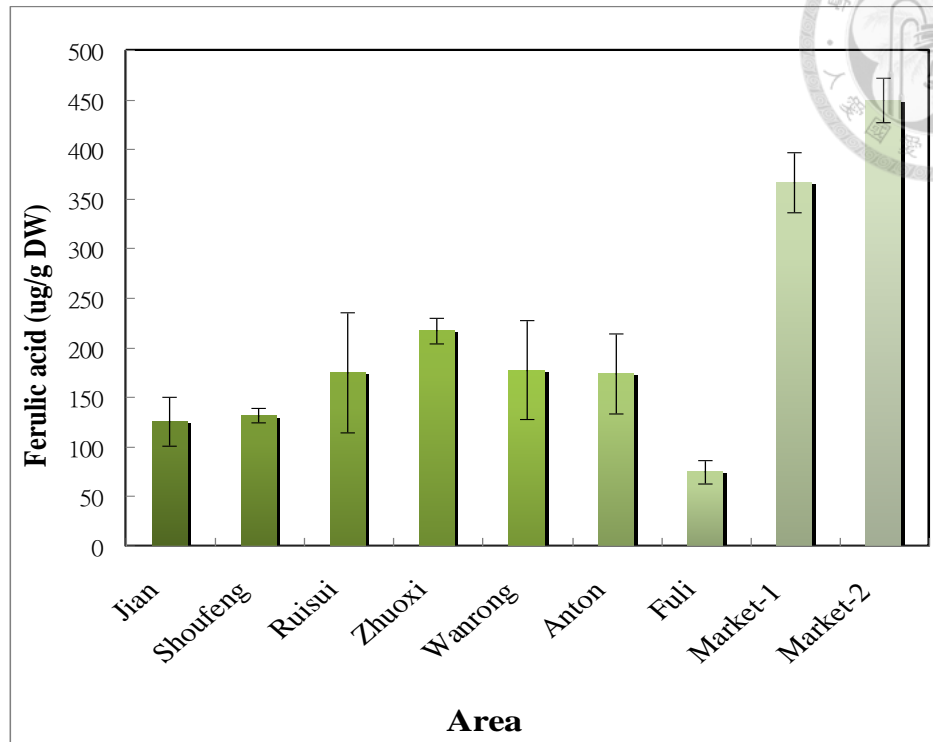


圖 2-5、2007-2009 年花蓮地區的月平均降雨量之比較  
Fig. 2-5. The comparison on the monthly average precipitation from 2007 to 2009 in Hualien area.

A



B

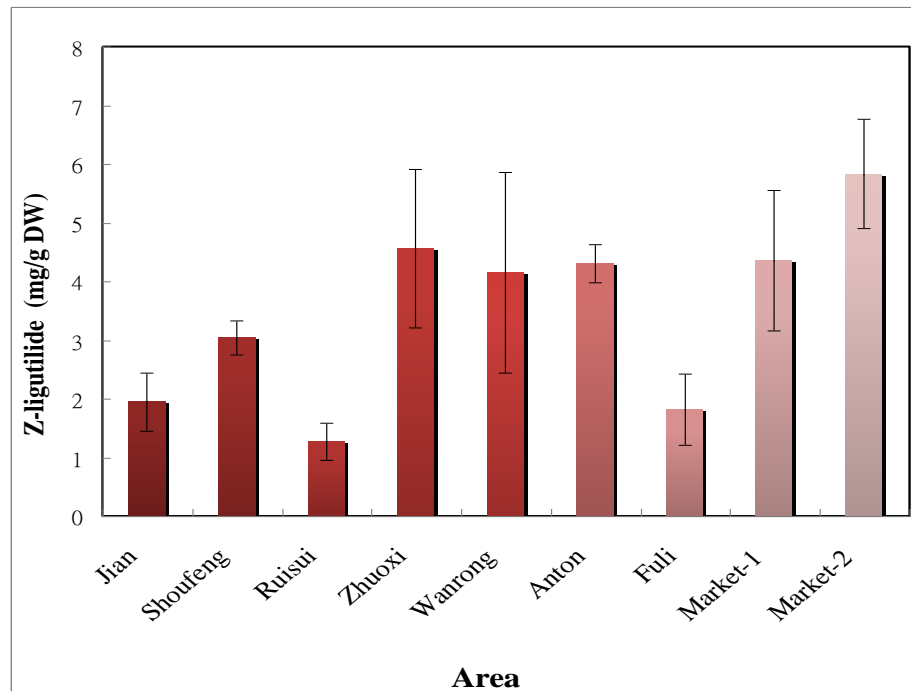


圖 2-6、花蓮地區生產之當歸與市售進口當歸有效成分阿魏酸含量 (A) 與藜本內酯 (B) 之比較

Fig. 2-6. The comparison on the Danggui ferulic acid (A) and Z-ligustilide (B) content of marketing and Hualien production.

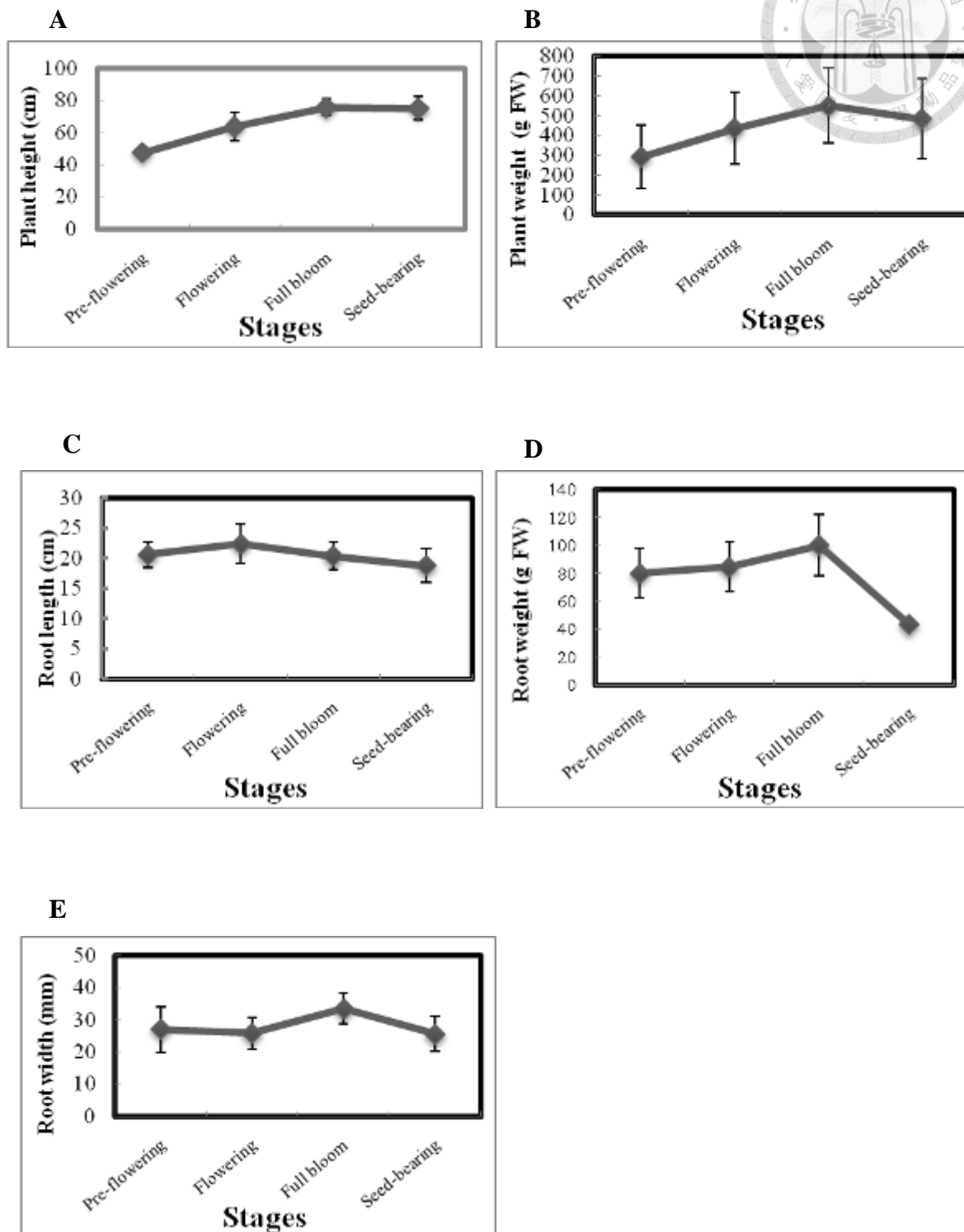


圖 2-7、當歸在不同生育階段農藝性狀之變化情形

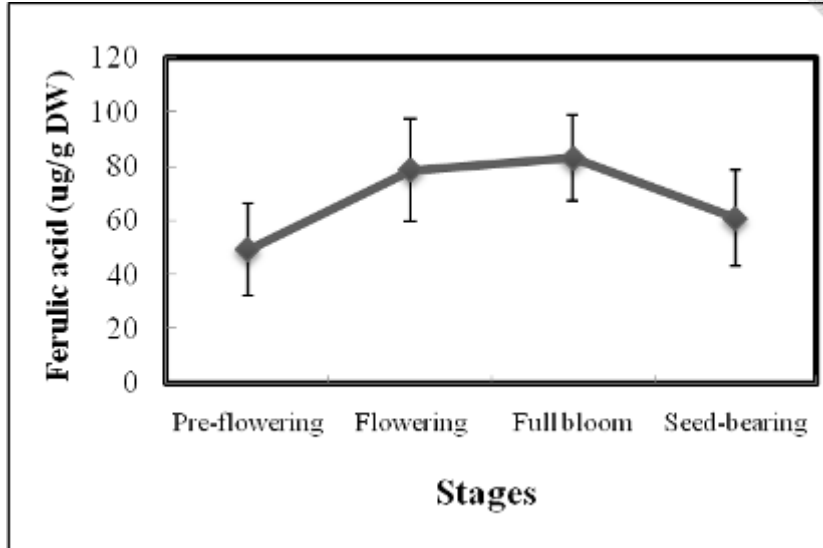
A: 株高、B: 全株重、C: 根長、D: 根重、E: 根徑

Fig. 2-7 The change at different growth stages of *A. acutiloba*.

A: Plant height, B: Plant weight, C: Root length, D: Root weight, E: Root width.



A



B

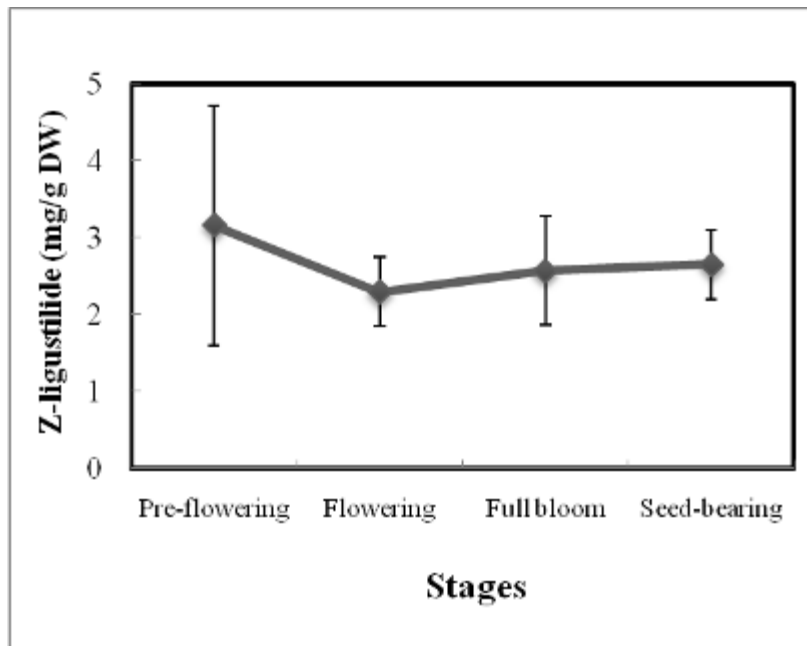
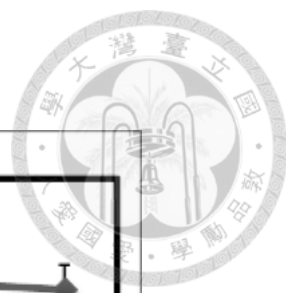
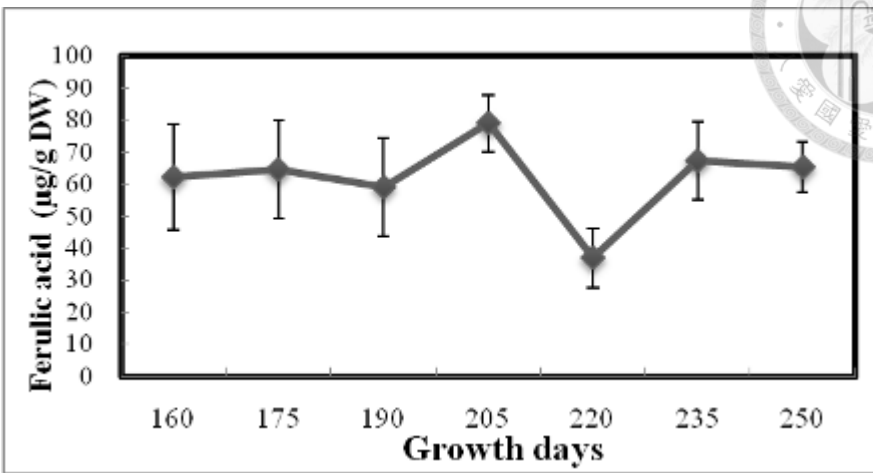


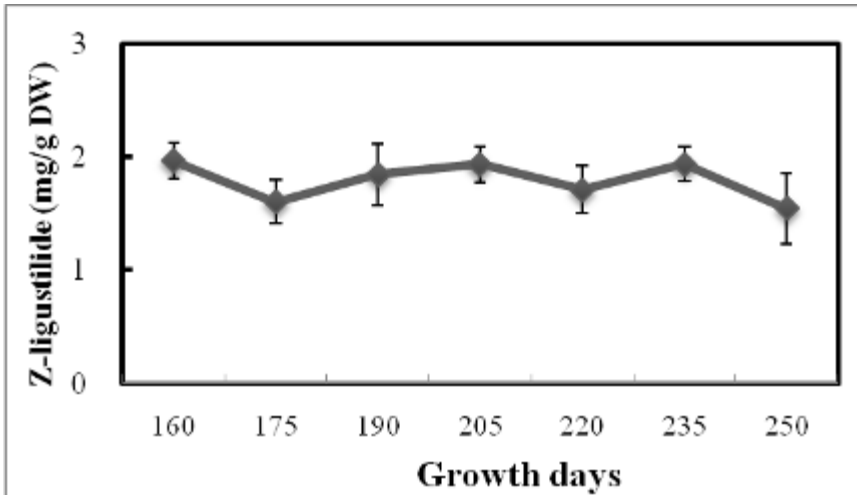
圖 2-8、當歸不同生育階段有效成分含量之變化情形  
Fig. 2-8. The change on the active ingredients content at different growth stage of *A. acutiloba*.



A



B



C

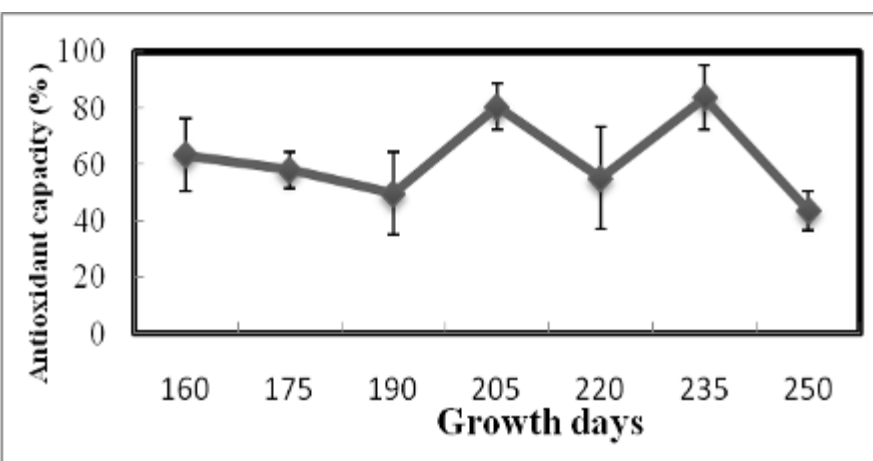


圖 2-9、當歸不同生育期有效成分及抗氧化能力之變化情形  
Fig. 2-9. The change on the active ingredients content and antioxidant capacity at different growth days of *A. acutiloba*.





圖 2-10、當歸抽花時將花苞剪除進行比較試驗  
Fig. 2-10. The comparison of cut flowers trial in *A. acutiloba*.

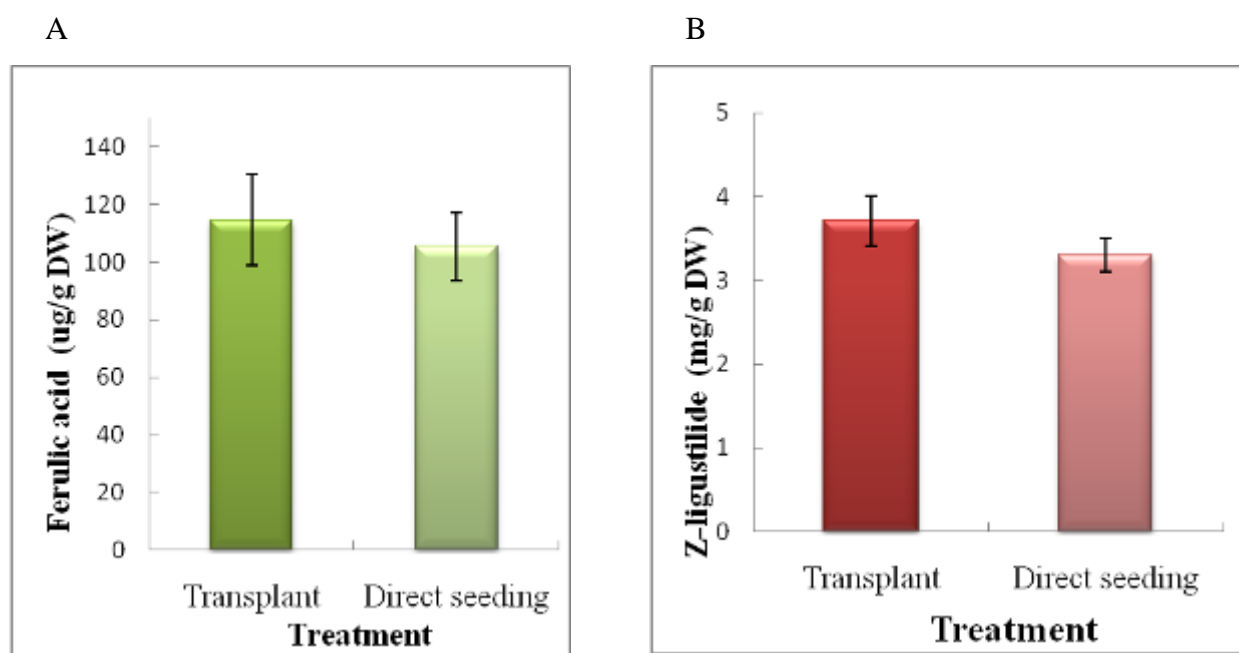


圖 2-11、當歸不同種植方式的有效成分阿魏酸及藁本內酯含量比較  
Fig. 2-11. The comparison on the different cultivated methods of ferulic acid and Z-ligustilide content in *A. acutiloba*.



表 2-1、當歸不同栽培地區與年份對農藝性狀之比較

Table 2-1. The comparison on the agronomic traits of different cultivated area and years in *A. acutiloba*.

Cultivated area	Year	Plant weight (g FW)	Plant height (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root width (mm)
Jian	2007	162±41.2	72±15.6	98±28.6	30±3.3	27±4.3
	2008	236±85.1	58±13.8	77±33.0	28±5.5	23±5.3
	2009	550±98.9	76±4.3	97±8.9	20±1.5	33±3.3
	Mean	316	69	91	26	28
Shoufeng	2007	185±44.8	49±7.2	78±34.9	28±3.8	11±2.1
	2008	245±78.1	59±9.1	76±21.2	27±6.1	23±2.8
	2009	557±89.8	60±5.2	157±12.1	26±1.8	34±3.8
	Mean	329	56	104	27	23
Ruisui	2007	188±44.5	65±11.5	102±22.3	29±6.6	21±2.5
	2008	161±91.9	35±27.1	52±29.0	17±12.7	14±11.1
	2009	536±101.5	64±7.2	154±14.2	25±2.1	35±4.1
	Mean	295	55	103	24	23
Yuli	2007	129±25.8	48±14.5	91±19.6	28±3.6	24±2.2
	2008	150±76.6	34±21.2	48±24.3	16±9.9	13±8.6
	2009	739±112.3	71±8.5	165±9.8	22±4.2	43±3.3
	Mean	339	51	101	22	27
Zhuoxi	2007	103±33.2	52±7.8	68±21.3	18±3.5	16±1.3
	2008	213±99.4	44±10.9	83±27.9	22±3.2	18±4.1
	2009	580±95.4	63±6.1	158±8.5	35±3.9	40±3.4
	Mean	299	53	103	25	25

表 2-2、當歸不同栽培地區與年份的有效成分含量比較

Table 2-2. The comparison on the active ingredients content of different cultivated area and years in *A. acutiloba*.

Cultivated area	Year	Ferulic acid ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{DW}$ )	Z-ligustilide ( $\text{mg g}^{-1}\text{DW}$ )
Jian	2007	115.4±14.7	1.6±0.2
	2008	83.0±4.5	2.6±0.3
	2009	83.0±5.9	2.6±0.7
	Mean	93.8	2.3
Shoufeng	2007	87.0±7.3	4.4±0.9
	2008	74.8±5.6	0.8±0.2
	2009	90.1±4.1	1.5±0.2
	Mean	84.0	2.2
Ruisui	2007	206.5±27.2	4.3±1.3
	2008	115.6±4.8	2.3±0.3
	2009	158.2±7.2	2.3±0.7
	Mean	160.1	3.0
Yuli	2007	263.0±8.9	4.6±0.2
	2008	196.0±9.4	3.1±0.1
	2009	153.3±4.8	2.2±0.4
	Mean	204.1	3.3
Zhuoxi	2007	217.2±16.0	4.6±0.4
	2008	152.8±7.1	2.3±0.2
	2009	97.7±11.3	2.5±0.6
	Mean	155.9	3.1

表2-3、花蓮地區生產與市售當歸元素含量比較

Table 2-3 .The comparison on elements content of *A. acutiloba* in marketing and Hualien production .

Source	Ca (%)	Mg (%)	P (%)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)
Market-1	0.3	0.2	0.6	260.0	0.3	6.1	38.3
Market-2	0.3	0.2	0.5	244.0	0.3	5.8	39.2
Hualien-1	0.8	0.3	0.9	352.0	72.8	13.6	40.0
Hualien-2	0.7	0.3	0.7	566.0	130.0	22.0	39.0
Hualien-3	0.5	0.4	0.9	282.0	68.0	21.0	24.8

表 2-4、當歸不同種植時期的農藝性狀比較

Table 2-4.The comparison on the agronomic traits of different cultivated period in *A. acutiloba*.

Cultivated Period	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)	Harvest days
March	48 ± 12.0	236 ± 89.5	22 ± 5.5	56 ± 11.4	18 ± 2.9	160
October	76 ± 6.8	311 ± 86.3	29 ± 4.1	95 ± 16.3	21 ± 2.1	280

表 2-5、當歸不同種植時期的有效成分含量之比較

Table 2-5 . The comparison on the active ingredients content of different cultivated period in *A. acutiloba*.

Cultivated Period	Ferulic acid (µg/g DW)	Z-ligustilide (mg/g DW)
March	77.0 ± 12.1	2.1 ± 0.3
October	103.1 ± 7.2	2.2 ± 0.2

表 2-6、當歸不同生育時期的農藝性狀調查

Table 2-6. The comparison on the agronomic traits at different growth days in *A. acutiloba*.

Growth days	Plant height (cm)	Plant weight (g)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g)	Plant root width (mm)
160	43 ± 2.9	245 ± 29.9	23 ± 1.8	50 ± 6.5	17 ± 2.6
175	55 ± 3.0	385 ± 58.1	25 ± 1.5	62 ± 6.9	20 ± 3.3
190	69 ± 3.0	375 ± 101.0	24 ± 2.5	52 ± 15.1	21 ± 3.2
205	77 ± 6.8	623 ± 105.9	24 ± 2.8	77 ± 11.3	23 ± 1.5
220	73 ± 4.3	517 ± 55.2	24 ± 1.9	64 ± 9.3	16 ± 2.1
235	69 ± 3.8	363 ± 27.9	26 ± 1.8	69 ± 9.2	16 ± 3.1
250	74 ± 3.59	232 ± 35.0	26 ± 3.2	64 ± 15.2	16 ± 2.1

表 2-7、當歸不同有機質肥料施用量的農藝性狀比較

Table 2-7. The comparison on the different organic fertilizer amount of agronomic traits in *A. acutiloba*.

Organic fertilizer treatment (kg ha <sup>-1</sup> )	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
2,000	82 <sup>za</sup>	373 <sup>ab</sup>	22 <sup>a</sup>	70 <sup>b</sup>	21 <sup>a</sup>
4,000	84 <sup>a</sup>	316 <sup>b</sup>	21 <sup>a</sup>	72 <sup>ab</sup>	22 <sup>a</sup>
6,000	79 <sup>a</sup>	336 <sup>b</sup>	22 <sup>a</sup>	74 <sup>ab</sup>	20 <sup>a</sup>
8,000	79 <sup>a</sup>	425 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	17.2	82.0	1.7	17.2	3.5

z: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

z: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 2-8、當歸不同有機質肥料施用量的有效成分含量及抗氧化能力比較  
 Table 2-8. The comparison on the different organic fertilizer amount of active ingredients and antioxidant capacity in *A. acutiloba*.

Organic fertilizer treatment (kg ha <sup>-1</sup> )	Ferulic acid (μg g <sup>-1</sup> DW)	Z-Ligustilide (mg g <sup>-1</sup> DW)	Anti-oxidant capacity(%)
2,000	98.1 <sup>za</sup>	1.1 <sup>a</sup>	61.1 <sup>ab</sup>
4,000	70.2 <sup>ab</sup>	1.2 <sup>a</sup>	48.6 <sup>b</sup>
6,000	21.1 <sup>c</sup>	0.7 <sup>a</sup>	68.1 <sup>a</sup>
8,000	43.2 <sup>bc</sup>	1.3 <sup>a</sup>	58.2 <sup>ab</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	33.1	0.76	12.9

z: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

z: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 2-9、當歸不同栽培密度的農藝性狀比較

Table 2-9. The comparison on agronomic traits in different planting density in *A. acutiloba*.

Planting density	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
100×30 cm	67 <sup>zb</sup>	287 <sup>c</sup>	23 <sup>b</sup>	71 <sup>b</sup>	19 <sup>b</sup>
100×40 cm	71 <sup>ab</sup>	333 <sup>bc</sup>	25 <sup>ab</sup>	80 <sup>b</sup>	22 <sup>a</sup>
100×50 cm	72 <sup>ab</sup>	369 <sup>ab</sup>	28 <sup>a</sup>	107 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>
100×60 cm	75 <sup>a</sup>	400 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	118 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	6.4	49.0	3.9	13.6	2.0

z: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

z: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

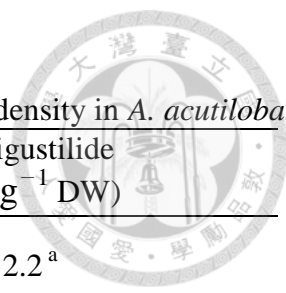


表 2-10、當歸不同栽培密度的有效成分含量比較

Table 2-10. The comparison on active ingredients in different planting density in *A. acutiloba*.

Planting density	Ferulic acid ( $\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	Z-Ligustilide ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
100×30 cm	109.3 <sup>za</sup>	2.2 <sup>a</sup>
100×40 cm	106.0 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>
100×50 cm	103.8 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>
100×60 cm	110.3 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	15.2	0.6

z: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

z: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 2-11、剪花與不剪花對當歸農藝性狀及有效成分含量的影響

Treatment	Date	Plant height (cm)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Ferulic acid ( $\mu\text{g/g}$ DW)	Z-Ligustilide ( $\text{mg/g}$ DW)
Not-cut flowers	2007.06.25	78 ± 7.6	25 ± 6.1	78 ± 23.2	150.7 ± 32.1	2.9 ± 0.3
	2007.07.11	77 ± 12.2	26 ± 3.4	68 ± 13.4	185.9 ± 8.2	2.3 ± 0.2
Cut flowers	2007.06.25	46 ± 7.4	28 ± 6.2	69 ± 16.5	242.0 ± 41.3	2.6 ± 0.3
	2007.07.11	45 ± 5.5	30 ± 4.5	55 ± 8.2	201.7 ± 21.4	2.6 ± 0.1

表 2-12、覆蓋資材對當歸農藝性狀之影響

Table 2-12. The comparison on the different mulching materials of agronomic traits in *A. acutiloba*.

Mulching treatment	Plant height (cm)	Plant weight (g)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
Plastic sheeting	54 <sup>zb</sup>	124 <sup>b</sup>	26 <sup>a</sup>	64 <sup>b</sup>	16 <sup>a</sup>
Weed control mat	56 <sup>b</sup>	145 <sup>ab</sup>	27 <sup>a</sup>	78 <sup>ab</sup>	22 <sup>a</sup>
Non-woven fabric	66 <sup>a</sup>	245 <sup>a</sup>	27 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>
LSD 0.05	4.1	119.5	15	21.4	7.3

z: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

z: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 2-13、覆蓋資材對當歸有效成分含量及抗氧化能力之影響

Table 2-13. The comparison on the different mulching materials of active ingredients in *A. acutiloba*.

Mulching treatment	Ferulic acid ( $\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	Z-Ligustilide ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
Plastic sheeting	80.9 <sup>zb</sup>	2.5 <sup>a</sup>
Weed control mat	120.9 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>
Non-woven fabric	108.9 <sup>ab</sup>	1.8 <sup>a</sup>
LSD 0.05	31.2	1.02

z: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

z: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 2-14、當歸不同種植方式的農藝性狀比較

Table 2-14. The comparison on the different planting practice of agronomic traits in *A. acutiloba*.

Treatment	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)	Root Number
Transplant	54 <sup>za</sup>	404 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	112 <sup>a</sup>	11 <sup>b</sup>	19.3 <sup>a</sup>
Direct Seeding	47 <sup>b</sup>	238 <sup>a</sup>	22 <sup>b</sup>	74 <sup>b</sup>	20 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	2.5	178.7	0.7	28.4	4.7	3.79

z: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

z: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.





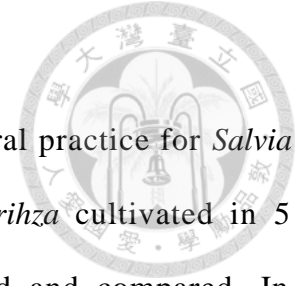
## 參、丹參優良農業操作栽培體系之建立

## 摘要

本研究之目的為建立丹參之優良農業栽培體系。不同栽培地區對丹參農藝性狀、有效成分含量之影響試驗，單株平均根重以玉里地區最高；丹參酚酸 B 含量以玉里地區的最高；丹參酮 IIA 含量以富里地區最高。花蓮地區種植之丹參與市售丹參有效成分之比較，試驗分析結果顯示花蓮地區生產丹參的丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量高於市售之丹參。不同生育期對丹參之農藝性狀比較試驗，試驗結果顯示丹參的株高、根重以生育期 11 個月之表現較佳；丹參之有效成分丹參酚酸 B 之含量以生育期 12 個月之表現較佳；丹參之有效成分丹參酮 IIA 則以生育期 9 個月較高。不同種植時期對丹參農藝性狀及有效成分含量之比較，10 月份種植的丹參其產量與有效成份含量皆較 3 月份種植者為高。不同有機質肥料施用量對丹參產量與品質之影響，單株平均根重以施用 16,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料最高；有效成分丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 之含量以施用 12,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料為最高；抗氧化能力以施用 16,000 kg ha<sup>-1</sup> 的有機質肥料的 82% 最高。不同種植方式對丹參產量與品質之影響，單株平均根重、根徑、丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 的含量及抗氧化能力以移植種植方式較高於直播方式。不同栽培密度對丹參產量與品質之影響，根重、丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量以行株距 100 × 60 cm 最高。不同蝦蟹殼粉施用量對丹參品質之影響，單株平均根重以施用 750 kg ha<sup>-1</sup> 的蝦蟹殼粉最高。丹參不同部位有效成分含量之比較，丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量在根部最高。丹參不同根徑大小之有效成分含量之比較，丹參酚酸 B 含量根毛及細根的含量較低，根徑在 5 mm 以上的含量較高；丹參酮 IIA 在根毛及細根的含量亦較低，根徑在 5 mm 的丹參酮 IIA 含量 8.3 mg g<sup>-1</sup> 最高。連作與輪作對丹參產量與有效成分含量之比較，試驗結果顯示，丹參連作三年的根部產量、丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量為最低。一年生與二年生對丹參產量與有效成分含量試驗結果顯示，一年生與二年生丹參在產量及有效成分含量差異不大，但根部外觀品質以一年生較佳，因此丹參在種植 1 年即可收穫。

關鍵詞：丹參、產量、品質、有效成分、丹參酚酸 B、丹參酮 IIA

## Abstract



The purpose of this research was to establish the good agricultural practice for *Salvia miltiorrhiza*. The characters and active ingredients of *S. miltiorrhiza* cultivated in 5 different areas of Hualien and Yilan Counties were measured and compared. In comparison of the average plant weight, root weight and root width for *S. miltiorrhiza*, the highest value was acquired from those cultivated in Yuli area. Those of highest active ingredient content of salvianolic acid B content were the harvest from roots cultivated in Yuli area; those with the highest tanshinone IIA content were from roots cultivated in Fuli area. Comparing the agronomic traits of the roots with different growth periods, harvest after planting after eleven months had the highest value in plant height, root weight and root width. Those with twelve months growth days had the highest salvianolic acid B content. Furthermore, roots of nine months had the highest tanshinone IIA content. In addition, roots of twelve months had the highest antioxidant capacity. Roots planted in October had higher root yield and active ingredient content than in those in March. Organic fertilizer application rates at 16,000 kg ha<sup>-1</sup> had the highest root yield, and the 12,000 kg ha<sup>-1</sup> had the highest active ingredient content in organic fertilizer trial. The transplanting cultivation had higher root yield, salvianolic acid B and tanshinone IIA content than direct seeding cultivation. Planting density at 100×60cm had the highest root yield, salvianolic acid B and tanshinone IIA content. The shrimp shells powders treatment amount at 750 kg ha<sup>-1</sup> had the highest root yield in *S. miltiorrhiza*. Among comparison of different parts of plant, root position had the highest content in salvianolic acid B and tanshinone IIA than root head and shoot position. Root diameter above 5 mm had higher salvianolic acid B content, and the 5 mm root diameter had higher tanshinone IIA content. The rotation practice had advantages than continuous cropping in the root yield and active ingredients in *S.*

*miltiorrhiza*. To compare the effective annual and biennial in yield and active ingredients content test results, annual and biennial plants had little difference in yield and active ingredient content, however the root appearance with better quality were found in annual plants. Therefore, the eleven to twelve months stage is the suitable time for root harvest; therefore it can be the reference for the farmers engaged in field cultivation and harvest of *S. miltiorrhiza*.

Key words :

*Salvia miltiorrhiza*, yield, quality, active ingredient, salvianolic acid B, tanshinone IIA

## 前言



丹參 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 為唇形科 (Lamiaceae) 鼠尾草屬 (*Salvia*) 多年生草本植物，使用部位為根部，為一傳統之中藥材，『神農本草經』列為上品生藥，廣泛用於婦女月經失調、失眠、關節炎及心血管、血液類等之疾病，『本草綱目』有「一味丹參功同四物湯」之記載 (陸和黎, 1993)。現代之研究顯示其對於抗腫瘤、抗菌、冠心病、特別是心血管方面如心絞痛、和心肌梗塞有良好的治療功用 (Gu *et al.*, 2007)。丹參具有很強的抗氧化能力，在預防心血管疾病上有很大的助益 (Weng and Gordon, 1992; Zhao *et al.*, 1996)，其有效活性成分主要分為水溶性與脂溶性化合物，水溶性化合物主要為酚類化合物，如丹參酚酸 B (salvianolic acid B) 等；脂溶性化合物主要為丹參酮類 (tanshinones)，包括隱丹參酮 (cryptotanshinone)、丹參酮 I、丹參酮 II 及丹參酮 II A 等成分 (Liu *et al.*, 2007)。丹參酮 IIA 具有促進血液循環之功效 (Gu *et al.*, 2004)；丹參酚酸 B 具有清除自由基與保護局部缺血對心臟與腦部之傷害 (Gu *et al.*, 2007)。

中國的鼠尾草屬 (*Salvia*) 植物種類約有 100 種，其中有 30 種作為傳統中藥材使用 (Liu *et al.*, 2007)。在中國早期藥材來源多為野生，今則以栽培為主，以四川產量最大，故市售品稱為川丹參，其它的重要產區為河南、陝西、河北等地區。市售常見的丹參種類有南丹參 (*S. bowleyana* Dunn)、擬丹參 (皖鄂丹參) (*S. paramiltiorrhiza* H. W. Li et X. L. Huang)、滇丹參 (雲南丹參) (*S. yunnanensis* C. H. Wright)、白花丹參 (*S. miltiorrhiza* Bunge var. *miltiorrhiza* f. *alba* C. Y. Wu et H. W. Li) 等種類，在臺灣及中國藥典中僅收載丹參 (*S. miltiorrhiza* Bunge) 為正確的丹參基原植物。

丹參性喜溫暖濕潤的環境，溫度在 20 – 25 °C 適合丹參的生長。丹參的適應性很廣，在一般平地大都可以種植，種植環境以平坦、通風良好之地點為佳，土壤 pH 值在 6 - 7.5 之間皆可種植，並以排水良好、富含有機質的砂質壤土為宜。丹參可利用種子與根部扦插繁殖。丹參的根系較長，入土較深，種植宜用作畦栽培，以利根系生長，並有助於丹參根部產量。整地方式宜深耕並細碎土壤再作畦，畦高約 30 公分。在生育期間要注意水分管理，於夏季炎熱乾旱的環境，作物易遭受旱害，因此在生長期間要注意水分供應，避免乾旱影響作物生育。

丹參在中國的主要生產地，如四川、河南、陝西、河北等地區，在不同栽培地區、肥料施用量、種植方式、栽培時期、收穫時期、連作或輪作栽培制度、病蟲害等

因素，各產區之間的產量與品質有極大的差異。臺灣目前種植的丹參為 *S. miltiorrhiza*，為正品丹參，主要栽培地區為花蓮地區，目前推廣面積為 20 公頃，所栽培的丹參根部品質與產量，在不同地區亦有良莠不齊的現象，同樣受不同栽培地區、肥料施用量、種植方式、栽培時期、收穫時期、連作或輪作不同栽培制度、病蟲害等因素影響，因此極需因地制宜，建立適合臺灣栽培丹參的優良農業操作，解決栽培管理所面臨的問題，生產根部產量高、有效成分含量高以及安全的丹參藥材，提供給消費者、中醫藥業者以及藥廠等相關業者所利用，促進臺灣丹參產業之發展，提升丹參的產品競爭力。

根據世界衛生組織 (World Health Organization) 的統計，心血管疾病位居全球主要死亡原因第一位，而根據衛生署統計，臺灣 2008 年的十大死因中心血管疾病位居第二名，由此看來心血管疾病已成為全球重大死因之一。根據 2005 年臺灣地區食品消費調查統計年鑑資料，國人對疾病的關切程度亦以心血管疾病為首，美國心臟協會亦指出健康的飲食和生活習慣，確實可在心血管疾病預防上扮演重要角色，由此可見心血管類的保健食品在市場上具有極大的發展潛力。在美國的心血管保健食品部份，依據 2006 年美國心臟協會統計，美國有高達 7,130 萬成人具有一種或多種類型的心血管疾病，其中年齡層在 65 歲以上的人口更高達 2,740 萬人。一般心血管疾病患者大多服用藥物，根據 Nutrition Business Journal 調查，2005 年美國心血管用藥市場即高達 360 億美元，而預防心血管疾病的保健市場規模為 35 億美元(膠囊與錠狀類約有 10 億美元，食品型態者約 25 億美元)，保健市場的規模雖不及用藥市場的十分之一，但近年來使用保健食品的人口逐年增加，市場產值逐漸擴大。在日本市場方面，根據日本厚生勞動省資料，截至 2005 年底為止，與心血管疾病相關的特定用途保健食品(包括膽固醇 86 項、中性脂肪酸與體脂肪 31 項)，共核准 119 項，投入廠商數約 50 家，預期銷售總額可達 1,108.7 億日圓。根據厚生省調查統計，2000 年日本心血管疾病患者人數已達 2,200 萬人，隨著飲食西化、高齡族群人數增加，預期心血管疾病患者將會向上攀升，由於老年化社會是未來社會發展的趨勢，而老化所衍生出的疾病又以心血管疾病與腦中風影響最大，無論從預防或治療的觀點來看，積極開發心血管保健食品與藥物的重要性都將與日俱增。國內外研究發現，丹參對心血管疾病方面具有很好的保健功效，故在保健用食材與機能性保健產品上，是臺灣具有發展潛力的中草藥之一。

本研究目的為建立丹參之優良農業操作體系，瞭解丹參在不同栽培地區的產量與有效成分含量之表現。比較市售進口丹參與花蓮地區生產的丹參在有效成分含量上之

優劣。探討丹參的最適種植時期、不同生育階段的產量與有效成分含量變化，並建議最適收穫時期。探討一年生與二年生丹參的根部產量與有效成分含量之差異。建議有機質肥料施用量與作物栽培密度，並對丹參的耕作制度進行試驗，以瞭解連作對丹參的影響，利用各項栽培試驗，解決丹參品質與產量不均之問題，作為農民實施丹參優良農業操作之參考。

## 材料與方法



### 一、栽培地區對丹參產量、有效成分含量之影響

- (一) 供試作物：丹參 (*S. miltiorrhiza*)。
- (二) 試驗設計：行長 20 m，行株距 1.0 × 0.5 m，6 行區。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場、花蓮縣壽豐鄉、花蓮縣玉里鎮、花蓮縣富里鄉、宜蘭縣三星鄉等地區。
- (四) 調查項目：每一試區取樣調查植株 30 株，調查植株之株高、全株重、根部重量、根長、根徑等農藝性狀，有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 及抗氧化能力分析等。

### 二、花蓮地區種植之丹參與市售進口丹參有效成分含量之比較

- (一) 丹參樣品：於 2009 年分別取樣花蓮縣 4 鄉鎮地區種植之丹參 (*S. miltiorrhiza*) 及購自花蓮縣吉安鄉及花蓮縣花蓮市 2 家中藥行之市售丹參 (*S. miltiorrhiza*) 進行含量檢測比較。
- (二) 調查項目：有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量之檢測分析等。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

### 三、生育時期對丹參農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 試驗處理：丹參於 2010 年 10 月份種植於本場試驗田，丹參種植後 8 個月起於 8、9、10、11、12 月等不同生育期取樣丹參植株進行調查。田間採作畦栽培之方式，每畦 1 行，行株距為 1.0 × 0.5 m。
- (二) 調查項目：每次取樣調查丹參 20 株，調查其株高、全株鮮重、根鮮重、根徑等農藝性狀、抗氧化能力分析及丹參酮 IIA、丹參酚酸 B 等有效成分含量分析。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場

### 四、種植時期對丹參農藝性狀及有效成分含量之影響

- (一) 試驗處理：分為 3 月（春作）、10 月（秋作）等二個種植期處理。
- (二) 田間試驗設計：順序排列，行長 40 m，6 行植，行株距 1.0 × 0.5 m。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。



- (四) 調查項目：取樣調查丹參 20 株，調查植株之株高、全株重、根部重量、根長、根徑等農藝性狀，抗氧化能力、丹參酮 IIA、丹參酚酸 B 等有效成分含量之分析等。



#### 五、有機質肥料施用量對丹參產量與品質之影響

(一) 有機質肥料：

1. 以  $N : P_2O_5 : K_2O = 2.6 : 2.5 : 1.8$  之腐熟有機質堆肥。

2. 有機液肥：以大豆粕、米糠、海草粉等資材製備之醱酵液肥。

3. 有機質肥料處理：每公頃施用 A：4,000 kg 堆肥、B：8,000 kg 堆肥、C：12,000 kg 堆肥、D：16,000 kg 堆肥、E：4,000 kg 堆肥 + 採收前 3 個月在葉面噴施有機液肥、及 F：對照組（不施肥）等 6 處理。

(二) 試驗方法：三重複，行長 6 m，3 行植，小區面積  $18 \text{ m}^2$ ，行株距  $1.0 \times 0.5 \text{ m}$ 。

(三) 調查項目：於 10 月份種植，隔年 9 月取樣調查，每重複取樣 10 株，調查株高、全株鮮重、鮮根重、根長、根徑等農藝性狀，病蟲害發生、抗氧化能力、乾燥根部有效成分丹參酮 IIA 及丹參酚酸 B 含量檢測等。

(四) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

#### 六、種植方式對丹參產量與品質之影響

(一) 試驗處理：分為種子直播與育苗方式移植等 2 種處理。

(二) 有機質肥料施用：以  $N : P_2O_5 : K_2O = 5.5 : 2.5 : 2.5$  之粒狀有機質肥料，每公頃施用 6,000 kg。

(三) 試驗方法：四重複，RCBD，行長 18 m，小區面積  $18 \text{ m}^2$ ，行株距  $1.0 \times 0.5 \text{ m}$ 。

(四) 調查項目：於 10 月份種植，隔年 9 月取樣調查，每重複取樣 10 株，調查株高、全株鮮重、鮮根重根長、根徑等農藝性狀，病蟲害發生及有效成分丹參酮 IIA 及丹參酚酸 B 含量檢測等。

(五) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

#### 七、栽培密度對丹參產量與品質之影響

(一) 試驗處理：行距為 1.0 m，株距分為 30、45、60 cm 等 3 個處理。RCBD，三重複。小區面積  $15 \text{ m}^2$ 。

(二) 調查項目：於 10 月份種植，隔年 9 月調查，每重複取樣 10 株進行調查，調查株高、全株鮮重、鮮根重、根徑及丹參酮 IIA 及丹參酚酸 B 含量及抗氧化能力分析等。

(三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場



#### 八、蝦蟹殼粉施用量對丹參產量與品質之影響

(一) 試驗處理：以蝦蟹殼粉每公頃施用 250 公斤、500 公斤、750 公斤及不施用（對照組）等 4 處理。

(二) 試驗方法：三重複，行長 9 公尺，3 行植，小區面積 18 平方公尺，行距 1.0 公尺，株距 0.5 公尺。

(三) 調查項目：於 10 月份種植，隔年 9 月調查，每重複取樣 10 株進行調查，調查株高、全株鮮重、鮮根重、根長、根徑等農藝性狀，根部線蟲為害率及有效成分含量丹參酮 IIA 及丹參酚酸檢測等。

(四) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

#### 九、丹參不同部位有效成分含量之比較

(一) 丹參不同部位樣品：10 月份種植，隔年 9 月收穫的丹參植株 5 株，進行丹參之地上部莖葉、蘆頭、根部等不同部位，進行有效成分含量之比較，丹參植體以 40°C 烘箱烘乾後進行有效成分含量之檢測分析試驗。

(二) 調查項目：有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力分析等。

(三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

#### 十、丹參不同根徑大小之有效成分含量之比較

(一) 丹參不同根徑大小樣品：10 月份種植，隔年 9 月收穫的丹參植株 10 株，依根部植徑大小分為根毛、直徑 0.5 mm、5 mm、10 mm 及 20 mm 以上等不同直徑大小，植體以 40°C 烘箱烘乾後進行有效成分成分含量之檢測。

(二) 調查項目：有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力分析等。

(三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場。

### 十一、耕作制度對丹參有效成分含量之影響

- (一) 試驗處理：丹參以連作及輪作二種處理，連作處理者以同一試驗田連續種植丹參二年、三年，輪作處理者以同一試驗田前一作種植當歸、枸杞等作物進行試驗，田間採作畦栽培之方式，每畦 1 行，行株距為 1.0 m × 0.5 m，六行植。
- (二) 調查項目：10 月份種植，隔年 9 月收穫，取樣調查丹參植株 30 株，調查株高、全株鮮重、根鮮重、根徑等農藝性狀、抗氧化能力分析及丹參酮 IIA、丹參酚酸 B 等有效成分含量分析。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場

### 十二、一年生與二年生丹參之產量與有效成分含量之比較

- (一) 試驗處理：10 月份種植，種植後 12 個月及 24 個月分別收穫丹參植株進行農藝性狀調查。田間種植採作畦栽培之方式，每畦種植 1 行，行株距為 1.0 m × 0.5 m。
- (二) 調查項目：取樣調查丹參植株 30 株，調查株高、全株鮮重、根鮮重、根徑等農藝性狀、抗氧化能力分析及丹參酮 IIA、丹參酚酸 B 等有效成分含量分析。
- (三) 試驗地點：花蓮縣吉安鄉本場

### 十三、抗氧化能力分析

#### (一) 樣品處理：

供試樣品丹參 (*S. miltiorrhiza*) 根部以 40°C 熱風乾燥烘乾 48 小時，再以粉碎機磨成粉末備用。精確稱量粉末狀樣品 1.0 g，加入 10 ml methanol，以 37°C 水浴浸泡方式過夜，振盪機搖勻 30 min 後過濾，以此溶液為試驗樣品溶液。

#### (二) 抗氧化能力測定：

抗氧化能力分析參考 Shimada *et al.* (1992) 之 DPPH 測定方法。在試管中加入 150  $\mu$ l 的樣品溶液，再加 methanol 定量至 4 ml，混勻後加入 1 mM 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) methanol 溶液 1 ml，再次混合均勻，在 37°C 水浴中反應 30 min。反應完成後以分光光度比色計測定其 517 nm 之吸光值，分光光度比色計廠牌為 GBC；型號為 Cintra 202。同法以 4 ml methanol 加 1 mM DPPH methanol 溶液 1 ml 測定 30 min 後的吸光值，作為空白值。DPPH 抗

氧化能力之計算方式為：【1-（樣品吸光值/未加樣品之控制組吸光值）】  
×100%，即得自由基清除百分率。



#### 十四、丹參之指標性成分分析

##### （一）樣品處理：

丹參 (*S. miltiorrhiza*) 根部以烘箱 40°C 熱風乾燥烘乾 48 小時，再以粉碎機磨成粉末備用。

##### （二）樣品溶液製備：

取丹參樣品粉末 1 g，加入 10 ml methanol，以 37°C 萃取 24 小時，再以 0.2 μm 濾膜過濾備用。

##### （三）樣品分析：

分析丹參之有效成分丹參酚酸 B (圖 3-1a)、丹參酮 IIA (圖 3-1b) 之分析儀器為高效液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography; HPLC)，HPLC 型號為 Waters 2695，光電二極體偵測器 (Photodiode Array Detector) 型號為：Waters 2998。分析管柱採 HypURITY C18 (250×4.6 mm)，檢測波長為 254 nm，樣品注射量為 10 μl。採用梯度模式分析，沖提溶液分為：A：Acetonitrile；B：1% Acetic acid 水溶液；C：Methanol，起始時間 A 25%，B 75%；15 min 時 A 25%，B 75%；20 min 時 B 100%；25 min 時 B 100%，分別對不同溶液梯度濃度轉換；26 min 時 C 100%維持至 30 min，流洗管柱中殘餘的化合物；31 min 時換回起始條件 A 25%，B 75%。丹參標準品丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 購至台灣默克股份有限公司 (Merck Ltd., Taiwan)。

#### 十五、丹參植株形態照片

丹參 (*S. miltiorrhiza*) 植株的各部形態 (圖 3-3)。

## 結果與討論



### 一、栽培地區對丹參產量、有效成分含量之影響

#### (一) 不同栽培地區丹參產量之比較

2011 年在花蓮縣及宜蘭縣等 5 個不同鄉鎮地區進行試驗，農藝性狀調查結果如表 3-1 顯示：丹參單株平均重量以富里地區的 1213 g 最高，其次依序為壽豐地區的 1,132 g、三星地區的 1,066 g、吉安地區的 1,063 g、玉里地區的 1,028 g 最低。單株平均株高以富里地區的 105 cm 最高，其次依序為三星地區的 89 cm、玉里地區的 81 cm、壽豐地區的 79 cm、吉安地區的 75 cm 為最低。單株平均根重以玉里地區的 585 g 最高，富里地區的 535 g 次之，其他依序為吉安地區的 523 g，三星地區的 512 g，以壽豐地區的 496 g 最低。根徑以富里地區的 24 mm 最大，三星地區的 21 mm 最小，但各地區之差異性不大。本年度之試驗結果顯示，單株平均根重幾乎均達 500 g，根部產量高。

#### (二) 不同栽培地區丹參有效成分含量之比較

於花蓮縣及宜蘭縣等 5 個不同鄉鎮地區進行試驗，有效成分含量之分析結果如表 3-2 顯示：丹參酚酸 B 以玉里地區  $48.3 \text{ mg g}^{-1}$  最高，其次依序為富里地區  $45.4 \text{ mg g}^{-1}$ 、壽豐及三星地區  $41.2 \text{ mg g}^{-1}$ 、吉安地區  $36.4 \text{ mg g}^{-1}$  最低。丹參酮 IIA 含量則以富里地區  $4.1 \text{ mg g}^{-1}$  最高，其次為吉安地區  $3.6 \text{ mg g}^{-1}$ ，三星地區  $3.5 \text{ mg g}^{-1}$ ，壽豐地區及玉里地區皆為  $3.4 \text{ mg g}^{-1}$  (表 3-2)。丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 的含量在花蓮及宜蘭地區之試驗結果顯示，成分含量均達標準值以上，品質優良。

### 二、花蓮地區種植之丹參與市售進口丹參有效成分之比較

於 2009 年分別取樣花蓮縣 4 鄉鎮地區種植之丹參 (*S. miltiorrhiza*) 及購自花蓮縣吉安鄉、花蓮縣花蓮市 2 家中藥行之市售進口丹參 (*S. miltiorrhiza*)，進行有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量之比較，試驗分析結果顯示花蓮地區生產之丹參酚酸 B 含量為  $33.2 - 41.7 \text{ mg g}^{-1}$ ，市售之丹參酚酸 B 的含量分別為  $4.9 \text{ mg g}^{-1}$  及  $13.1 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-4-A)。花蓮地區栽培生產的丹參有效成分丹參酮 IIA 含量為  $5.4 - 7.8 \text{ mg g}^{-1}$ ，市售進口者之丹參酮 IIA 含量分別為  $0.25 \text{ mg g}^{-1}$  及  $0.31 \text{ mg g}^{-1}$

$\text{g}^{-1}$  (圖 3-4-B)。花蓮地區生產之丹參有效成分含量較高於市售進口者，品質較佳。



### 三、生育時期對丹參農藝性狀及有效成分含量之影響

#### (一) 丹參不同生育時期農藝性狀之比較

為瞭解丹參在不同生育階段的農藝性狀變化情形，並作為丹參收穫參考之依據，依丹參不同生育期進行取樣調查農藝性狀及有效成分含量之變化情形。試驗調查結果顯示：丹參的平均株高在種植後 8 個月為 70 cm，隨著生育期增加而逐漸增高，至 11 個月後之株高達到最高 111 cm；全株重則以種植 9 個月後的 1249 g 最重，種植後 12 個月最輕；單株平均根重在種植後 8 個月為 373 g，隨著生長期增加而逐漸增加，至 11 個月後之單株平均根重達 685 g 最高，至生育末期 12 個月之單株平均根重為 585 g；根長以種植後之 11 及 12 個月的 41 cm 最長；根徑則以種植後 12 個月 24 mm 最大，種植後 11 個月 23 mm 次之，種植後 9 個月 19 mm 最小 (表 3-3)。

#### (二) 丹參不同生育期有效成分含量之比較

不同生育期對丹參品質之比較試驗，丹參有效成分丹參酚酸 B 之含量分析結果以生育期 12 個月者為  $48.2 \text{ mg g}^{-1}$  含量最高，生育期 9 個月的含量為  $43.3 \text{ mg g}^{-1}$ ，生育期 8 個月的含量為  $43.2 \text{ mg g}^{-1}$ ，生育期 10 個月的含量為  $40.6 \text{ mg g}^{-1}$ ，生育期 11 個月的含量為  $35.2 \text{ mg g}^{-1}$  為最低 (圖 3-5-A)。丹參之有效成分丹參酮 IIA 則以生育期 9 個月  $4.4 \text{ mg g}^{-1}$  最高，12 個月的  $4.2 \text{ mg g}^{-1}$  次之，生育期 11 個月的含量為  $3.8 \text{ mg g}^{-1}$ ，生育期 10 個月的含量  $2.4 \text{ mg g}^{-1}$  為最低 (圖 3-5-B)。不同生育期之丹參之抗氧化能力分析結果顯示，在不同生育期均有很高的抗氧化能力，在 89-90% 之間，不同生育期間無顯著性之差異 (圖 3-5-C)。

本試驗結果顯示丹參的株高在種植後 8 個月為 70 cm，隨著生長期增加而逐漸增高，至 11 個月後之株高達到 111 cm 為最高；全株重則以種植 9 個月後的 1249 g 為最重，種植後 12 個月為最輕，與丹參植株老化而導致植株地上部莖葉掉落有關；單株平均根重在種植後 8 個月為 373 g，隨著生長期增加而逐漸增加，至 11 個月後之單株平均根重達 685 g 最高，生育期 12 月之單株平均根重為

585 g，有減少之趨勢，此也與丹參根部逐漸老化、根產量降低有關。丹參之根長在種植後 11 及 12 個月的 41 cm 為最長，此時期為根部產量最佳之時期；根徑則在種植後 12 個月為最大，但各生育階段根徑大小變化不大。丹參之有效成分丹參酚酸 B 含量變化為 35.2 - 48.2 mg g<sup>-1</sup>，以生育期 12 個月的含量最高；丹參之有效成分丹參酮 IIA 含量為 2.4 - 4.4 mg g<sup>-1</sup>，以生育期 9 個月為最高，12 個月含量次之，10 個月含量最低，而除了種植 10 個月後之含量為最低之外，其餘種植時期並無明顯差異。

作物在不同生育階段其代謝產物含量不同。張 (2011) 探討花蓮地區種植之當歸其產量與品質隨不同生育期而有變化，試驗結果顯示當歸之株高、根重及有效成分含量，在生育日數 205 天時，當歸之株高、全株重、根重及根徑等農藝性狀表現最佳；有效成分阿魏酸含量亦在生育日數 205 天時達到最高，為當歸根部之最適收穫期。而丹參之有效成分含量在生長期間有較不規則之變化情形，推測原因可能受環境因子變化之影響，使有效成分的累積有差異，此有待後續之研究進行更深入之探討。

藥用植物在許多國家一直以來對人體健康扮演重要的角色，其中原因可能與藥用植物中所含的天然抗氧化物質的生物活性有關(Zhao *et al.*, 2006)。藥用植物中所含有之抗氧化物質如酚類化合物具氧化還原特性抑制自由基之形成(Zhao *et al.*, 2006)、調節免疫力，預防自由基造成之相關疾病等(Yu *et al.*, 2002)。丹參的功效取決於根部所含的有效成分含量，Wang *et al.* (2013)分析中國河南省方城的丹參(*S. miltiorrhiza*)，在丹參不同的生長期，其丹參酮 IIA 和 cryptotanshinone 含量有顯著的差異，故了解其生育階段的成分變化，可決定最適的收穫期，以生產最佳品質之藥材。學者之研究顯示丹參萃取物具有很強的抗氧化能力，可清除自由基，此抗氧化能力之特性可能與預防及治療心血管疾病有關(Zhao *et al.*, 2006)。本研究顯示，丹參在不同的生育期均有很高的抗氧化能力，其抗氧化能力在 89-90%之間，在不同生育期間並無明顯的差異，顯示丹參的根部具有很好的抗氧化效果，此可說明丹參多用於心血管疾病之預防與保健等用途。

#### 四、種植時期對丹參農藝性狀及有效成分含量之影響

##### (一) 丹參不同種植時期農藝性狀之比較

為瞭解丹參不同種植時期的產量變化與最適合的種植時期，以 3 月（春作）及 10 月（秋作）進行不同時期之比較試驗，試驗以丹參種植後 11 個月進行收穫調查，試驗結果顯示在株高及全株重的表現上以 3 月種植者較高；根長、根重及根徑大小等與根部產量有關的農藝性狀表現則以 10 月種植時期者表現較佳，在平均根重的比較試驗以 10 月種植者為 585 g，3 月種植者為 506 g，以 10 月種植者較高（表 3-4）。由此試驗結果顯示，丹參在 10 月份種植有較高之產量。

## （二）丹參不同種植時有效成分含量之比較

為瞭解不同種植時期對丹參有效成分含量之影響，以 3 月（春作）及 10 月（秋作）進行不同種植時期之比較試驗，結果顯示 10 月份種植的丹參酚酸 B 含量為 43.3 mg g<sup>-1</sup> 較高於 3 月份種植之 39.3 mg g<sup>-1</sup>（圖 3-6-A）。丹參酮 IIA 含量亦以 10 月份種植的 4.3 mg g<sup>-1</sup> 較高於 3 月種植之 2.4 mg g<sup>-1</sup>（圖 3-6-B）。

綜合試驗結果，丹參的平均根重與有效成分含量，在 10 月份種植者雖較 3 月份者為高，但二者的差異不大，但 10 月份仍是丹參最適合的種植時期。與當歸比較，當歸在 3 月份與 10 月份種植，其產量會有較大的差異，此為這二種作物在適合生長時期上之差別。

## 五、有機質肥料施用量對丹參產量與品質之影響

### （一）丹參不同有機質肥料施用量的產量比較

利用不同有機質肥料施用量進行丹參產量試驗，試驗結果顯示：丹參單株平均重量以 16,000 kg ha<sup>-1</sup> 施肥量的 1346 g 最高，以 12,000 kg ha<sup>-1</sup> 施肥量的 1222 g 最低；單株平均根重以 16,000 kg ha<sup>-1</sup> 施肥量的 569 g 為最高，12,000 kg ha<sup>-1</sup> 施肥量的 533 g 次之，4,000 kg ha<sup>-1</sup> 施肥量的 461 g 為最低，處理之間有顯著性差異；全株重、株高、根長及根徑等農藝性狀在各個處理之間則無顯著性差異（表 3-5）。

### （二）丹參不同有機質肥料施用量的有效成分含量比較

有機質肥料施用量對丹參有效成分的影響，試驗結果以 12,000 kg ha<sup>-1</sup> 施用量可得到最高的丹參酚酸 B 含量 33.5 mg g<sup>-1</sup>，以 4,000 kg ha<sup>-1</sup> 施用量得到最低



含量  $30.5 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-7-A)。在丹參酮 IIA 含量，以  $12,000 \text{ kg ha}^{-1}$  施用量可得到最高含量  $3.9 \text{ mg g}^{-1}$ ，以  $8,000 \text{ kg ha}^{-1}$  施用量可得到最低含量  $3.3 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-7-B)。有機質肥料施用量對丹參的抗氧化能力影響，試驗結果以  $16,000 \text{ kg ha}^{-1}$  施用量得到抗氧化能力 82% 為最高，以  $8,000 \text{ kg ha}^{-1}$  施用量為 79% 為最低，但各處理之間差異不顯著 (圖 3-7-C)。

本試驗之結果顯示以施用  $16,000 \text{ kg ha}^{-1}$  的有機質肥料對丹參根部的產量最高，但與施用  $12,000 \text{ kg ha}^{-1}$  的有機質肥料處理之間無差異；施用  $12,000 \text{ kg ha}^{-1}$  的有機質肥料對丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量最高，因此施用量在  $12,000 \text{ kg ha}^{-1}$  即可，本試驗肥料的比例為  $\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}=2.6:2.5:1.8$ ，與當歸有機質肥料使用的比例  $\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}=5.5:2.5:2.5$  不同。本試驗在收穫前於地上部施用有機液肥，雖可增加地上部莖葉重量，但對增加根部之產量並無顯著之效果。

## 六、種植方式對丹參產量與品質之影響

為瞭解不同種植方式對丹參產量與品質之影響，以直播與移植等二種不同種植方式進行試驗，試驗結果顯示：單株平均根重以移植種植方式的  $541 \text{ g}$  較高於採種子直播方式的  $469 \text{ g}$ ；根徑方面亦以移植方式較高；丹參之株高、根長、全株重及根徑在直播與移植二種方式上並無顯著性差異 (表 3-6)。

在有效成分含量比較，以移植方式種植者其丹參酚酸 B 含量為  $36.4 \text{ mg g}^{-1}$ ，較高於直播者之  $33.5 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-8-A)；丹參酮 IIA 含量亦以移植種植者  $3.4 \text{ mg g}^{-1}$ ，較高於直播之  $3.2 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-8-B)。抗氧化能力亦以移植方式之 81%，較高於直播栽培之 75%，二處理之間並無顯著性差異 (圖 3-8-C)。

綜合試驗結果顯示：丹參育苗後再移植田間定植，其根部產量、根徑大小及有效成分上皆比種子直播者為高，但處理之間的差異不顯著，因此丹參的種植方式選擇，以種子直播田間或育苗後再種植皆可。

## 七、栽培密度對丹參產量與有效成分含量之影響

### (一) 丹參不同栽培密度的產量比較

為選擇適合之行株距，以 4 種不同栽培密度處理進行試驗，試驗調查結果顯示：株高以行株距 100 × 60 cm 之 81 cm 為最高，行株距 100 × 50 cm 之 80 cm 次之，行株距 100 × 40 cm 為 74 cm，行株距 100 × 30 cm 之 75 cm。全株重以行株距 100 × 60 cm 之 1144 g 最高，行株距 100 × 50 cm 之 1003 g 次之，行株距 100 × 40 cm 為 989 g，行株距 100 × 30 cm 之 912 g 最低。根長以行株距 100 × 60 cm 之 35 cm 最長，行株距 100 × 50 cm 之 34 cm 次之，行株距 100 × 40 cm 為 32 cm，行株距 100 × 30 cm 之 32 cm。根重以行株距 100 × 60 cm 之 517.5 g 最高，行株距 100 × 50 cm 之 512.8 g 次之，行株距 100 × 40 cm 為 445.5 g，行株距 100 × 30 cm 之 436.3 g 最低，但行株距 100 × 60 cm 與 100 × 50 cm，則無顯著性差異。根直徑以行株距 100 × 60 cm 之 22.3 mm 最大，行株距 100 × 50 cm 之 19.5 mm 次之，行株距 100 × 40 cm 為 19 mm，行株距 100 × 30 cm 之 17.8 mm 最小，行株距 100 × 60 cm 的處理與其他三處理間有顯著性差異（表 3-7）。

## （二）丹參不同栽培密度有效成分含量之比較

丹參不同栽培密度對有效成分含量之比較試驗，試驗調查分析結果：丹參酚酸 B 含量以行株距 100 × 60 cm 之 34.4 mg g<sup>-1</sup> 最高，100 × 50 公分之 33.9 mg g<sup>-1</sup> 次之，100 × 30 cm 為 31.9 mg g<sup>-1</sup>，100 × 40 公分之 30.9 mg g<sup>-1</sup> 最低，四個處理間無顯著性之差異。丹參酮 IIA 含量亦以 100 × 60 cm 之 3.9 mg g<sup>-1</sup> 最高，100 × 50 cm 及 100 × 40 cm 處理皆為 3.8 mg g<sup>-1</sup>，100 × 30 cm 之 3.3 mg g<sup>-1</sup> 最低，100 × 30 cm 與其它 3 處理間有顯著性之差異（表 3-8）。

## 八、蝦蟹殼粉施用量對丹參產量與有效成分含量之影響

### （一）不同蝦蟹殼粉施用量對丹參產量之比較

不同的蝦蟹殼粉施用量對丹參產量之試驗，結果顯示：丹參單株平均重量以施用 750 kg ha<sup>-1</sup> 蝦蟹殼粉者為 1281 g 最高。單株平均根重也以施用 750 kg ha<sup>-1</sup> 蝦蟹殼粉者為 558 g 最高（表 3-9）。

土壤中若常含有豐富有機質時，土中的微生物會大量繁殖，則能限制線蟲繁殖而降低族群密度。土壤中施用有機添加物如蓖麻粕、蝦蟹殼、糠麩、骨粉及泥炭等，有助於改良土壤的理化性，其中以蝦蟹殼粉最被廣泛採用，蝦蟹殼

粉可增加土壤中具分解幾丁質特性的放射菌，降低線蟲卵的孵化，達到防治作物根瘤線蟲的效果。本試驗以不同之蝦蟹殼粉施用量對丹參根部線蟲之為害情形調查，試驗結果顯示丹參根部皆無線蟲危害情形發生，故施用蝦蟹殼粉可有效防治線蟲為害。

## (二) 不同蝦蟹殼粉施用量對丹參有效成分含量之影響

利用不同之蝦蟹殼粉施用量對丹參之有效成分含量影響進行試驗，試驗結果顯示：丹參酚酸 B 含量以施用  $750 \text{ kg ha}^{-1}$  蝦蟹殼粉者為  $34.9 \text{ mg g}^{-1}$  最高，以施用  $500 \text{ kg ha}^{-1}$  蝦蟹殼粉者為  $29.2 \text{ mg g}^{-1}$  最低（圖 3-9-A）。丹參酮 IIA 含量以施用  $250 \text{ kg ha}^{-1}$  蝦蟹殼粉者為  $2.6 \text{ mg g}^{-1}$  為最高，其他 3 種施用量之間均為  $2.4 \text{ mg g}^{-1}$ （圖 3-9-B）。抗氧化能力分析結果，以不施用蝦蟹殼粉者為 87%，較高於其他施用蝦蟹殼粉之處理（圖 3-9-C）。

綜合分析結果顯示，丹參施用蝦蟹殼粉後根部無線蟲之為害情形，故施用蝦蟹殼粉可有效防治線蟲為害。另外施用蝦蟹殼粉對於丹參之產量與有效成分含量則無提高之效果，未來可進一步試驗瞭解蝦蟹殼粉對丹參產量與品質之影響。

## 九、丹參不同部位有效成分含量之比較

為瞭解丹參植株不同部位的有效成分含量，選取植株之地上部莖葉、蘆頭及根部等不同部位，進行有效成分丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量之比較，試驗分析的結果顯示：丹參酚酸 B 含量在丹參地上部莖葉的含量為  $9.5 \text{ mg g}^{-1}$ ，蘆頭部位含量為  $27.0 \text{ mg g}^{-1}$ ，根部為  $41.2 \text{ mg g}^{-1}$ （圖 3-10-A）。丹參酮 IIA 含量在丹參地上部的莖葉中未檢出，蘆頭部位含量為  $9.6 \text{ mg g}^{-1}$ ，根部為  $10.3 \text{ mg g}^{-1}$ （圖 3-10-B）。丹參的利用部位主要為根部，其他部位均無作為藥材使用，分析結果丹參根部含有較高的丹參酚酸 B 與丹參酮 IIA。丹參的蘆頭部位含有丹參酚酸 B 與丹參酮 IIA，但一般並不作為商品販賣，不具商品價值，屬於農產廢棄物，但由分析結果顯示，蘆頭部位仍有丹參酚酸 B 與丹參酮 IIA；而丹參的地上部莖葉僅含有丹參酚酸 B 成分，丹參酮 IIA 成分則無檢出。故丹參的蘆頭與地上部莖葉等農產廢棄物，若能萃取其有效成分並適當加工之後，可開發為具有附加價值之保健產品，避免資源浪費，提高作物資源之利用性。

## 十、丹參不同根徑大小之有效成分含量之比較

為進一步瞭解丹參根部根徑大小的有效成分含量，依根部直徑大小分為根毛、直徑 0.5 mm、5 mm、10 mm 及 20 mm 以上等不同大小進行有效成分檢測。分析結果丹參酚酸 B 含量在丹參不同根徑大小，根毛、直徑 0.5 mm、5 mm、10 mm 及 20 mm 以上，分別為  $18.2 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $18.2 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $30.6 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $28.1 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $31.7 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-11-A)。丹參酚酸 B 含量根毛及細根的含量較低，根徑在 5 mm 以上的含量較高，根徑大小與丹參酚酸 B 含量有關，根徑愈大丹參酚酸 B 含量較高。丹參酮 IIA 在丹參不同根徑大小，根毛、直徑 0.5 mm、5 mm、10 mm 及 20 mm 以上，分別為  $1.1 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $1.1 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $8.3 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $5.8 \text{ mg g}^{-1}$ 、 $1.6 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-11-B)。丹參酮 IIA 在根毛及細根的含量亦較低，根徑在 5 mm 的丹參酮 IIA 含量  $8.3 \text{ mg g}^{-1}$  最高、10 mm 的  $5.8 \text{ mg g}^{-1}$  次之，根徑在 20 mm 以上的丹參酮 IIA 含量僅為  $1.6 \text{ mg g}^{-1}$ ，根徑大小與丹參酮 IIA 含量無關。

綜合分析結果，丹參根徑 5-10 mm 的有效成分含量較高，尤其是丹參酮 IIA 成分。丹參酮 IIA 主要分佈在根的木栓層中，含量佔 1.94%，其餘部份含量為 0.01% (曲等，2005)。丹參酚酸 B 分佈於丹參全根，但在木栓層中的含量佔 5.56%，稍高於其他部位之 4.28% (曲等，2005)。根徑越大者，其根皮表面積比例相對較少，相對的其丹參酮 IIA 成分含量亦少，此可作為消費者選購丹參之參考。

## 十一、收穫期對丹參產量與品質之影響：

丹參在種植 12 個月及 24 個月等二種不同收穫期，分析其產量與有效成分含量，試驗結果顯示：平均單株根重以種植 12 個月之 580 g，比種植後 24 個月之 445 g 為高，根長亦以種植 12 個月之 47 cm 較長於 24 個月之 42 cm，根直徑則以種植 24 個月之 20 mm 較大於 12 個月之 17 mm (表 3-10)。有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化力，以種植 12 個月者較 24 個月者之品質為佳 (表 3-11)。種植 12 個月的丹參根部外觀品質較佳，而種植 24 個月者其外觀則有老化及龜裂之現象 (圖 3-12)。

丹參為多年生植物，種植一年後於冬季氣溫降低時，地上部葉片掉落有老化枯萎之現象，根部呈現休眠生長停滯之狀態，此時若不收穫根部，翌年春季時根部會再度重新萌芽生長，宿根生長之植株其根部產量與有效成分含量上會

有變化，影響農民栽培作物之收益，因此，丹參在種植後 12 個月（一年生）及 24 個月（二年生）此二種不同收穫期，針對一年生與二年生的產量與有效成分含量之比較，試驗調查與分析結果顯示：全株重、根重、根長等性狀皆在種植 12 個月時較高，僅根徑以種植 24 個月者較大。

有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力，種植 12 個月者較 24 個月者品質為佳。丹參雖屬多年生植物，依本次試驗結果，丹參種植 24 個月後的產量、有效成分含量及抗氧化力，均低於種植 12 個月者，且種植 24 個月後所收穫之丹參，經田間實際調查結果，其根部老化且外觀有龜裂現象，影響丹參根物品質，長期種植並未提升其產量與品質，因此，丹參在栽培 12 個月（一年生）即可收穫較佳的產量與品質。

## 十二、耕作制度對丹參有效成分含量之影響


丹參在同一試驗地區進行連作與輪作的栽培方式比較，分析其產量與有效成分含量。試驗結果顯示，丹參在同一栽培地連作 3 年，其根部產量為 189 g，而在同一栽培地與枸杞輪作者根部產量為 324 g，與當歸輪作者根部產量為 307 g。丹參在同一栽培地連作 3 年，其丹參酚酸 B 含量為  $41.5 \text{ mg g}^{-1}$ ，而在同一栽培地與作物輪作者，與枸杞輪作的丹參酚酸 B 含量為  $63.2 \text{ mg g}^{-1}$ ，與當歸輪作的丹參酚酸 B 含量為  $58.4 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-13-A)。丹參連作三年的丹參酮 IIA 含量為  $0.54 \text{ mg g}^{-1}$ ，與枸杞輪作的丹參酮 IIA 含量為  $2.8 \text{ mg g}^{-1}$ ，與當歸輪作的丹參酮 IIA 含量為  $2.3 \text{ mg g}^{-1}$  (圖 3-13-B)。

丹參在同一栽培地連作 3 年，其根部產量與有效成分皆比輪作之栽培方式為低。因此丹參不宜採連作之耕作方式，應與其他作物輪作為宜，且其根部易有腐爛的情形。本試驗的輪作作物分別為枸杞與當歸，依作物之特性而言，枸杞為小灌木，利用部位為葉片與果實，而當歸的利用部位為根部，此與丹參較類似，當前作物與丹參不同類型時，較不易影響其後作物之生長，因此與枸杞輪作時，丹參的根部產量與有效成分含量均較高。丹參之適應性較廣，在一般平地大都可以種植，其種植環境選擇平坦、通風良好之地點為佳，土壤以排水良好、富含有機質之砂質壤土為宜，並與作物輪作，避免因連作引起之病蟲害與土壤養分問題，影響丹參的生長與產量，因此未來應建構丹參的輪作體

系，以增進土地利用的親和性，降低病蟲害防治的生產成本，並可提高丹參的產量與品質。



## 結論



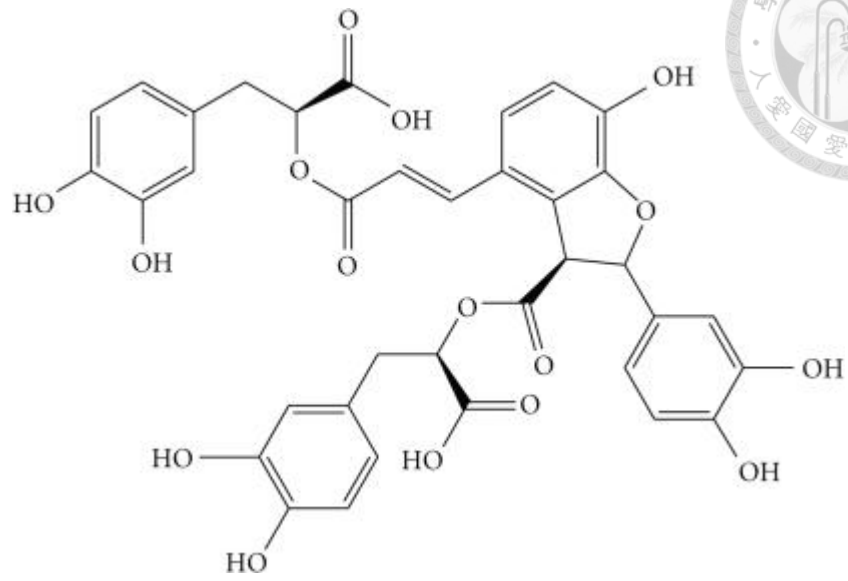
本試驗已建立丹參之優良農業操作栽培體系，可作為農民田間丹參栽培之參考。丹參在花蓮與宜蘭二縣均適合種植，花蓮地區生產之丹參有效成分丹參酚酸 B 與丹參酮 IIA 含量，均高於市售進口丹參，此顯示臺灣在地可生產出品質優良的丹參藥材，提供給消費者、中草藥相關業者等使用。丹參種植時期在 10 月與 3 月均適宜，但以 10 月份種植之丹參產量與有效成分較高；丹參在 10 月份種植，種植後 11-12 個月，也就是在翌年 9 - 10 月為丹參根部的最適收穫適期，此時期可獲得最高的產量與品質。栽培行株距 100 × 60 cm 與 100 × 50 cm 皆可，但換算其每公頃產量，以行株距 100 × 50 cm 者較高。丹參種植一年後在產量與有效成分含量上，均高於種植二年的丹參，亦即種植一年即可收穫。有機質肥料的施用量以 N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O=2.6:2.5:1.8 為例，施用 12,000 kg ha<sup>-1</sup>可達到高品質與產量。每公頃施用 750 公斤的蝦蟹殼粉可預防線蟲為害。丹參並不適合連作，宜選擇合適的輪作作物，例如玉米等收穫地上部之作物、或與水田輪作，可增加丹參的產量與有效成分含量。在不同地區種植的丹參在產量與品質上有些差異，未來仍可因地制宜，調整栽培、肥培管理技術，適地適作，生產品質與產量均佳的丹參。本研究中所採取的田間試驗，皆以有機的栽培管理方式，試驗成果可作為臺灣制定丹參 GAP 之參考，提供農民從事有機栽培與優良農業操作的依據，生產安全、優質的丹參藥材，並提供農民栽培新興作物之選擇，未來可作為活化休耕地的地方特產作物，提高農民的收益。

## 參考文獻

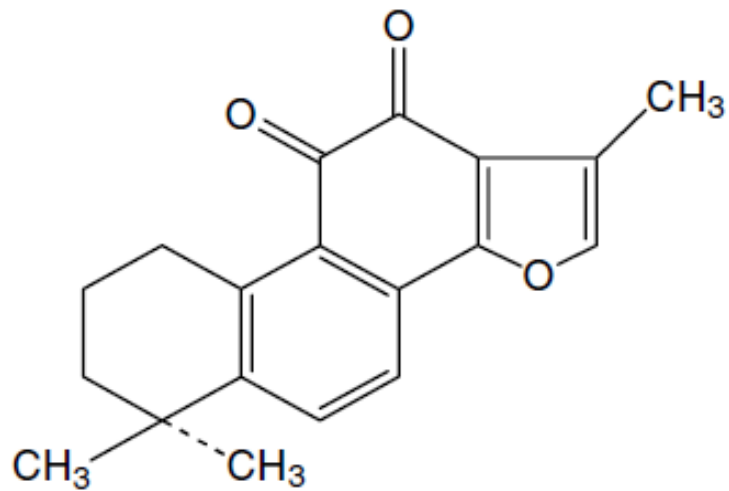


- 曲桂武、解飛霞、岳喜典、劉影、李桂生。2005。丹參酚酸 B 和丹參酮 IIA 在丹參根中的分布。中藥研究與信息 7:p.1-3。
- 張同吳。2011。不同栽培環境及生育日數對當歸產量與有效成分含量之影響。行政院農業委員會花蓮區農業改良場研究彙報 29: 25-40。
- 陸欽堯、黎明。1993。丹參 p.131-134。益壽中草藥。渡假出版社。
- Gu, M., F. Ouyang and Z. Su. 2004. Comparison of high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography on fingerprinting of Chinese traditional medicine. J. Chromatogr. A. 1002: 139-144.
- Gu, M., X. Wang, Z. Su and F. Ouyang. 2007. One-step separation and purification of 3,4-dihydroxyphenyllactic acid, salvianolic acid B and protocatechualdehyde from *Salvia miltiorrhiza* Bunge by high-speed counter-current chromatography. J. Chromatogr. A. 1140: 107-111.
- Liu, A. H., H. Guo, M. Yeh, Y. H. Lin, J. H. Sun, M. Xu and D. A. Guo. 2007. Detection, characterization and identification of phenolic acids in Danshen using high-performance liquid chromatography with diode array detection and eletrospray ionization mass spectrometry. J. Chromatogr. A. 1161: 170-182.
- Shimada, K., K. Fujikawa, K. Yahara and T. Nakamura. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J. Agric. Food Chem. 40(6): 945-948.
- Wang Y. S., L. N. Zhao, G. W. Song, X. M. Jia, W. S. Feng, Y. H. Han and Z. L. Zhang. 2013. Effect of different growth periods on tanshinone IIA and crypto-tanshinone contents in *Salvia miltiorrhiza* of Yu canton. J. Food Agri. Envir. 11: 448-450.
- Weng, X. C. and M. H. Gordon. 1992. Antioxidant activity of quinones extracted from Tanshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge). J. Agric. Food Chem. 40: 1331-1336.
- Yu, L., S. Haley, J. Perret, M. Harris, J. Wilson and M. Qian. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. J. Agric. Food Chem. 50: 1619-1624.
- Zhao, B. J., W. Jiang, Y. Zhao, J. W. Hou and W. J. Xin. 1996. Scavenging effects of *Salvia miltiorrhiza* on free radical and its protection for myocardical mitochondrial membranes from ischemia-reperfusion injury. Biochem. and Mol. Bio. Intl. 38: 1172-1182.
- Zhao, G. R., Z. J. Xiang, X. Ye, Y. J. Yuan and Z. X. Guo. 2006. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. Food Chem. 99: 767-774.





Salvianolic acid B



Tanshinone IIA

Fig. 3-1. 丹參酚酸 B(salvianolic acid B)與丹參酮 IIA(tanshinone IIA)的化學構造式

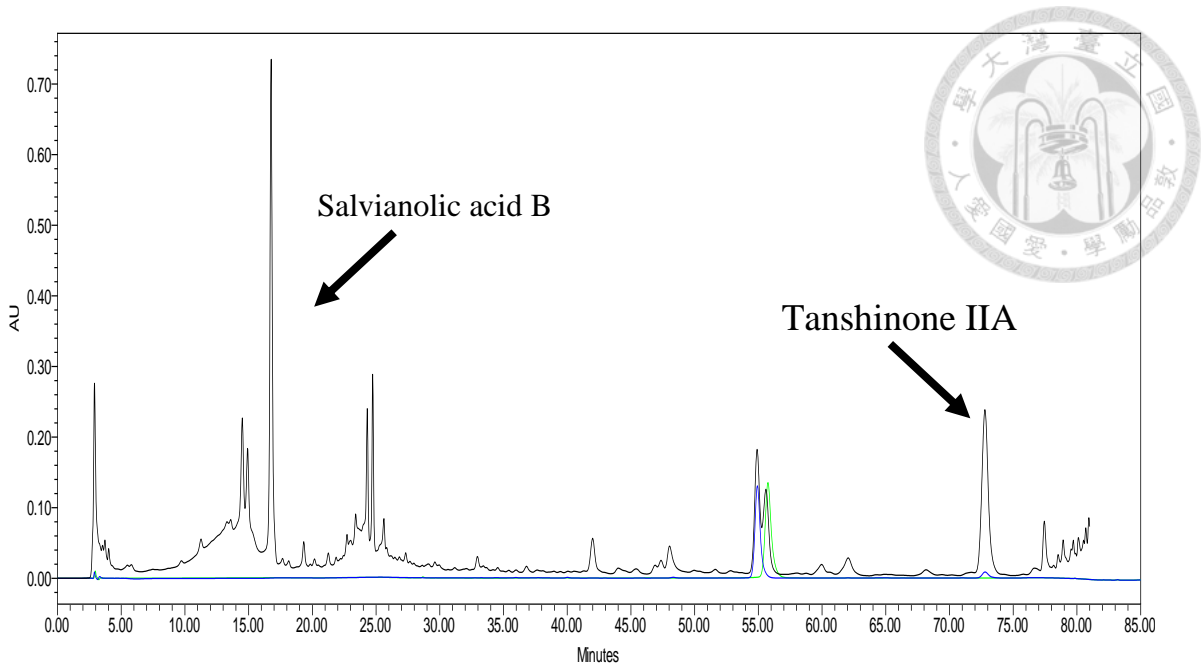


圖 3-2、丹參有效成分之 HPLC 指紋圖譜

Fig. 3-2. The HPLC fingerprint of *S. miltiorrhiza*.



圖 3-3-A、丹參的種子形態



圖 3-3-B、丹參的幼苗形態



圖 3-3-C、丹參的植株移植田間生長形態  
(2個月)



圖 3-3-D、丹參的植株開花情形  
(6個月)



圖 3-3-E、丹參的植株盛花情形  
(8個月)



圖 3-3-F、丹參的根部外表呈現鮮紅色形態  
(11個月)

圖 3-3、丹參的植株形態

Fig. 3-3. The plant morphology of *S. miltiorrhiza*.

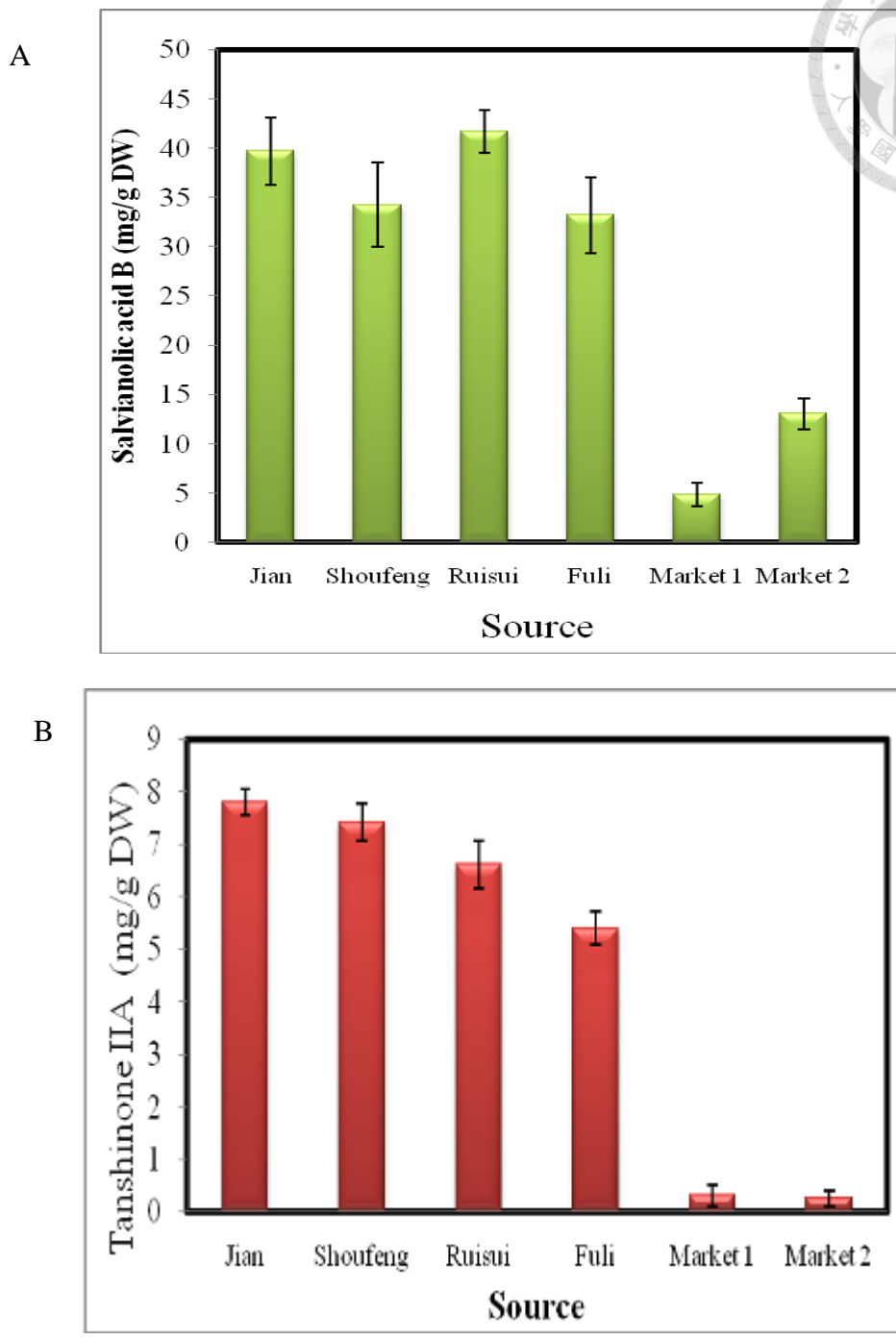


圖 3-4、花蓮地區與市售丹參有效成分丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量之比較

Fig. 3-4. The comparison on the salvianolic acid B and tanshinone IIA content of produce by Hualien and market in *S. miltiorrhiza*.

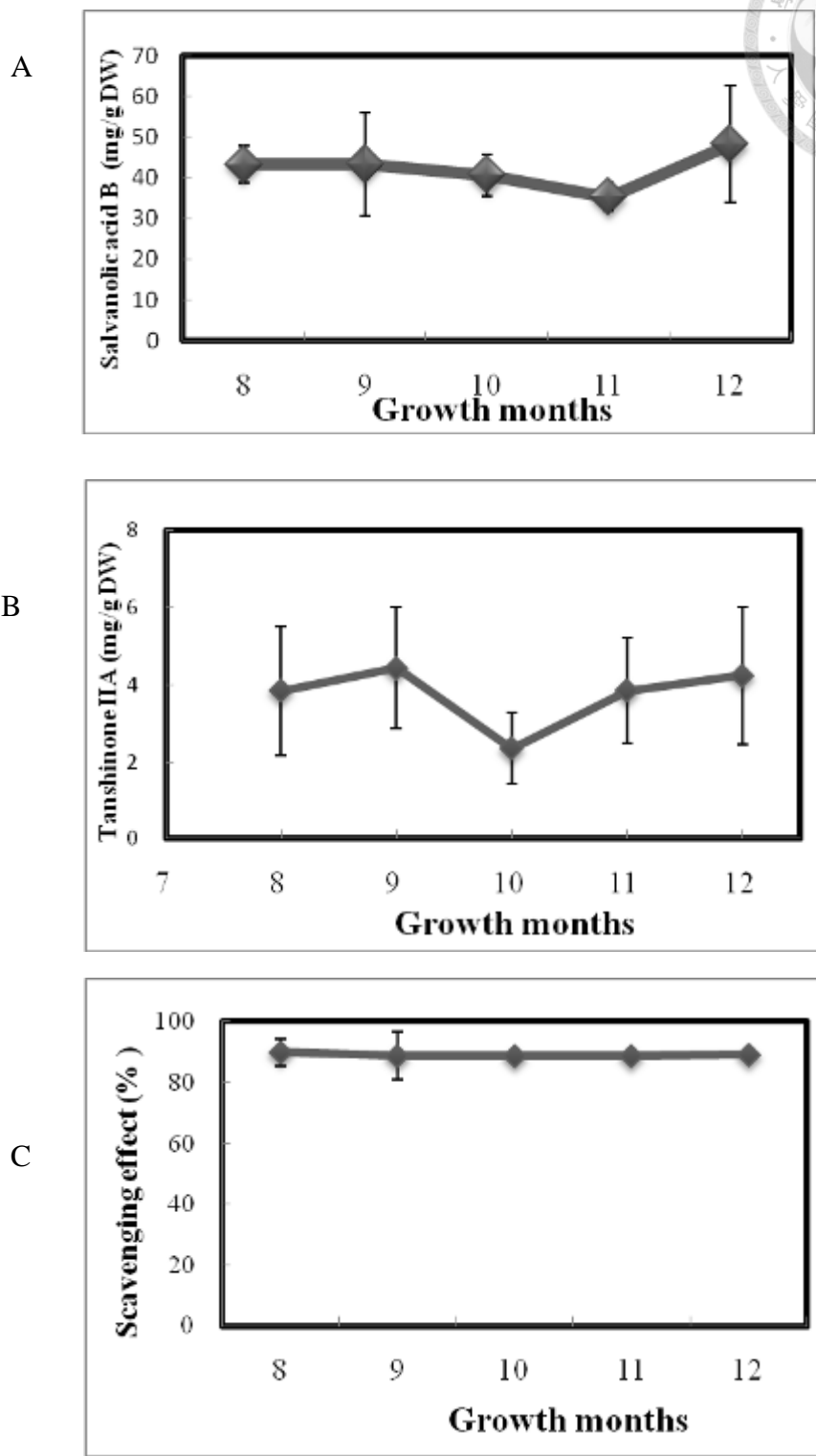


圖 3-5、丹參不同生育期丹參酚酸 B (A)、丹參酮 IIA (B)及抗氧化能力(C)變化  
Fig. 3-5. The change of the salvanolic acid B (A) and tanshinone IIA (B) content and antioxidant capacity (C) at different growth months in *S. miltiorrhiza*.

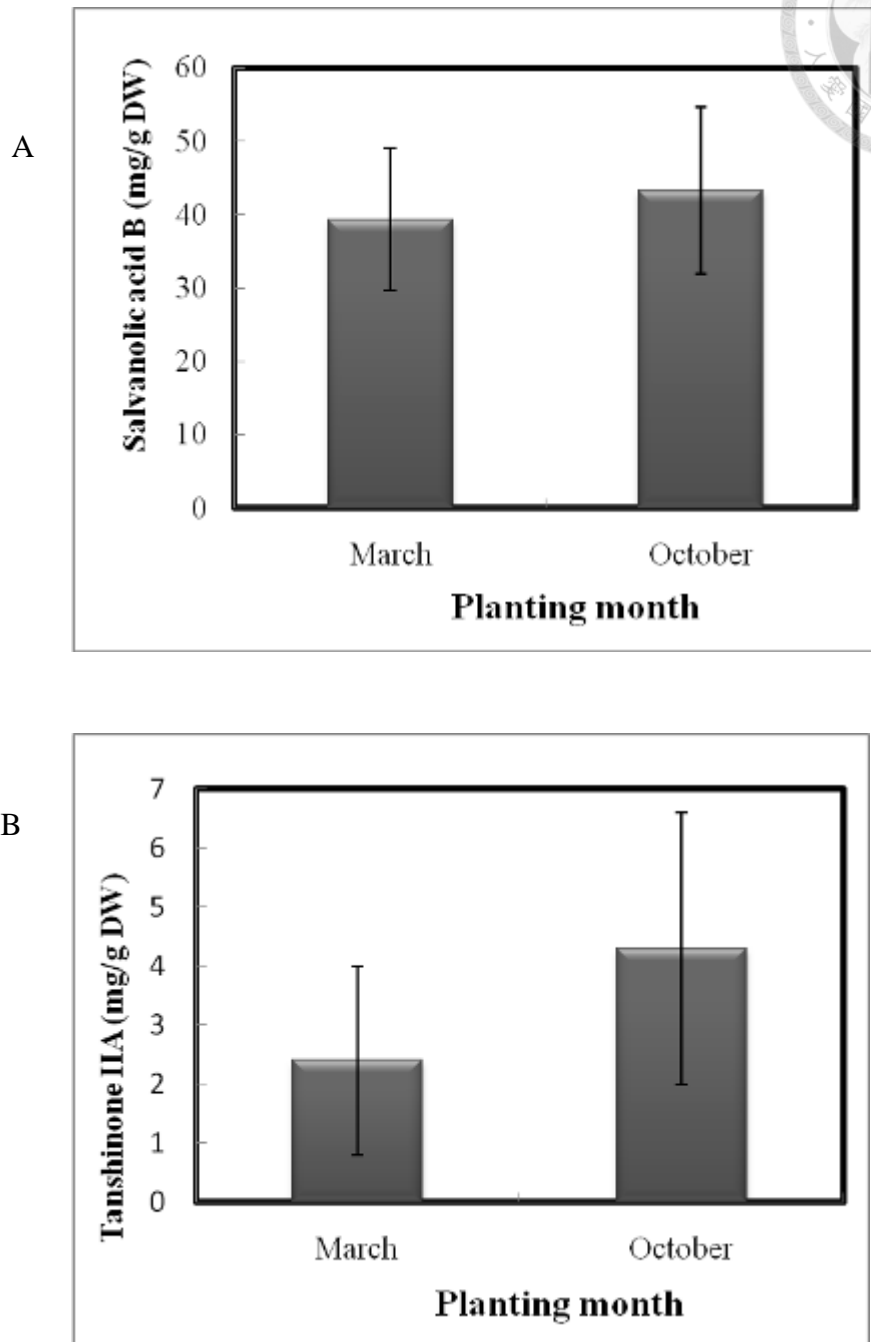
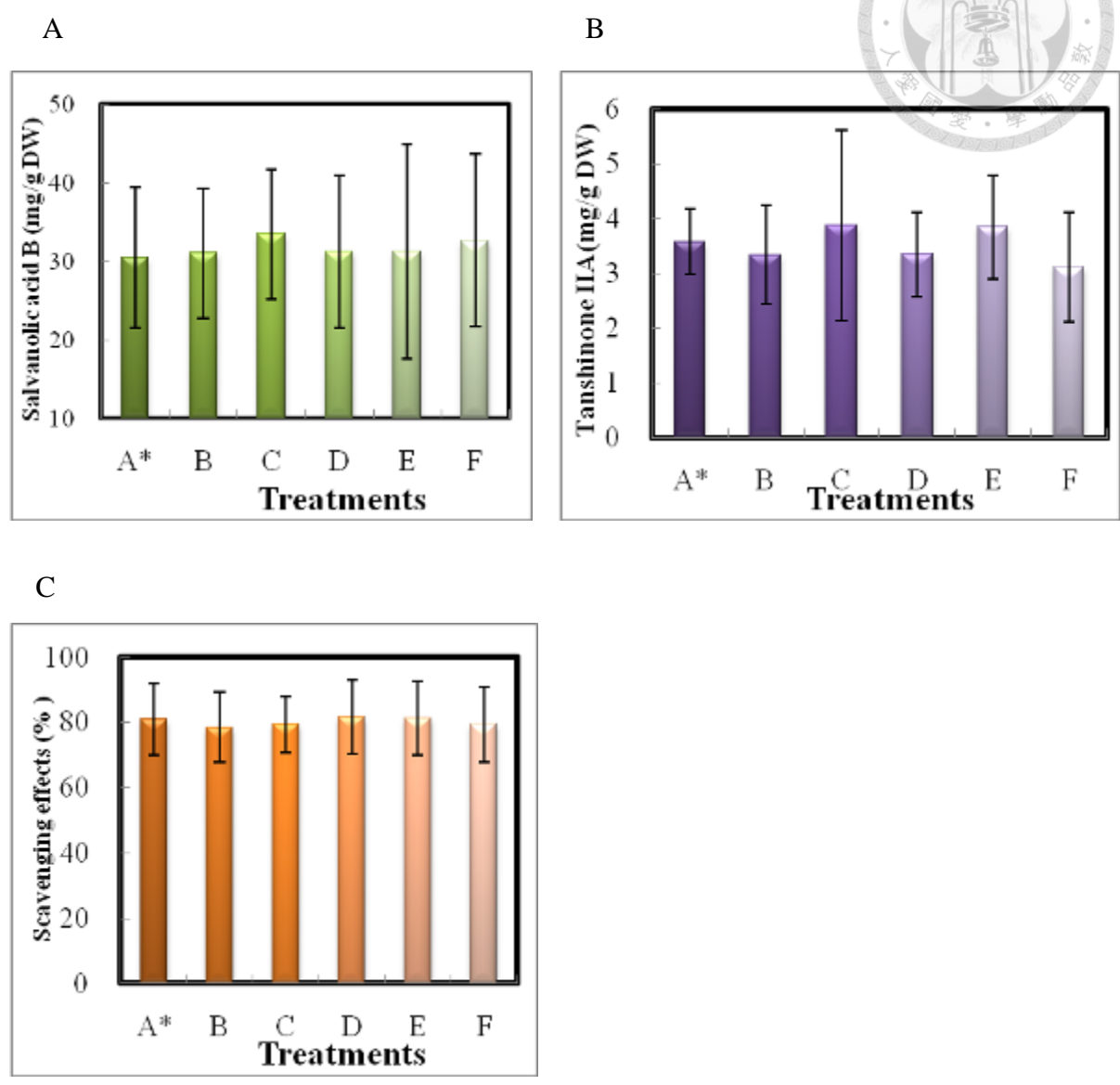


圖 3-6、丹參不同種植時期的有效成分丹參酚酸 B (A)及丹參酮 IIA (B)含量之比較

Fig. 3-6. The comparison on the salvianolic acid B (A) and tanshinone IIA (B) content at different planting month in *S. miltiorrhiza*.



\*：每公頃施用 A. 4,000 公斤堆肥、B. 8,000 公斤堆肥、C. 12,000 公斤堆肥、D. 16,000 公斤堆肥、E. 4,000 公斤堆肥+採收前 3 個月葉面噴施有機液肥、F. 對照組（不施肥）。

圖 3-7、丹參不同有機質肥料量處理的有效成分丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力之比較

Fig. 3-7. The comparison on the salvianolic acid B, tanshinone IIA and scavenging effect of different organic fertilizer amount treatments in *S. miltiorrhiza*.

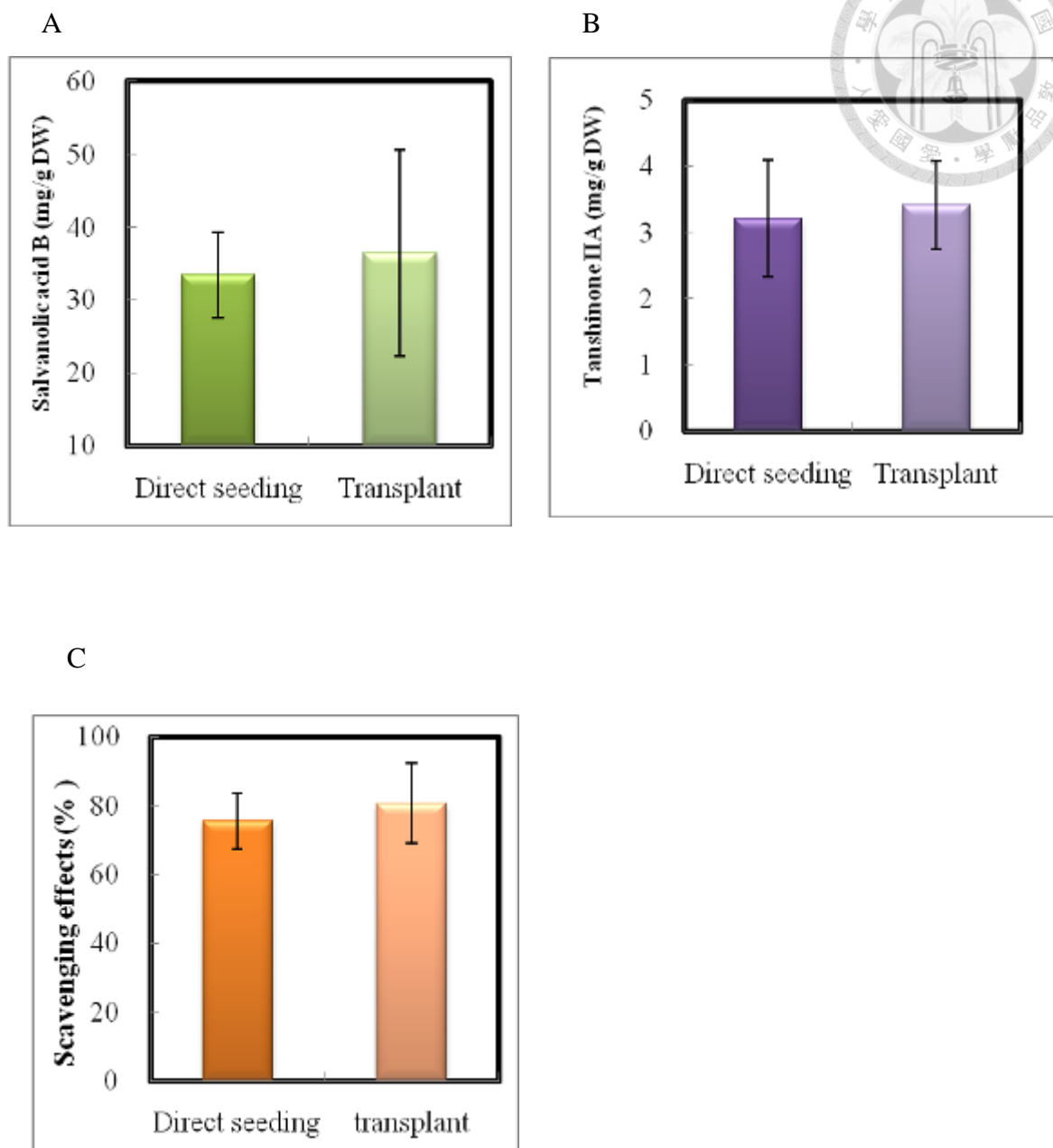
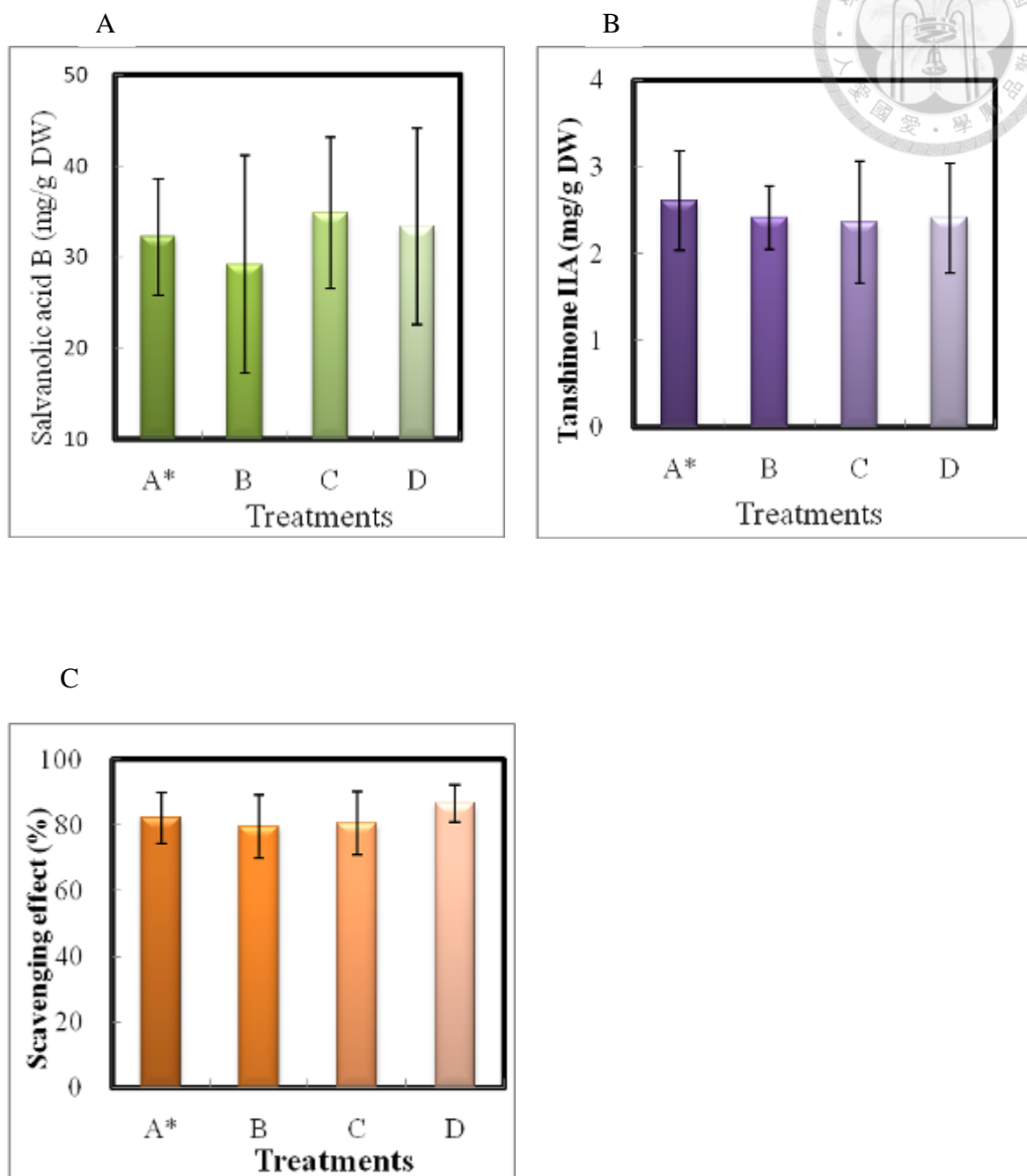


圖 3-8、丹參不同種植方式的丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力之比較

Fig. 3-8. The comparison on the salvanolic acid B, tanshinone IIA and scavenging effects of different planting methods in *S. miltiorrhiza*.





\*：蝦蟹殼粉每公頃施用 A: 250 公斤、B: 500 公斤、C: 750 公斤、D:不施用（對照組）。

圖 3-9、丹參不同蝦蟹殼粉施用量的丹參酚酸 B、丹參酮 IIA 含量及抗氧化能力之比較

Fig. 3-9. The comparison on the salvanolic acid B, tanshinone IIA content and scavenging effect of different Shrimp shells powders amount treatments in *S. miltiorrhiza*.

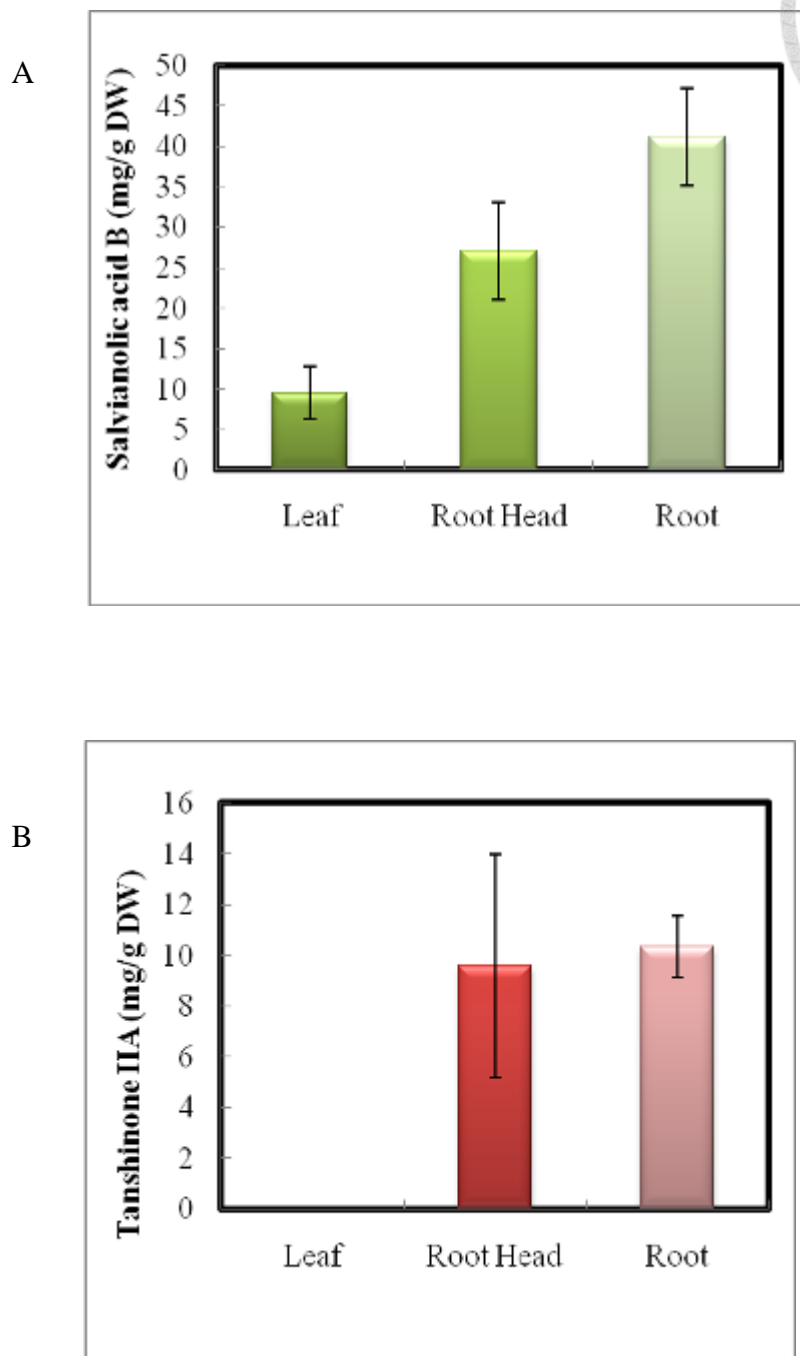
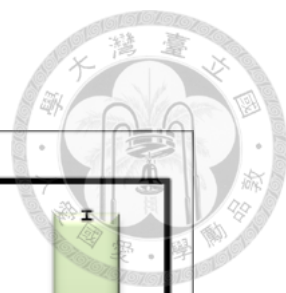
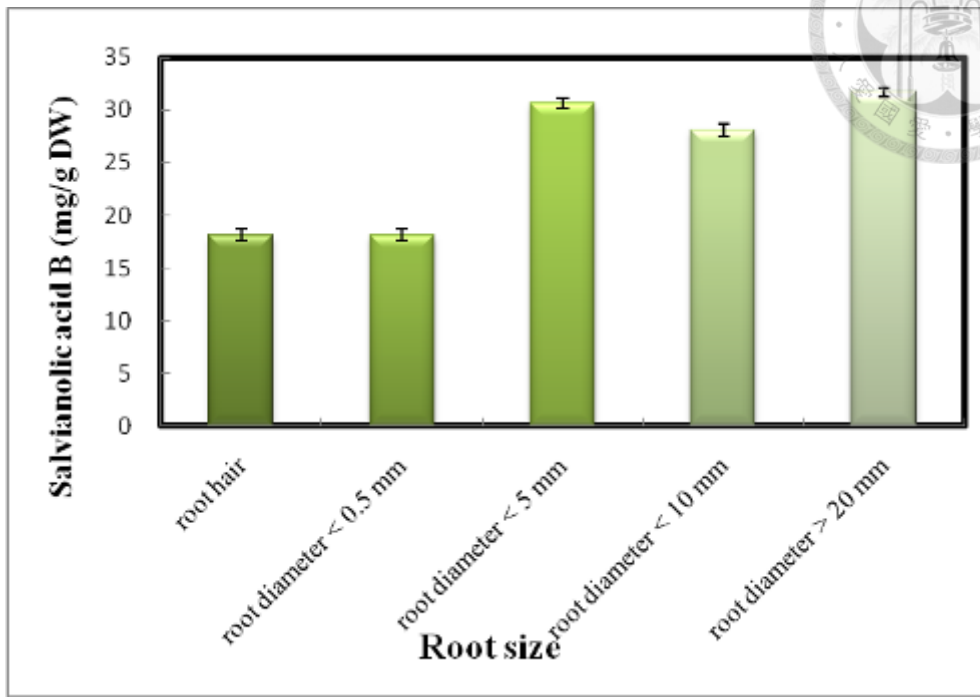


圖3-10、丹參不同部位有效成分含量之比較  
Fig. 3-10. The comparison on salviaanolic acid B and tanshinone IIA content in plant different position of *S. miltiorrhiza*.



A



B

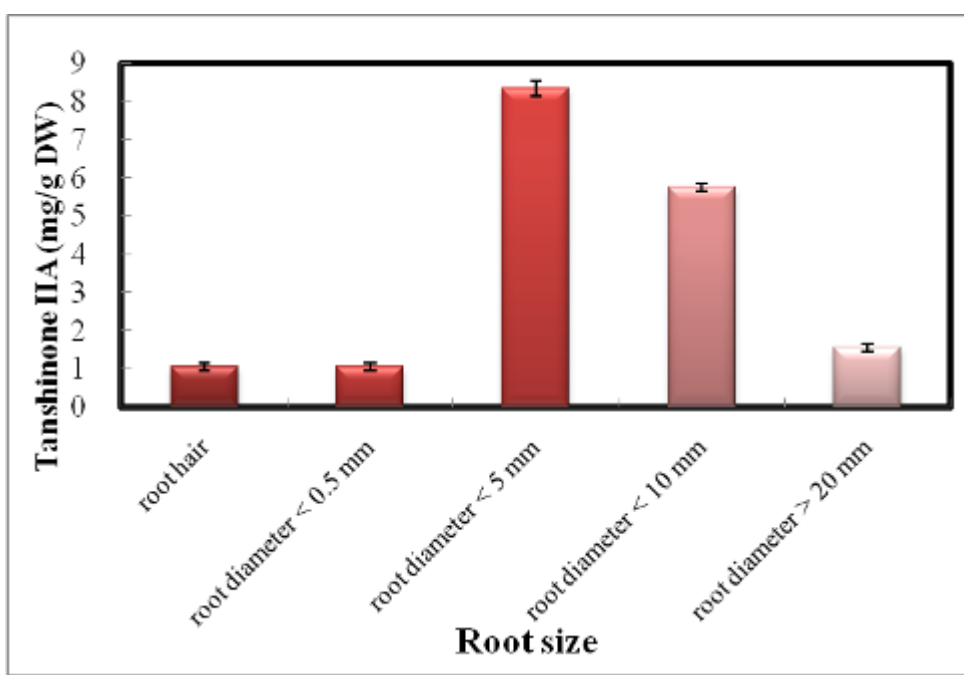


圖3-11、丹參不同根徑大小之有效成分含量比較  
Fig. 3-11. The comparison on salviannic acid B and tanshinone IIA content in different root diameter of *S. multiorrhiza*.



圖 3-12、丹參不同收穫期的根部外觀比較（圖左：12 個月；圖右：24 個月）  
Fig. 3-12. The comparison of the root appearance of *S. miltiorrhiza* at different harvest period (left figure: 12 months; right figure: 24 months).

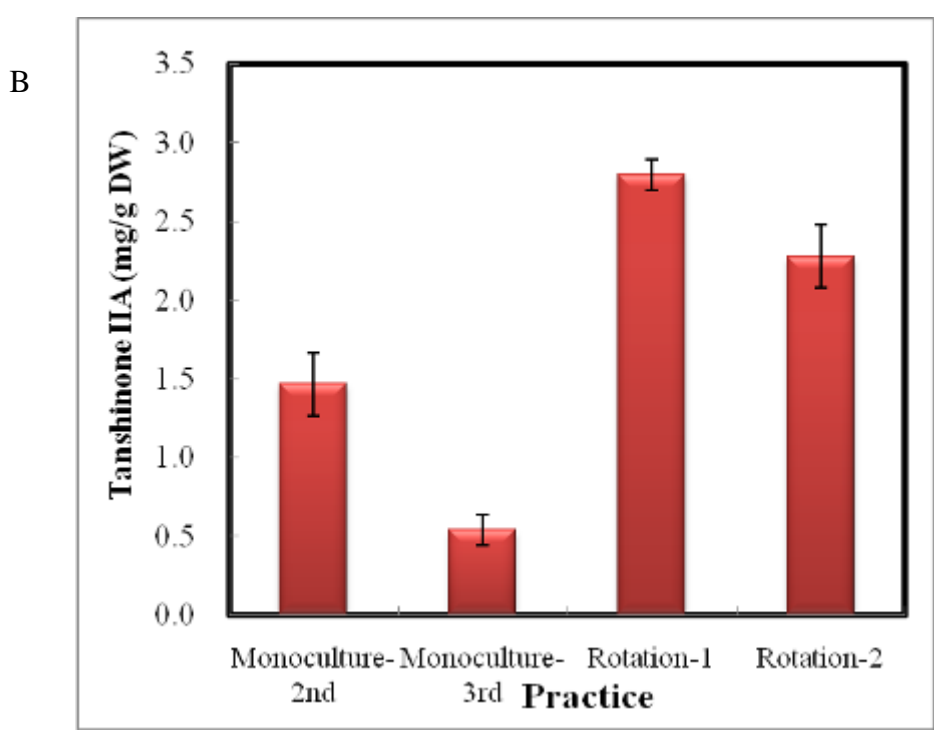
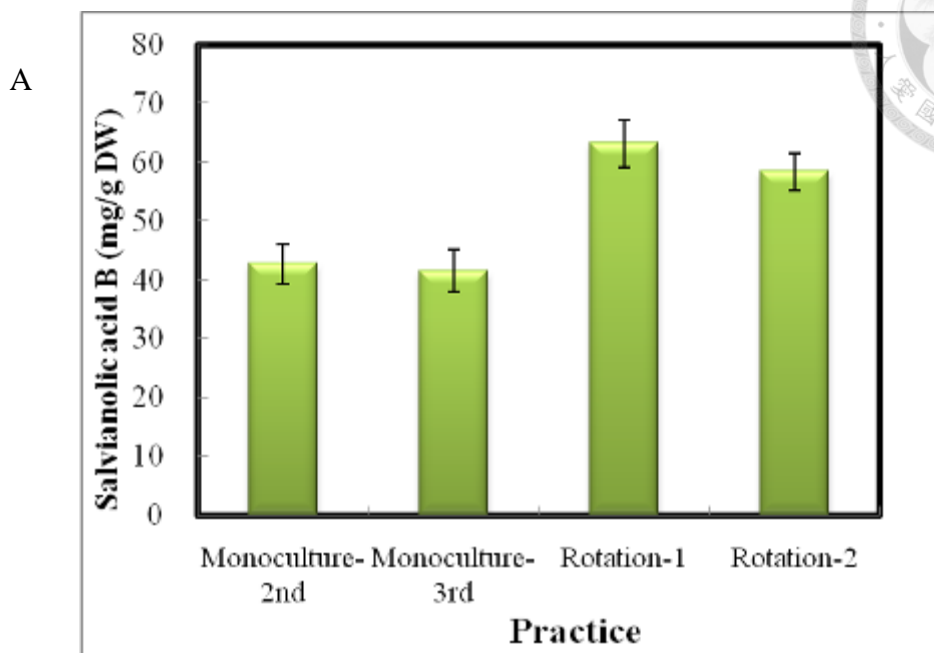


圖 3-13、丹參不同耕作制度的有效成分丹參酚酸 B 及丹參酮 IIA 含量比較  
Fig. 3-13. The comparison on the salvianolic acid B and tanshinone IIA of different cultivated practice in *S. miltiorrhiza*.

表 3-1、丹參不同栽培地區的農藝性狀比較

Table 3.1. The comparison on the agronomic traits of different cultivated area in *S. miltiorrhiza*.

Cultivated area	Plant weight (g FW)	Plant height (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root width (mm)
Jian	1063 ± 252	75 ± 14	523 ± 154	36 ± 9	22 ± 5
Shoufeng	1132 ± 249	79 ± 16	496 ± 151	37 ± 8	22 ± 6
Yuli	1028 ± 162	81 ± 13	585 ± 156	38 ± 7	23 ± 5
Fuli	1213 ± 375	105 ± 18	535 ± 201	40 ± 9	24 ± 8
Sanxing	1066 ± 245	89 ± 15	512 ± 189	40 ± 8	21 ± 6

表 3-2、丹參不同栽培地區的有效成分含量比較

Table 3-2. The comparison on the active ingredients of different cultivated area in *S. miltiorrhiza*.

Cultivated area	salvianolic acid B (mg/g DW)	Tanshinone IIA (mg/g DW)
Jian	36.4 ± 3.2	3.6 ± 0.2
Shoufeng	41.2 ± 2.8	3.4 ± 0.2
Yuli	48.3 ± 4.1	3.4 ± 0.1
Fuli	45.4 ± 3.2	4.1 ± 0.2
Sanxing	41.2 ± 3.1	3.5 ± 0.1

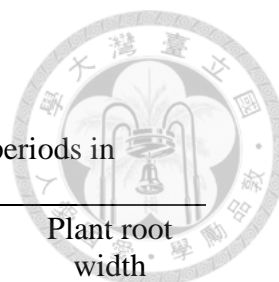


表 3-3、丹參不同生育時期的農藝性狀比較

Table 3-3. The comparison on the agronomic traits at different growth periods in *S. miltiorrhiza*.

Growth period (months)	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
8	70 ± 16	1063 ± 562	35 ± 10	373 ± 198	21 ± 5
9	85 ± 20	1249 ± 749	37 ± 9	443 ± 251	19 ± 6
10	89 ± 15	1228 ± 562	34 ± 6	485 ± 256	21 ± 5
11	111 ± 12	1213 ± 575	41 ± 8	685 ± 373	23 ± 8
12	94 ± 11	866 ± 434	41 ± 5	585 ± 341	24 ± 6

表 3-4、丹參不同種植時期的農藝性狀比較

Table 3-4. The comparison on the agronomic traits at different planting period in *S. miltiorrhiza*.

Planting period	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
March	119 ± 24	1222 ± 685	36 ± 5	506 ± 98	18 ± 5
October	94 ± 11	866 ± 435	41 ± 5	585 ± 341	24 ± 6

表 3-5、丹參不同有機質肥料處理的農藝性狀比較

Table 3-5. The comparison on the agronomic traits of different organic fertilizer amount treatments in *S. miltiorrhiza*.

Treatment	Plant height (cm)	Plant root length (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
A <sup>Z</sup>	122 <sup>*a</sup>	35 <sup>a</sup>	1300 <sup>a</sup>	461 <sup>c</sup>	18 <sup>a</sup>
B	117 <sup>a</sup>	39 <sup>a</sup>	1258 <sup>a</sup>	502 <sup>bc</sup>	18 <sup>a</sup>
C	119 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	1222 <sup>a</sup>	533 <sup>ab</sup>	18 <sup>a</sup>
D	117 <sup>a</sup>	33 <sup>a</sup>	1346 <sup>a</sup>	569 <sup>a</sup>	17 <sup>a</sup>
E	118 <sup>a</sup>	37 <sup>a</sup>	1327 <sup>a</sup>	500 <sup>bc</sup>	16 <sup>a</sup>
F	121 <sup>a</sup>	37 <sup>a</sup>	1239 <sup>a</sup>	508 <sup>b</sup>	18 <sup>a</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	14	6	406	39	4

z：每公頃施用 A：4,000 公斤堆肥、B：8,000 公斤堆肥、C：12,000 公斤堆肥、D：16,000 公斤堆肥、E：4,000 公斤堆肥+採收前 3 個月葉面噴施有機液肥、F：對照組。

\*：同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

\*: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 3-6、丹參不同種植方式的農藝性狀比較

Table 3-6. The comparison on the agronomic traits of different planting methods in *S. miltiorrhiza*.

Treatment	Plant height (cm)	Plant root length (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
Direct Seeding	109 <sup>*ns</sup>	34 <sup>ns</sup>	985 <sup>ns</sup>	469 <sup>ns</sup>	19 <sup>ns</sup>
Transplant	104	36	983	541	21
LSD <sub>0.05</sub>	20.1	12.5	339	183.0	9.1

\*: ns: not significantly difference



表 3-7、丹參不同栽培密度的農藝性狀比較

Table 3-7. The comparison on the agronomic traits of different planting density in *S. miltiorrhiza*.

Treatment	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
A <sup>z</sup>	75* <sup>b</sup>	912 <sup>b</sup>	32 <sup>a b</sup>	436 <sup>b</sup>	18 <sup>b</sup>
B	74 <sup>b</sup>	989 <sup>b</sup>	32 <sup>b</sup>	446 <sup>b</sup>	19 <sup>b</sup>
C	80 <sup>a</sup>	1003 <sup>b</sup>	34 <sup>a b</sup>	513 <sup>a</sup>	20 <sup>b</sup>
D	81 <sup>a</sup>	1144 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	518 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	3.9	129.2	2.9	19.4	1.7

z : A : 100×30cm、B : 100×40cm、C : 100×50 cm、D : 100×60 cm

\*: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

\*: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 3-8、丹參不同栽培密度的有效成分含量比較

Table 3-8. The comparison on the active ingredient content of different planting density in *S. miltiorrhiza*.

Treatment	salvianolic acid B (mg/g DW)	tanshinone IIA (mg/g DW)
A <sup>z</sup>	31.9 <sup>*a</sup>	3.3 <sup>b</sup>
B	30.9 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>
C	33.9 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>
D	34.4 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>
LSD <sub>0.05</sub>	5.2	0.4

z : A : 100×30cm、B : 100×40cm、C : 100×50 cm、D : 100×60 cm

\*: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

\*: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

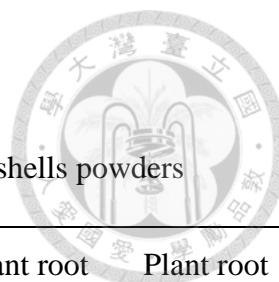


表 3-9、丹參不同蝦蟹殼粉施用量的農藝性狀比較

Table 3-9. The comparison on the agronomic traits of different Shrimp shells powders amount treatments in *S. miltiorrhiza*.

Treatment	Plant height (cm)	Plant root length (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
A <sup>Z</sup>	113 <sup>*a</sup>	35 <sup>a</sup>	1157 <sup>b</sup>	515 <sup>b</sup>	18 <sup>a</sup>
B	123 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	1049 <sup>bc</sup>	450 <sup>c</sup>	18 <sup>a</sup>
C	121 <sup>a</sup>	32 <sup>a</sup>	1282 <sup>a</sup>	558 <sup>a</sup>	17 <sup>a</sup>
D	115 <sup>a</sup>	37 <sup>a</sup>	1102 <sup>b</sup>	520 <sup>b</sup>	17 <sup>a</sup>

Z：蝦蟹殼粉每公頃施用 A: 250 公斤、B: 500 公斤、C: 750 公斤、D:不施用（對照組）。

\*: 同一行英文字母相同者，表示差異未達 5% 顯著水準。

\*: Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 3-10、丹參不同收穫期的農藝性狀比較

Table 3-10. The comparison on the agronomic traits at different harvest periods in *S. miltiorrhiza*.

Harvest period (months)	Plant height (cm)	Plant weight (g)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
12	75 ± 17	1048 ± 544	47 ± 11	580 ± 214	17 ± 5
24	82 ± 24	1025 ± 638	42 ± 7	445 ± 215	20 ± 6

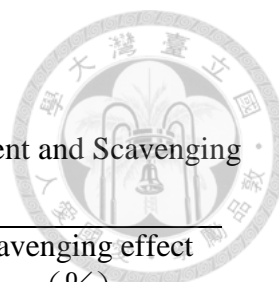


表 3-11、丹參不同收穫期有效成分含量之比較

Table 3-11. The comparison on salvianolic acid B, tanshinone IIA content and Scavenging effect at different harvest periods of *S. miltiorrhiza*.

Harvest period (months)	Salvianolic acid B (mg/g DW)	Tanshinone IIA (mg/g DW)	Scavenging effect (%)
12	47.4 ± 10.4	5.3 ± 2.8	89 ± 12
24	40.6 ± 11.6	4.3 ± 1.7	81 ± 14

表 3-12、丹參不同耕作方式的農藝性狀比較


Table 3-12. The comparison on the agronomic traits of different cultivated practice in *S. miltiorrhiza*.

Cultivated practice	Plant height (cm)	Plant weight (g FW)	Plant root length (cm)	Plant root weight (g FW)	Plant root width (mm)
Monoculture-2nd	67 ± 11	528 ± 88	29 ± 6	278 ± 52	15 ± 5
Monoculture-3rd	64 ± 14	438 ± 85	33 ± 5	189 ± 58	14 ± 5
Rotation-1	68 ± 12	517 ± 95	29 ± 5	324 ± 61	18 ± 4
Rotation-2	74 ± 16	528 ± 124	30 ± 5	307 ± 68	17 ± 5



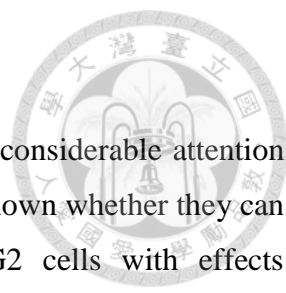
## 肆、當歸、丹參之有效成分對抑制腫瘤細胞及生理活性之探討

## 摘要



目前許多癌症治療朝向協同效應方面研究，丹參酮 IIA (Tan IIA)和反式白藜蘆醇 (Resv) 的活性已證實可抑制多種腫瘤細胞，備受關注，但尚未有研究報告是以丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇的聯用作為探討，故本研究以丹參酮 IIA 與反式白藜蘆醇聯合使用，在抑制 HepG2 肝癌細胞活性上，與化療藥物順鉑作一比較，並分析這二種天然化合物及其聯用，對細胞週期停止、細胞凋亡以及 DNA 斷裂的影響。使用細胞存活率測定 (WST-1 assay)方法，測得此二種藥劑及其混合處理對 HepG2 細胞存活力的影響，並發現丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇聯用時，在 1/2 : 1/2 與 1/3 : 2/3 的濃度比例，對細胞毒性表現出協同效應，此與順鉑(cisplatin)藥物的二種處理時間效果相同。以 propidium iodide (PI)染色法檢測分析細胞週期之變化，顯示丹參酮 IIA 使細胞週期停止在 sub-G1 時期的細胞比例增加，而反式白藜蘆醇則使細胞停止在 S 和 G2/M 時期，最後聯合使用丹參酮 IIA 與反式白藜蘆醇處理細胞時，則能使細胞週期停止在 sub-G1 時期，而由 Annexin V/PI 雙染色法能觀察到類似的細胞凋亡結果。此外，由 DNA 膠體電泳法結果，以丹參酮 IIA 處理者，呈現出細胞壞死的模糊形態，而以反式白藜蘆醇處理者，則呈現明顯的細胞凋亡梯狀形態，最後聯合使用這二種藥劑處理時，則出現更密集的梯狀形態。本研究證實，丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇聯用所產生的協同效應，造成腫瘤細胞損傷與抑制 HepG2 細胞生長，達到與順鉑藥物相同的細胞毒性效果。

## Abstract



Tanshinone IIA (Tan IIA) and *trans*-resveratrol (Resv) have received considerable attention for their activity against various cancer cells. However, it is as yet unknown whether they can exert a combinative synergism against human liver cancer HepG2 cells with effects comparable to that of cisplatin. We thus measured the viability of HepG2 cells influenced by two agents and their combinations using WST-1 assay and found that a combination of Tan IIA and Resv at ratios of 1/2:1/2 and 1/3:2/3 displayed synergistic effects on cytotoxicity equivalent to that of cisplatin for some, but not all exposure times. The propidium iodide assay further revealed that Tan IIA increased in a greater proportion of cells in sub-G1 phase, and Resv induced a higher proportion of cells in S- and G2/M-phase. The sub-G1 proportion was higher in the combined Tan IIA and Resv than the theoretical additive value, and a similar effect was observed in terms of apoptotic frequency using Annexin V/PI staining. Moreover, a DNA gel electrophoresis assay exhibited a clear necrotic smear pattern upon treatment with Tan IIA, an apparent apoptotic ladder pattern with Resv, and more intensive ladder patterns with the combination of Tan IIA and Resv. Conclusively, the combinative effect of Tan IIA and Resv on HepG2 cell growth inhibition achieves the cytotoxicity of cisplatin, supported by combinative synergism-like effects in terms of cell damage.

### Key words

tanshinone IIA, *trans*-resveratrol, synergistic combination, cisplatin, apoptosis

## 前言



丹參水溶性成分中的丹參酚酸B (salvianolic acid B)是目前研究較多的丹參酚酸之一。由臨床前的實驗顯示，丹參酚酸B對心血管、腦、肝等器官均具有重要的藥理作用，而這些作用絕大部分是導源於丹參酚酸B具有很強的生理活性。以抗氧化能力為例，丹參酚酸B能清除氧自由基、抑制脂質過氧化反應，其作用強度高於維生素C、維生素E、甘露醇。另外丹參酚酸B對心肌缺血再灌注損傷與心臟微血管內皮細胞具有保護作用，可防止動脈粥樣硬化、心血管內皮增厚，對腦缺血損傷具保護作用，可改善記憶功能障礙以及抗肝臟纖維化作用。丹參酚酸B除了有抗衰老、抗腫瘤效用之外，亦可促進體外誘導骨髓基質細胞向心肌樣細胞轉化，可作為心臟外科手術後修復時期的良好細胞來源(湛月娥，2007；汪芸，2010)。目前上市的複方丹參滴丸是丹參、三七、冰片的水溶性萃取物，主要成分為丹參素 (Danshensu)、原兒茶醛 (protocatechuic aldehyde)和丹參酚酸B (salvianolic acid B)，其宣稱可預防和治療糖尿病微血管併發症，如糖尿病視網膜病變、糖尿病以及腎臟疾病等。

關於丹參酮的抗癌活性，以癌細胞為測試平台之研究指出，丹參酮對於多種癌細胞具有抑制或毒殺效果。例如丹參酮可以對抗人類乳癌 (Wang, *et al.*, 2005)、非小型細胞肺腺癌細胞株(Lee, *et al.*, 2008)；抑制癌細胞的增殖生長，如人類肝癌 (Wang, *et al.*, 1996a; Tang, *et al.*, 2003a; Tang, *et al.*, 2003b; Yuan, *et al.*, 2004; Zhong, *et al.*, 2007)、非小型細胞肺癌(Lee, *et al.*, 2008)；誘導細胞凋亡，如人類肝癌、前髓細胞性白血病(Tang, *et al.*, 2003a; Tang, *et al.*, 2003b; Yuan, *et al.*, 2004)、白血病(Sung, *et al.*, 1999; Yoon, *et al.*, 1999)；誘導人類白血病 (Liang, *et al.*, 2000; Wu, *et al.*, 2002; Wang 2003)、子宮頸癌(黃光琦等，1996)等癌細胞分化；抑制大腸癌細胞生長並增加其凋亡率(Su, *et al.*, 2008)。一些活體研究亦顯示丹參酮IIA的抗癌活性，例如以腹腔或皮下注射治療小鼠肝癌 (Wang, *et al.*, 1996b)、以皮下注射治療人類乳癌 (Wang, *et al.*, 2005)、以腹腔注射治療人類乳癌 (張欣等，2010)、非小型細胞肺癌 (Lee, *et al.*, 2008)等。

肝癌是全球第二常見的癌症死亡原因(Ferlay *et al.*, 2013)。雖然超過 80%的肝癌病例是發生在亞洲和非洲之未開發或開發中國家(Ferlay *et al.*, 2013)，但在美國、日本和歐洲某些地區，肝癌病例有明顯增加之趨勢，且超過以往二十年的病例(Bergsland and Venook, 2000)。由肝癌所引起的死亡人數從 1990 年的 463,000 人、2002 年 598,000 人、2008 年 695,900 人、到 2010 年 752,100 人(Jemal *et al.*, 2011; Parkin *et al.*, 2005)。

儘管現行的常規治療以手術和化療方式能提高臨床的療效，但其相對 5 年的存活率卻只有 15% 左右，而且化療藥物（如順鉑）會產生明顯的副作用，雖然順鉑藥物對人類肝癌細胞株 HepG2 的毒性，優於 5-fluorouracil 和紫杉醇 (paclitaxel)，但其引發的副作用在使用上受到限制，包括溶血性貧血，以及腎臟、神經、耳和骨髓毒性等臨床副作用，因此開發副作用較少的有效抗癌藥物就更加迫切，而目前的研究策略，包括從植物萃取出植物化學物質來作為應用(Brenes *et al.*, 2007)。

丹參酮 IIA 是一種植物防禦素 (phytoalexin) (圖 4-10)，為丹參 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 植物中主要的脂溶性成分，是一種植物藥 (phytomedicine)，在亞洲民間傳統醫療體系中作為重要的藥膳食材，於臨床上用來治療各種心血管疾病，如心絞痛、心肌梗塞、動脈粥樣硬化或凝血異常。一些研究證實，丹參酮 IIA 可抑制人類胃癌、結腸癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、血癌等細胞株的增殖(Chen *et al.*, 2012; Su *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2005; Jiao *et al.*, 2011; Yun *et al.*, 2013)，最近研究指出，丹參酮 IIA 及其天然類似物 (natural analogues) 能對 HepG2 肝癌細胞產生細胞毒性作用，主要是經由細胞凋亡和細胞週期停止所產生(Lee *et al.*, 2008)。

反式白藜蘆醇為一種天然的酚類化合物 (圖 4-10)，在葡萄皮、花生和虎杖 (*Polygonum cuspidate*) 中含量豐富，其功能如同植物防禦素。多項研究指出，反式白藜蘆醇對心血管系統有所助益，表現出多種生物活性，如抗發炎和抗癌作用，抑制一些癌細胞株的增殖，如膀胱癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌、以及黑色素瘤與白血病等(Bai *et al.*, 2010; Osman *et al.*, 2012; Amiri *et al.*, 2013; Yin *et al.*, 2013; Osmond *et al.*, 2013; Siedlecka-Kroplewska *et al.*, 2013)，主要是藉由誘導細胞發生細胞凋亡或停止細胞週期的反應。

最近許多的研究朝向聯合使用二種藥劑來進行協同效應，例如將丹參酮 IIA 與化療藥物順鉑(cisplatin)聯用在前列腺癌細胞(Hou *et al.*, 2013)；丹參酮 II A 與三氧化二砷(arsenic trioxide)聯用在 NB4 細胞(Zhang *et al.*, 2010)；丹參酮 II A 與 imatinib 聯用在骨髓白血病 K562 細胞(Jung *et al.*, 2013)；丹參酮 II A 與 5-FU 聯用在 Colo205 結腸癌細胞的臨床試驗(Su *et al.*, 2012)。有研究發現，反式白藜蘆醇能增強化療藥物 clofarabine 對人類惡性間皮瘤 (malignant mesothelioma) MSTO - 211H 細胞的藥效(Lee *et al.*, 2013)，增強抗雄激素 flutamide 對前列腺癌細胞的藥效(Kai *et al.*, 2011)；與植物化學物質聯用，如兒茶素(epigallocatechin gallate, EGCG)和維生素 E 家族 gamma-tocotrienol，可抑制 MCF -7 乳腺癌細胞，增強其抗癌功效(Hsieh and Wu, 2008)；與薑黃素 (curcumin) 聯



用可有效抑制 Hepal - 6 肝癌細胞 (Du *et al.*, 2013)。目前協同效應方面的研究，在對抗腫瘤上有越來越多的應用，然而尚未有研究報告是以丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇的聯用作為探討，故本研究以丹參酮 IIA 與反式白藜蘆醇聯合使用，在抑制 HepG2 肝癌細胞活性上，與化療藥物順鉑作一比較，並分析這二種天然化合物及其聯用，對細胞週期停止、細胞凋亡以及 DNA 斷裂的影響。

## 材料和方法



### 一、當歸與丹參萃取物抑制腫瘤細胞之效應

#### (一) 當歸與丹參的萃取方式

##### 1. 樣品處理：

(1) 當歸樣品：當歸來源為花蓮吉安鄉 10 月份種植，隔年 7 月份收穫之新鮮當歸(*A. acutiloba*)根部。

(2) 丹參樣品：丹參來源為花蓮吉安鄉 10 月份種植，隔年 9 月份收穫之新鮮丹參(*S. miltiorrhiza*)根部。

(3) 樣品製備：新鮮根部以 40°C 熱風乾燥 24 小時，再以粉碎機磨成粉末備用。

##### 2. 樣品溶液製備：

各取 1.0 公克的當歸與丹參粉末，加入 10 ml water 或 ethanol，以不同溫度萃取 1 小時，再以 0.2 μm 濾膜過濾備用。

##### 3. 萃取條件：

當歸與丹參樣品溶液的萃取條件，分別為 A: 60°C water、B: 80°C water、C: 100°C water、D: 60°C ethanol 及 E: 80°C ethanol 等。在細胞試驗部分，是以熱水或酒精萃取，來模擬典型的藥膳烹調方式。

##### 4. 分析有效成分含量

當歸與丹參的有效成分含量，以 HPLC 進行定量分析（參照前述方法）。

#### (二) 當歸與丹參萃取物對抑制腫瘤細胞之影響

1. 試驗材料：腫瘤細胞為慈濟大學分子醫學研究室培養之腫瘤細胞，包括小鼠乳癌細胞 (A cell)、人類乳癌細胞 (MCF-7)、人類肝癌細胞 (MSG-2)、人類肺癌細胞 (A549) 以及人類肝癌細胞 (HepG2) 等五種細胞。

##### 2. 試驗方法：

(1) 將細胞培養在 96 wells 的培養盤內培養，每一 well 的細胞數為  $1 \times 10^4$ ，培養隔夜。

(2) 吸去培養液，分別加入不同劑量的血清培養基 (5 μg/ml ~ 10 mg/ml)。

(3) 藥物處理 24 到 48 小時後，以 ELISA reader 測其吸光值。

(4) 以無菌 PBS 清洗細胞一次或三次，使用量為 200 μl/well。

- (5)加入細胞增殖試劑 WST-1，每一 well 使用量為 40  $\mu$ l，細胞繼續培養在 5% CO<sub>2</sub> 之 37°C 培養箱中，培養 30 分鐘。
- (6)以 ELISA reader 測定培養盤中的吸光值，波長為 450 nm。
- (7)試驗流程圖如圖 4-2



## 二、丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇對人類肝癌細胞株 HepG2 的細胞毒性之影響

### (一) 細胞株與培養條件

本試驗使用人類肝癌細胞株 HepG2，細胞培養於含 10% 胎牛血清 (FBS, Biological Industries, Kibbutz Beit Haemek, Israel)、100 U/ml penicillin 及 100 $\mu$ g/ml streptomycin (Biological Industries, Kibbutz Beit Haemek, Israel) 之 Dulbecco's modified Eagle's medium with phenol red (DMEM, Gibco, New York, USA) 培養液，培養在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培養箱中。

### (二) 天然化合物

HPLC (High-performance liquid chromatography) 等級之丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇，分別購自 Kesure Biotechnology Co. (Kunming, PRC) 與寶雞市辰光生物科技有限公司 (Baoji, PRC)，其純度皆為 98 % 以上。順鉑 (cisdiamineplatinum(II)dichloride) 的純度為 99 % 以上，購自 Sigma-Aldrich Co. (Milwaukee, USA)。所有藥劑皆溶於 DMSO (dimethyl sulfoxide) 中，配製成 10 mg/ml 溶液使用。

### (三) 細胞存活率測定

以 WST-1 (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio] -1,3-benzene disulfonate) 細胞增殖與細胞毒性測定法 (Roche Co., South San Francisco, USA) 來計算細胞存活率，其 tetrazolium 會被活細胞的粒線體脫氫酶 (mitochondria dehydrogenases) 還原生成紫色的 formazan，細胞增殖越多，則顏色越深；若藥物毒性強，抑制細胞增殖，則顏色越淺。為進行細胞生長測定，在 96 wells 培養盤中，每個 well 種約  $1 \times 10^4$  個細胞，並在上述相同條件下培養細胞隔夜，使細胞附著在每個孔槽底部，以丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇、二者混合處理、以及順鉑藥物等四種處理方式，0.5~100  $\mu$ g/ml 逐漸增加濃度，處理 24、36、48 小

時。對照組是以相同濃度的 DMSO 處理。處理後，除去培養基，以 200  $\mu$ l 的 PBS 清洗，加入含有 10  $\mu$ l WST-1 cell proliferation reagent 和 190  $\mu$ l phenol red free DMEM 的混合液，在上述相同培養條件下培養 30 分鐘。以 microplate reader (Thermo Scientific Multiskan Spectrum, New York, USA) 在 450 nm 讀取吸光值。所有實驗均進行至少三次、每種濃度重複四次。計算細胞存活率的公式為：細胞存活率 (%) = 實驗組的 OD 值 / 對照組的平均 OD 值  $\times$  100。每個化合物以及結合化合物的半抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) 是從劑量效應曲線 (dose-effect-curves) 所得到 (未示出)，並以 Sigma Plot software 計算。數據以四次重複的平均數  $\pm$  SD 呈現，統計分析採用 Student's two-tailed t test 來分析比較。Sigma Plot software (<http://www.sigmaplot.com/downloads/download.php>)。

#### (四) 藥劑混合處理的統計分析

由藥劑混合處理之指數來顯示其協同效應 (Chou and Talalay, 1981)，以 WST-1 assay 所測得的細胞活性，來計算出混合處理之半抑制濃度指數 (CI<sub>50</sub>)，其計算公式為： $CI_{50} = Ct_{50}/ICt_{50} + Cr_{50}/ICr_{50}$ 。Ct<sub>50</sub> 和 Cr<sub>50</sub> 分別是丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇二者混合使用所達到 50% 細胞毒性效果時的濃度，而 ICt<sub>50</sub> 和 ICr<sub>50</sub> 是個別試劑所達到相同效果時的濃度 (與 IC<sub>50</sub> 相同)。CI<sub>50</sub> < 1、CI<sub>50</sub> = 1、CI<sub>50</sub> > 1 分別顯示為混合處理時的協同作用 (synergism)、加成作用 (additiveness) 以及拮抗作用 (antagonism)。分別計算出 CI 值，並從 0.1 to 0.80 的數值範圍 (10 - 80% 的生長抑制) 來繪圖。

#### (五) 流式細胞儀分析細胞週期與細胞凋亡

為進行細胞週期分析，以指數方式生長的 HepG2 細胞，以丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇以及二者混合物，以所需濃度分別處理，接著以輕柔方式清洗，將未附著在培養皿壁上的細胞除去。在藥物處理 6 至 24 小時後，收集細胞並放入 15 ml 試管中以 500 g 離心 5 分鐘。將細胞以冰冷的 PBS 清洗，並以 70% ethanol 在 -20°C 下固定 2 小時，隨後再用 PBS 清洗細胞，並以 200  $\mu$ g/ml RNase 和 500  $\mu$ l of propidium iodide (PI) (20  $\mu$ g/ml in stock) 在室溫下、黑暗中處理 30 分鐘。被 PI 染色的細胞以 BD FACSCalibur 流式細胞儀 (Flow Cytometry) 分析 (New

Jersey, USA)，並以 Cell Quest Pro software 分析細胞週期分佈(G0-G1, S and G2-M)。

檢測細胞凋亡的方法，是利用 Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (Strong Biotech Co., Taipei, Taiwan)將細胞染色而測得。將  $5 \times 10^6$  HepG2 細胞以 Annexin V- FITC 和 PI 在室溫、黑暗中染色 15 分鐘，染色後，用 BD FACSCalibur 流式細胞儀來計算細胞凋亡的數目，並以 Cell Quest Pro software 來進行數據分析而得到細胞週期的分佈(G0-G1, S and G2-M)。

#### (六) DNA 片段的測定

以不同濃度的丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇、及二者的混合物處理細胞 6 小時後收集細胞，使用 Easy Tissue & Cell Genomic DNA Purification Kit (GeneMark, Taipei, Taiwan)，根據廠商所提供之方法萃取 DNA。將 DNA 溶液以 2% agarose gel 進行分離，並以 ethidium bromide 染色。

## 結果與討論



### 一、當歸與丹參萃取物對腫瘤細胞的抑制效果

#### (一) 當歸與丹參不同萃取方式的有效成分含量

##### 1. 當歸的有效成分比較

利用不同的溶劑與溫度萃取當歸的有效成分阿魏酸與藁本內酯，其萃取條件如表 4-1。試驗結果，阿魏酸所萃取出的含量，以 80°C ethanol 的萃取條件可得最高含量為 2109.2  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，60°C ethanol 萃取者為 307.1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，60°C water 萃取者為 113.6  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，100°C water 萃取者為 36.8  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，而 80°C water 萃取者僅為 1.5  $\mu\text{g g}^{-1}$  (表 4-2)。使用不同的溶劑與萃取方式，所得到的阿魏酸含量會有很大的差異，過去的研究常使用 methanol 作為溶劑，或混合其他溶劑如 methanol-formic acid (95:5)，以浸泡、振盪等方式萃取當歸 (*A. sinensis*) 的阿魏酸，其含量在 0.211 - 1.17  $\text{mg g}^{-1}$ ，若使用 ethanol 作為溶劑，並以迴流裝置 (reflux) 或振盪方式，萃取阿魏酸含量在 0.468 - 1.02  $\text{mg g}^{-1}$  (Lu *et al.*, 2005)。在本研究的細胞試驗部分，為模擬一般藥膳的烹調方式，故以水或酒精加熱方式所得之萃取物來進行細胞試驗，較符合實際的烹調食用量。

藁本內酯所萃取出的含量，試驗結果以 80°C ethanol 的萃取條件可得最高含量為 6.2  $\text{mg g}^{-1}$ ，60°C ethanol 萃取者為 4.54  $\text{mg g}^{-1}$ ，但 60°C water、80°C water 及 100°C water 的萃取條件，均無法萃取出藁本內酯 (表 4-2)。由於藁本內酯為非水溶性之化合物，因此以 ethanol 作為溶劑使用才可萃取出藁本內酯成分。經過炮製後的當歸 (*A. sinensis*) 如酒炙法 (80°C 烘乾 90 分鐘)，證實可增強其藥理活性。

Chan *et al.* (2014) 分析中國生產當歸 (*A. sinensis*) 與韓國生產當歸 (*A. gigas*) 這二種常見的當歸藥材來源，也是利用熱水萃取方式得到 13 種常見的代謝產物，如阿魏酸、葡萄糖等成分，其採用熱水萃取方式也是為模擬一般煎煮藥材的方式，如此較能準確知道實際的食用量，並評估不同來源的藥材成分含量差異。

##### 2. 丹參的有效成分比較

利用不同的溶劑與溫度萃取丹參的有效成分丹參酚酸 B 與丹參酮 IIA，其萃取條件如表 4-1。試驗結果，丹參酚酸 B 所萃取出的含量，以 80°C ethanol 的萃

取條件可得最高含量為 133.5 mg g<sup>-1</sup>，60°C ethanol 萃取者為 41.1 mg g<sup>-1</sup>，100°C water 萃取者為 35.2 mg g<sup>-1</sup>，60°C water 萃取者為 27.6 mg g<sup>-1</sup>，而 80°C water 萃取者僅為 7.1 mg g<sup>-1</sup>（表 4-3）。

丹參酮 IIA 所萃取出之含量，試驗結果以 80°C ethanol 的萃取條件可得最高含量為 54.1 mg g<sup>-1</sup>，60°C ethanol 萃取者為 27.3 mg g<sup>-1</sup>，但 60°C water、80°C water 及 100°C water 的萃取條件，均無法萃取出丹參酮 IIA（表 4-3）。由於丹參酮 IIA 為非水溶性的化合物，因此以 ethanol 作為溶劑使用才可萃取出丹參酮 IIA。

## （二）當歸、丹參萃取物對抑制腫瘤細胞之影響

### 1. 當歸萃取物對抑制 50% 腫瘤細胞之影響

利用不同萃取條件所得之當歸萃取物，進行不同腫瘤細胞之 50% 抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) 試驗。試驗結果顯示，對不同腫瘤細胞的 50% 抑制濃度，水溶液萃取者大都比乙醇萃取者所需的濃度為高，即以乙醇萃取者對抑制腫瘤細胞的效果較好，且以 80°C ethanol 之萃取物有最佳的抑制效果（表 4-4）。在不同腫瘤細胞上，當歸不同萃取條件所得之萃取物，對 MCF-7 乳癌細胞抑制效果最好，其 IC<sub>50</sub> 濃度在 0.8 - 3.42 mg ml<sup>-1</sup> 之間；對 MSG2 肝癌細胞抑制效果次之，其 IC<sub>50</sub> 濃度在 3.27 - 11.5 mg ml<sup>-1</sup> 之間；對 A549 腫瘤細胞抑制效果最差，其 IC<sub>50</sub> 濃度在 2.07 - 49.68 mg ml<sup>-1</sup> 之間。

### 2. 丹參萃取物對抑制 50% 腫瘤細胞之影響

利用不同萃取條件所得之丹參萃取物，進行不同腫瘤細胞之 50% 抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) 試驗。試驗結果顯示，對不同腫瘤細胞的 50% 抑制濃度，水溶液萃取者大都比乙醇萃取者所需的濃度為高，即以乙醇萃取者對抑制腫瘤細胞的效果較好，且以 80°C ethanol 之萃取物有最佳的抑制效果（表 4-5）。在不同腫瘤細胞上，丹參不同萃取條件所得之萃取物，對 MCF-7 乳癌細胞抑制效果最好，其 IC<sub>50</sub> 濃度在 0.017 - 1.67 mg ml<sup>-1</sup> 之間；對 MSG2 肝癌細胞抑制效果次之，其 IC<sub>50</sub> 濃度在 0.018 - 5 mg ml<sup>-1</sup> 之間；對 A549 腫瘤細胞抑制效果最差，其 IC<sub>50</sub> 濃度在 0.03 - 18.37 mg ml<sup>-1</sup> 之間。

### 3. 丹參、當歸不同萃取物與濃度對抑制腫瘤細胞之影響

為瞭解當歸與丹參的不同萃取物對有抑制腫瘤細胞之效應，以 A cell 與 MSG-2 腫瘤細胞進行抑制腫瘤細胞之效應試驗，試驗結果以丹參萃取物的抑制效果(圖 4-3、圖 4-4)較當歸萃取物為佳(圖 4-5、4-6)，所需的濃度較低；其中又以 60°C ethanol (表 4-1；code D)與 80°C ethanol (表 4-1；code E)萃取條件所得的丹參萃取物，僅需低濃度的萃取物濃度處理對抑制 A cell(圖 4-3)與 MSG-2 腫瘤細胞(圖 4-4)有很好的效果。

### 4. 丹參、當歸及順鉑之聯用對抑制腫瘤細胞之效應

為瞭解丹參、當歸萃取物及順鉑之間的聯用效應，分別以當歸加丹參、當歸加順鉑、以及丹參加順鉑等三種處理對抑制不同腫瘤細胞之協同效應進行探討。試驗結果，當歸加丹參的萃取物處理對抑制腫瘤細胞雖有協同效應，但抑制效果較差，腫瘤細胞之存活率為 60.1% (圖 4-7)。以當歸加順鉑的萃取物處理對抑制腫瘤細胞之協同效應，當歸萃取物濃度至 229 µg/ml 加上順鉑 1 µg/ml 時對抑制腫瘤細胞之效果才開始顯現，當當歸萃取物濃度至 457 µg/ml 時，腫瘤細胞之存活率為 10.9%，達到較明顯的抑制效果 (圖 4-8)。以丹參加順鉑處理對抑制腫瘤細胞之處理有協同效應，丹參萃取物濃度至 2 µg/ml 加上順鉑 0.2 µg/ml 時對抑制腫瘤細胞之效果即開始顯現，丹參萃取物濃度至 5 µg/ml、順鉑 0.5 µg/ml 時，已達到明顯抑制效果，丹參萃取物濃度至 20 µg/ml、順鉑 2 µg/ml 時，腫瘤細胞之存活率為 0.69%，已接近 0 (圖 4-9)。

綜合試驗結果顯示，以 80°C ethanol 處理所得到的萃取物加上順鉑的組合，對抑制腫瘤細胞的效果最佳，以丹參萃取物配合順鉑進行處理，不僅可提升抑制腫瘤細胞之效果，並可使順鉑的劑量降低，對需以化療藥物治療之患者而言，可減少化療藥物對人體之副作用。以當歸萃取物加上順鉑之處理組合，對抑制腫瘤細胞的協同作用次之，而以當歸與丹參二種萃取物組合對抑制腫瘤細胞協同效應最差，但這些粗萃物對抑制腫瘤細胞的作用機制為何，必須更進一步進行探討。

## 二、丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇對抑制人類肝癌細胞株 HepG2 的協同效應可改善順鉑藥物之副作用

### (一) 丹參酮 IIA 與反式白藜蘆醇混合處理對細胞毒性之協同作用



當歸、丹參的萃取物的聯用對抑制腫瘤細胞有協同作用，提供我們對天然物之聯用有更進一步的興趣與研究，而天然物之粗萃物對抑制腫瘤細胞雖有效果，但何種有效生理成分及其抑制腫瘤細胞的可能機制，則須更進一步進行探討。

根據研究，丹參酮對多種癌細胞具有抑制或毒殺性，反式白藜蘆醇亦具有抗癌作用，故以丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇二種天然化合物以及用於化療藥物順鉑(cisplatin)進行各項試驗，對人類肝癌細胞株 HepG2 的細胞毒性進行探討。試驗分別以 WST-1 細胞毒性測定法(Ngamwongsatit *et al.*, 2008)，逐漸增加濃度從 2  $\mu\text{g/ml}$  到 40  $\mu\text{g/ml}$ ，並持續以 12 小時的時間間隔，處理 24 至 48 小時，如在材料和方法中所述。結果顯示，所有化合物所表現的抗增殖作用(anti-proliferative effects)具有濃度依賴性(數據未列出)，為測量藥劑在試管內的抗癌活性，計算出其相應的半抑制濃度 ( $\text{IC}_{50}$  值)，結果列於表 4-6。結果顯示，丹參酮 IIA 對抑制細胞生長具有時間依賴性，反式白藜蘆醇亦有類似的效果。已知順鉑為有效的化療藥物，在處理 24 小時後  $\text{IC}_{50}$  值為  $35.92 \pm 2.14 \mu\text{g/ml}$  表現出抗癌活性，而在處理時間增加到 36 小時，其  $\text{IC}_{50}$  值則降至  $11.46 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ ，其後的變化則不大。丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇所表現出的細胞毒性明顯不同，但在不同處理時間上皆低於順鉑之效果(數據未列出)，為提升這二種植物防禦素的功效，將丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇做不同濃度組合，以 1/2 : 1/2 的比例和 1/3 : 2/3 的比例(w/v)進行平行實驗，並檢測其抑制效果，由  $\text{IC}_{50}$  數值顯示，混合處理後的效果明顯不同，而且在所有的處理時間上，皆比單獨藥劑處理更能有效抑制細胞的生長。以 1/2 : 1/2 和 1/3 : 2/3 (w/v)二種混合比例處理皆表現出協同作用( $\text{CI}_{50} < 1$ )，而 1/3 : 2/3 (w/v) 混合比例所表現出的協同作用更強(表 4-7)。

因此將二種不同混合比例的組合效果分別與順鉑做比較，結果顯示在 1/2 : 1/2 處理 48 小時、以及 1/3 : 2/3 處理 24 和 48 小時，與順鉑有類似的  $\text{IC}_{50}$  值，表示丹參酮 IIA 與反式白藜蘆醇的協同作用與順鉑有類似的效果。

## (二) 細胞週期停止證實合併藥物處理的協同效應

鑑於丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇混合處理對抗腫瘤活性有顯著的療效，進行以下試驗了解這二種天然化合物如何引起細胞生物的相關協同毒殺作用。丹參

酮 IIA、反式白藜蘆醇以及二者混合處理，以相同濃度 (5  $\mu\text{g/ml}$ ) 處理 HepG2 細胞，丹參酮 IIA 與反式白藜蘆醇二者混合處理對 HepG2 細胞有明顯的抑制效果 (圖 4-11)。每一種天然化合物以相同濃度 (5  $\mu\text{g/ml}$ ) 處理細胞 12 和 24 小時，之後以 PI 將 DNA 染色，利用流式細胞儀分析細胞週期的進程，結果顯示這二種天然化合物對細胞週期的進程有兩個方面的不同影響 (圖 4-12)。首先，丹參酮 IIA 處理後的細胞主要累積在 sub-G1 時期，分別處理 12 和 24 小時為 27.80% 和 41.26%，相對的於反式白藜蘆醇為 2.62% 和 14.66%，與不使用天然化合物處理之對照組 3.79% 和 1.76% 做比較。在雙藥劑處理後，與理論值 (26.63% 和 54.16%) 比較，可觀察到更多部分的 sub-G1 期細胞 (51.66% 和 83.67%)，這些類似協同作用的結果與 WST-1 assay 所得的細胞毒殺之協同效應一致。

反式白藜蘆醇在處理 12 小時後，使細胞週期停滯在 G2/M 期和 S 期，而丹參酮 IIA 則非如此，反式白藜蘆醇得到 26.43% (G2/M) 和 20.08% (S)，相對於所對應的對照組 17.85% (G2/M) 和 15.31% (S)。在 24 小時處理之後，反式白藜蘆醇使細胞週期 20.20% 停止在 S 期，相較於對照組 11.19% (圖 4-12)。

### (三) 早期的細胞凋亡證實合併藥物處理的協同效應

為進一步研究處理藥劑後的 non-sub-G1 時期的細胞，以 FITC Annexin V 和 PI 染色進行流式細胞儀的分析，可從活細胞 (negative for both Annexin V and PI) 中區分出早期凋亡 (Annexin positive/ PI negative cells)、早期壞死 (Annexin negative/PI positive cells) 以及一群混合晚期凋亡和壞死之細胞 (positive for both of Annexin V and PI)，結果顯示 (圖 4-13)，處理 12 和 24 小時後的凋亡細胞比上述其他兩種受損的細胞更明顯，此外，從混合處理之角度來研究這群細胞，發現雙重藥物處理得到 40.12% 的細胞凋亡率，明顯超過理論值 (23.19%)，此結果又再次與 WST-1 assay 所得的細胞毒殺之協同效應一致。在處理 24 小時後，細胞凋亡率 (17.59%) 接近理論值 (19.26%)，很可能是因為在較長的時間處理後，因為協同效應讓很多凋亡細胞無法探測到亞細胞進程。

#### (四) 後期的細胞凋亡與細胞壞死證實合併藥物處理的協同效應

以瓊脂糖凝膠電泳法來研究 DNA 片段，可看出細胞死亡後期的跡象 (Collins *et al.*, 1997)，並包括所處理細胞的 sub-G1 群。以丹參酮 IIA 處理的細胞，在前面 6 小時的 DNA 主要呈現出細胞壞死的模糊型態，而以反式白藜蘆醇處理者，呈現出明顯的細胞凋亡梯狀形態。在混合使用這二種藥劑處理後，則出現更密集的梯狀形態 (圖 4-14)。此結果似乎更進一步證實以 WST-1 assay 所得到的協同效應。

目前的初步研究顯示，證明丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇的混合處理對 HepG2 細胞的生長抑制效果，可達到與順鉑藥物相同的細胞毒性效果。這二種天然化合物毒殺癌細胞的方式不同，丹參酮 IIA 使細胞週期停止在 sub-G1 期，而反式白藜蘆醇則是 G2 / M 期。在初期，二種藥劑皆刺激細胞凋亡，但丹參酮 IIA 的效果更明顯；在後期，丹參酮 IIA 傾向使細胞壞死，而反式白藜蘆醇則是更多的細胞凋亡；而結合這二種藥劑處理，可促進細胞凋亡、細胞週期停止在 sub-G1 期、以及 DNA 斷裂。正如 Pinto *et al.* (2011) 研究指出，組合性化療的一般原理，已被歸因於藥物成分的特性，以及不同的作用機制。在此基礎上，至少在細胞毒素活性方面而言，這模式提供一種方法，就是評估以天然化合物聯合治療策略之應用性。

## 結論

許多研究都試圖提高單一生理活性成分之功效，來防止癌細胞的生長及其相關的作用機制，但很少以植物化合物來組合應用，例如本研究是以丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇這二種天然化合物聯用，來研究其對腫瘤細胞的抑制效果。就我們所知，丹參酮 IIA 與其他任何的天然化合物的組合研究尚未被探索，而本研究提供重要證據，希望對未來進行臨床研究及可能抗癌藥物組合之開發，有所助益。

本研究顯示，當歸及丹參萃取物可有效抑制肝癌、乳癌等腫瘤細胞，並進一步證實丹參酮 IIA 和反式白藜蘆醇的協同作用，可有效抑制人類肝腫瘤細胞 HepG2 的生長，達到與化療藥物順鉑相同的細胞毒性效果，促進人類肝腫瘤細胞 HepG2 產生細胞凋亡、細胞週期停止在 sub-G1 期以及 DNA 斷裂，透過流式細胞儀和 DNA 片段型態可知細胞損傷之情形，證實化合物間的組合性協同作用。

## 參考文獻



- 汪芸。2010。丹酚酸B對心腦血管疾病藥理作用的研究進展 35: 4634-4637。
- 張欣、張蒲蓉、陳潔、呂青。2010。丹參酮AⅡ對乳腺癌抑制作用的體內實驗研究 四川大學學報(醫學版) 41(1): 62-67。
- 湛月娥。2007。丹酚酸B藥理作用的研究進展。華南國防醫學雜誌 21(2): 37-41。
- 黃光琦、袁淑蘭、周宏遠。1996。丹參酮誘導人宮頸癌ME180細胞的分化。中國藥理學與毒理學雜誌 10(4): 285-289。
- Amiri F., A. H. Zarnani, H. Zand, F. Koohdani, M. Jeddi-Tehrani and M. Vafa. 2013. Synergistic anti-proliferative effect of resveratrol and etoposide on human hepatocellular and colon cancer cell lines. *Eur J Pharmacol.* 718: 34-40.
- Bai Y., Q. Q. Mao, J. Qin, X. Y. Zheng, Y. B. Wang, K. Yang, H. F. Shen and L. P. Xie. 2010. Resveratrol induces apoptosis and cell cycle arrest of human T24 bladder cancer cells in vitro and inhibits tumor growth in vivo. *Cancer Sci.* 101: 488-493.
- Bergsland E. K. and A. P. Venook. 2000. Hepatocellular carcinoma. *Curr. Opin. Oncol.* 12: 357-361.
- Brenes O., F. Arce, O. Gatjens-Boniche and C. Diaz. 2007. Characterization of cell death events induced by anti-neoplastic drugs cisplatin, paclitaxel and 5-fluorouracil on human hepatoma cell lines: Possible mechanisms of cell resistance. *Biomed. Pharmacother.* 61: 347-355.
- Chan P. H., W. L. Zhang, C. H. Lau, C. Y. Cheung, H. C. Keun, K. W. K. Tsim and H. Lam. 2014. Metabonomic Analysis of Water Extracts from Different *Angelica* Roots by <sup>1</sup>H-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Molecules* 19(3): 3460-3470.
- Chen J., D. Y. Shi, S. L. Liu and L. Zhong. 2012. Tanshinone IIA induces growth inhibition and apoptosis in gastric cancer in vitro and in vivo. *Oncol. Rep.* 27: 523-528.
- Collins J. A., C. A. Schandi, K. K. Young, J. Vesely and M. C. Willingham. 1997. Major DNA fragmentation is a late event in apoptosis. *J. Histochem. Cytochem.* 45: 923-934.
- Du Q., B. Hu, H. M. An, K. P. Shen, L. Xu, S. Deng and M. M. Wei. 2013. Synergistic anticancer effects of curcumin and resveratrol in Hepa1-6 hepatocellular carcinoma cells. *Oncol. Rep.* 29: 1851-1858.

- Ferlay J., I. Soerjomataram, M. Ervik, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D. Parkin, D. Forman and F. Bray. 2013. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide. In: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer: Available from <http://globocan.iarc.fr> . Accessed December 12.
- Hou L. .L, Q. J. Xu, G. Q. Hu and S. Q. Xie. 2013. Synergistic antitumor effects of tanshinone II A in combination with cisplatin via apoptosis in the prostate cancer cells. *Yao Xue Xue Bao* 48: 675-679.
- Hsieh T. C. and J. M. Wu. 2008. Suppression of cell proliferation and gene expression by combinatorial synergy of EGCG, resveratrol and gamma-tocotrienol in estrogen receptor-positive MCF-7 breast cancer cells. *Int. J. Oncol.* 33: 851-859.
- Jemal A., F. Bray, M. M. Cente, J. Ferlay, E. Ward and D. Forman. 2011. Global cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* 61: 69-90.
- Jiao J. W. and F. Wen. 2011. Tanshinone IIA acts via p38 MAPK to induce apoptosis and the down-regulation of ERCC1 and lung-resistance protein in cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Oncol. Rep.* 25: 781-788.
- Jung J. H., T. R. Kwon, S. J. Jeong, E. O. Kim, E. J. Sohn, M. Yun and S. H. Kim. 2013. Apoptosis induced by tanshinone IIA and cryptotanshinone is mediated by distinct JAK/STAT3/5 and SHP1/2 signaling in chronic myeloid leukemia K562 cells. *Evid. Based Complement Alternat Med.* 2013: 805639.  
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/805639>
- Kai L. and A. S. 2011. Levenson AS: Combination of resveratrol and antiandrogen flutamide has synergistic effect on androgen receptor inhibition in prostate cancer cells. *Anticancer Res.* 31: 3323-3330.
- Lee, C. Y., H. F. Sher, H. W. Chen, C. C. Liu, C. H. Chen, C. S. Lin, P. C. Yang, H. S. Tsay and J. J. Chen. 2008. Anticancer effects of tanshinone I in human non-small cell lung cancer. *Mol. Cancer Ther.* 7: 3527-3538.
- Lee Y. J., J. H. Im, S. Y. Won, Y. B. Kim, M. K. Cho, H. S. Nam, Y. J. Choi and S. H. Lee. 2013. Synergistic anti-cancer effects of resveratrol and chemotherapeutic agent clofarabine against human malignant mesothelioma MSTO-211H cells. *Food Chem. Toxicol.* 52: 61-68.

- Liang, Y., Y. Yang, S. Yuan, T. Liu, Y. Jia, C. Xu, T. Niu, H. Qin and P. Qin. 2000. Terminal differentiation of human acute promyelocytic leukemia (APL) cells induced by Tanshinone II A in primary culture. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao* 31: 207-210.
- Lu G. H., K. Chan, K. Leung, C. L. Chan, Z. Z. Zhao, and Z. H. Jiang. 2005. Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis*. *J. Chromatogr. A*. 1068:209-219.
- Ngamwongsatit P, P. P. Banada, W. Panbangred W, A. K. and Bhunia. 2008. WST-1-based cell cytotoxicity assay as a substitute for MTT-based assay for rapid detection of toxigenic *Bacillus* species using CHO cell line. *J. Microbiol. Methods* 73: 211-215.
- Osman A.M., H. M. Bayoumi, S. E. Al-Harthi, Z. A. Damanhoury and M. F. Elshal. 2012. Modulation of doxorubicin cytotoxicity by resveratrol in a human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int.* 12: 47.
- Osmond G. W., E. M. Masko, D. S. Tyler, S. J. Freedland and S. Pizzo. 2013. In vitro and in vivo evaluation of resveratrol and 3,5-dihydroxy-4'-acetoxy-trans-stilbene in the treatment of human prostate carcinoma and melanoma. *J. Surg. Res.* 179: 141-148.
- Parkin D. M., F. Bray, J. Ferlay and P. Pisani. 2005. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J. Clin.* 55: 74-108.
- Pinto A. C., J. N. Moreira and S. Simões. 2011. Current cancer treatment - Novel beyond conventional approaches. In: *Combination chemotherapy in cancer: Principles, Evaluation and Drug Delivery Strategies* (Ozdemir PO ed.), pp. 693-715.
- Siedlecka-Kroplewska K., A. Jozwik, W. Boguslawski, M. Wozniak, A. Zauszkiewicz-Pawlak, J. H. Spodnik, M. Rychlowski and Z. Kmiec. 2013. Pterostilbene induces accumulation of autophagic vacuoles followed by cell death in HL60 human leukemia cells. *J. Physiol. Pharmacol.* 64: 545-556.
- Su C. C. 2012. Tanshinone IIA potentiates the efficacy of 5-FU in Colo205 colon cancer cells in vivo through downregulation of P-gp and LC3-II. *Exp. Ther. Med.* 3: 555-559.
- Su, C. C., G. W. Chen, J. C. Kang and M. H. Chan. 2008. Growth inhibition and apoptosis induction by tanshinone IIA in human colon adenocarcinoma cells. *Planta Med.* 74: 1357-1362.
- Sung, H. J., S. M. Choi, Y. Yoon and K. S. An. 1999. Tanshinone IIA, an ingredient of *Salvia miltiorrhiza* BUNGE, induces apoptosis in human leukemia cell lines through the

- activation of caspase-3. *Exp. Mol. Med.* 31: 174-178.
- Tang, Z. Z., Y. Tang and L. B. Fu. 2003a. Growth inhibition and apoptosis induction in human hepatoma cells by tanshinone II A. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 23: 166-172.
- Tang, Z. Z., Y. Tang and L. B. Fu. 2003b. Effect of tanshinone IIA on the growth behavior of human hepatoma cell line BEL-7402 in vitro and its mechanism. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 23: 595-601.
- Wang, X., S. Yuan and C. Wang. 1996a. A preliminary study of the anti-cancer effect of tanshinone on hepatic carcinoma and its mechanism of action in mice. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 18:412-414.
- Wang, X., S. Yuan, R. Huang and Y. Song. 1996b. An observation of the effect of tanshinone on cancer cell proliferation by Brdu and PCNA labeling. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao* 27: 388-391.
- Wang, X., Y. Wei, S. Yuan, G. Liu, Y. Lu, J. Zhang and W. Wang. 2005. Potential anticancer activity of tanshinone IIA against human breast cancer. *Int. J. Cancer.* 116: 799-807.
- Wang, Z. Y. 2003. Ham-Wasserman lecture: treatment of acute leukemia by inducing differentiation and apoptosis. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 1-13.
- Wu, Y., Y. Yang, W. Meng, Y. Li, Y. Jia and T. Liu. 2002. Study on the differentiation of K562 cell-line induced by Tanshinone II A. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao* 33: 80-83.
- Yin H. T., Q. Z. Tian, L. Guan, Y. Zhou, X. E. Huang and H. Zhang. 2013. In vitro and in vivo evaluation of the antitumor efficiency of resveratrol against lung cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 14: 1703-1706.
- Yoon, Y., Y. O. Kim, W. K. Jeon, H. J. Park and H. J. Sung. 1999. Tanshinone IIA isolated from *Salvia miltiorrhiza* BUNGE induced apoptosis in HL60 human premyelocytic leukemia cell line. *J. Ethnopharmacol.* 68: 121-127.
- Yuan, S. L., Y. Q. Wei, X. J. Wang, F. Xiao, S. F. Li and J. Zhang. 2004. Growth inhibition and apoptosis induction of tanshinone II-A on human hepatocellular carcinoma cells. *World J. Gastroenterol.* 10: 2024-2028.
- Yuan, S., Y. Wang, X. Chen, Y. Song and Y. Yang. 2002. A study on apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cell line induced by Tanshinone II A and its molecular mechanism. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao* 33: 84-90.



- Yun S. M., S. J. Jeong, J. H. Kim, J. H. Jung, H. J. Lee, E. J. Sohn, M. H. Lee and S. H. Kim. 2013. Activation of c-Jun N-terminal kinase mediates tanshinone IIA-induced apoptosis in KBM-5 chronic myeloid leukemia cells. *Biol. Pharm. Bull.* 36: 208-214.
- Zhang G., Y. M. Yang, W. T. Meng and J. Zhou. 2010. Apoptosis of NB4 cells induced by Tanshinone II A combined with arsenic trioxide. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 41: 57-61.
- Zhong, Z. H., W. G. Chen, Y. H. Liu, Q. X. Li and Y. Qiu. 2007. Inhibition of cell growth and induction of apoptosis in human hepatoma cell line HepG2 by tanshione IIA. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*: 32: 99-103.

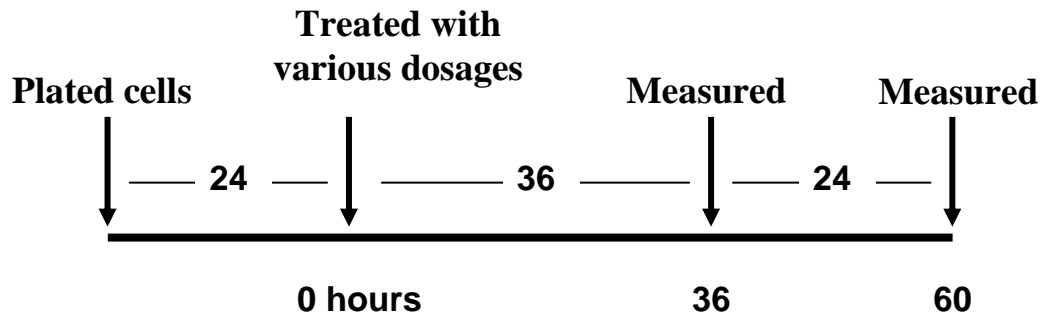


圖 4-1、當歸、丹參萃取物抑制腫瘤細胞試驗

Fig. 4-1. The experiment process of *A. acutiloba* and *S. miltiorrhiza* extract on tumor cells.

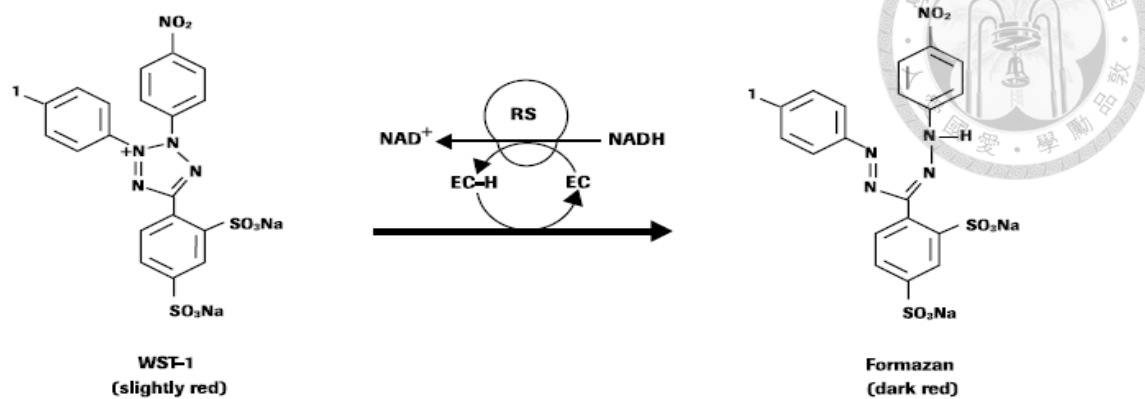


圖 4-2、WST-1 assay 試驗流程圖

Fig. 4-2. The protocol of WST-1 assay.

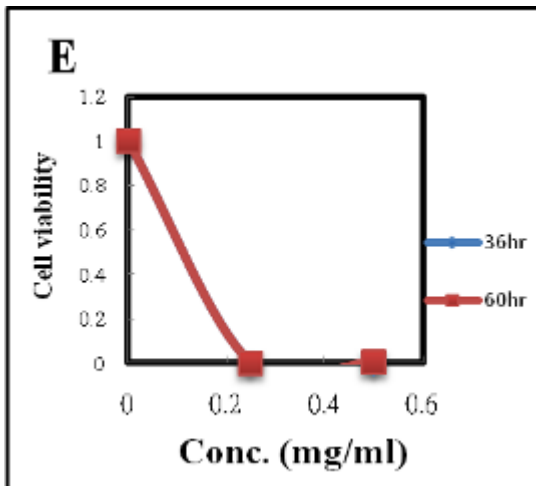
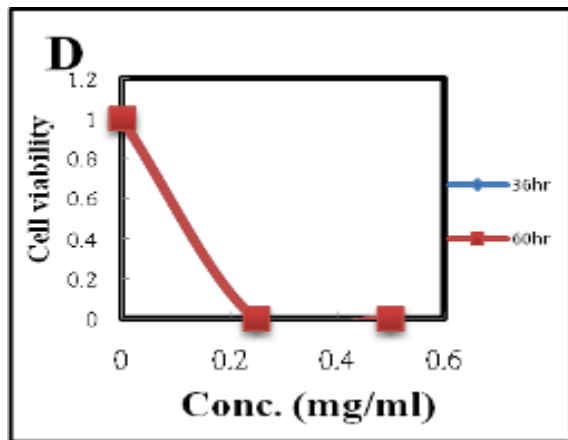
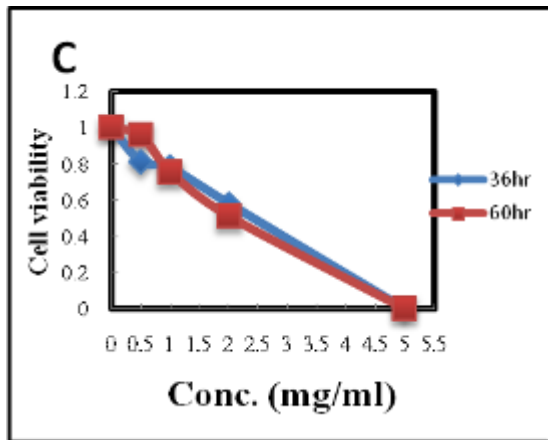
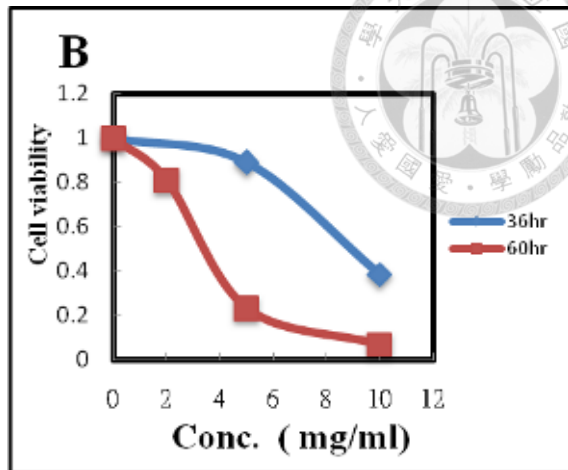
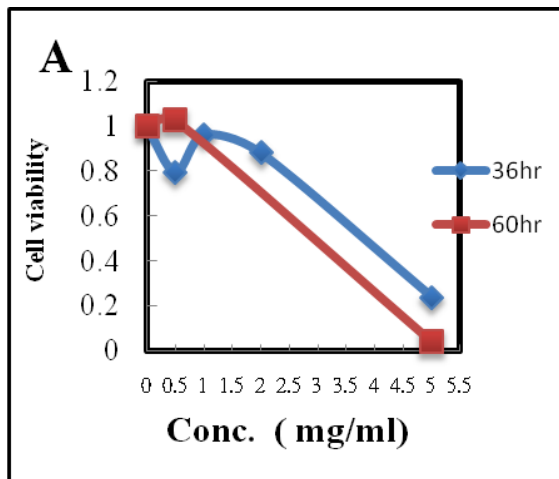


圖 4-3、丹參不同萃取物與濃度對抑制 A cell 腫瘤細胞之比較  
 Fig. 4-3. The inhibitory effect of *S. miltiorrhiza* extract on A cells.

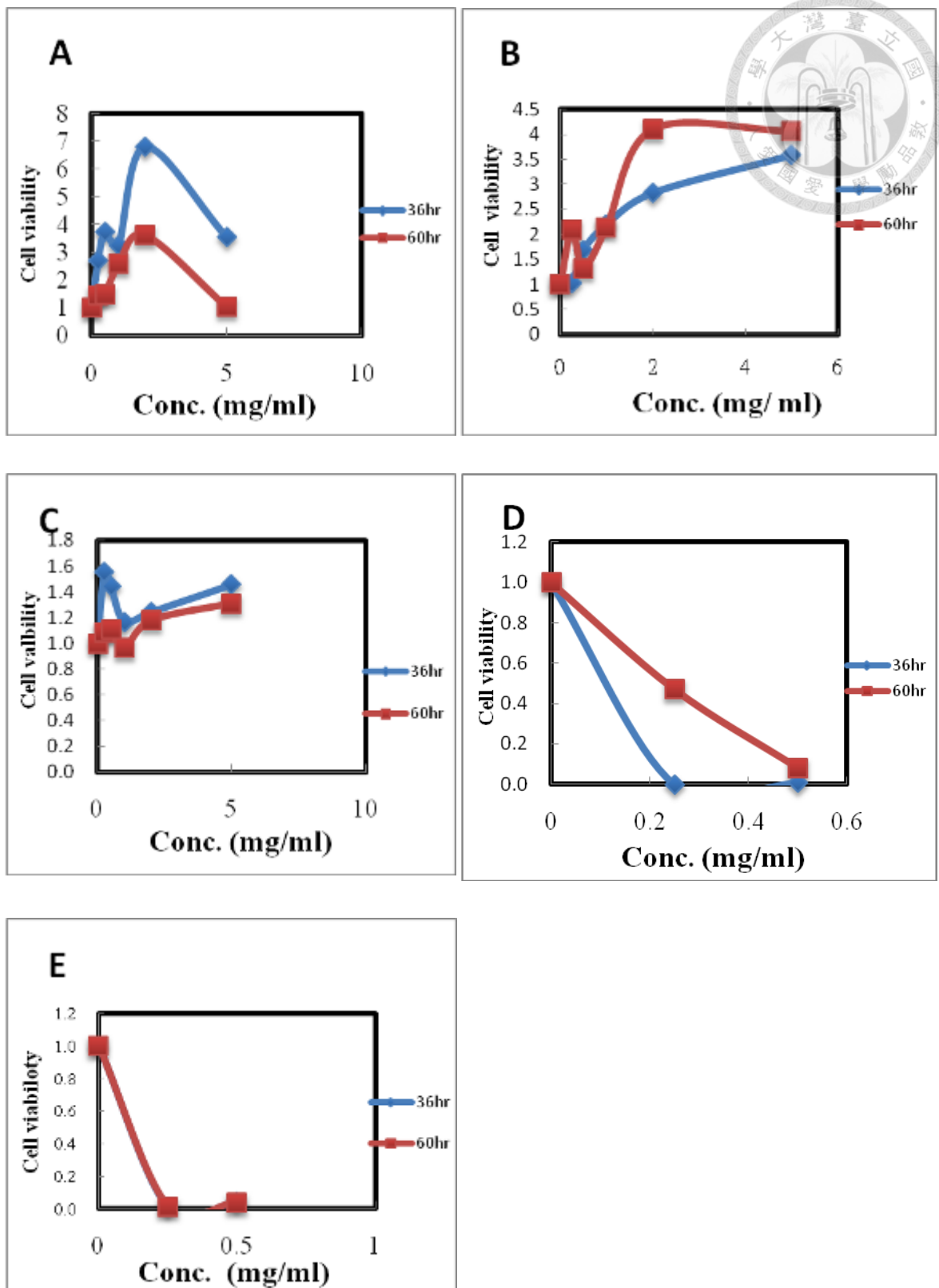


圖 4-4、丹參不同萃取物與濃度對抑制 MSG-2 腫瘤細胞之比較  
 Fig. 4-4. The inhibitory effect of *S. miltiorrhiza* extract on MSG-2 cells.

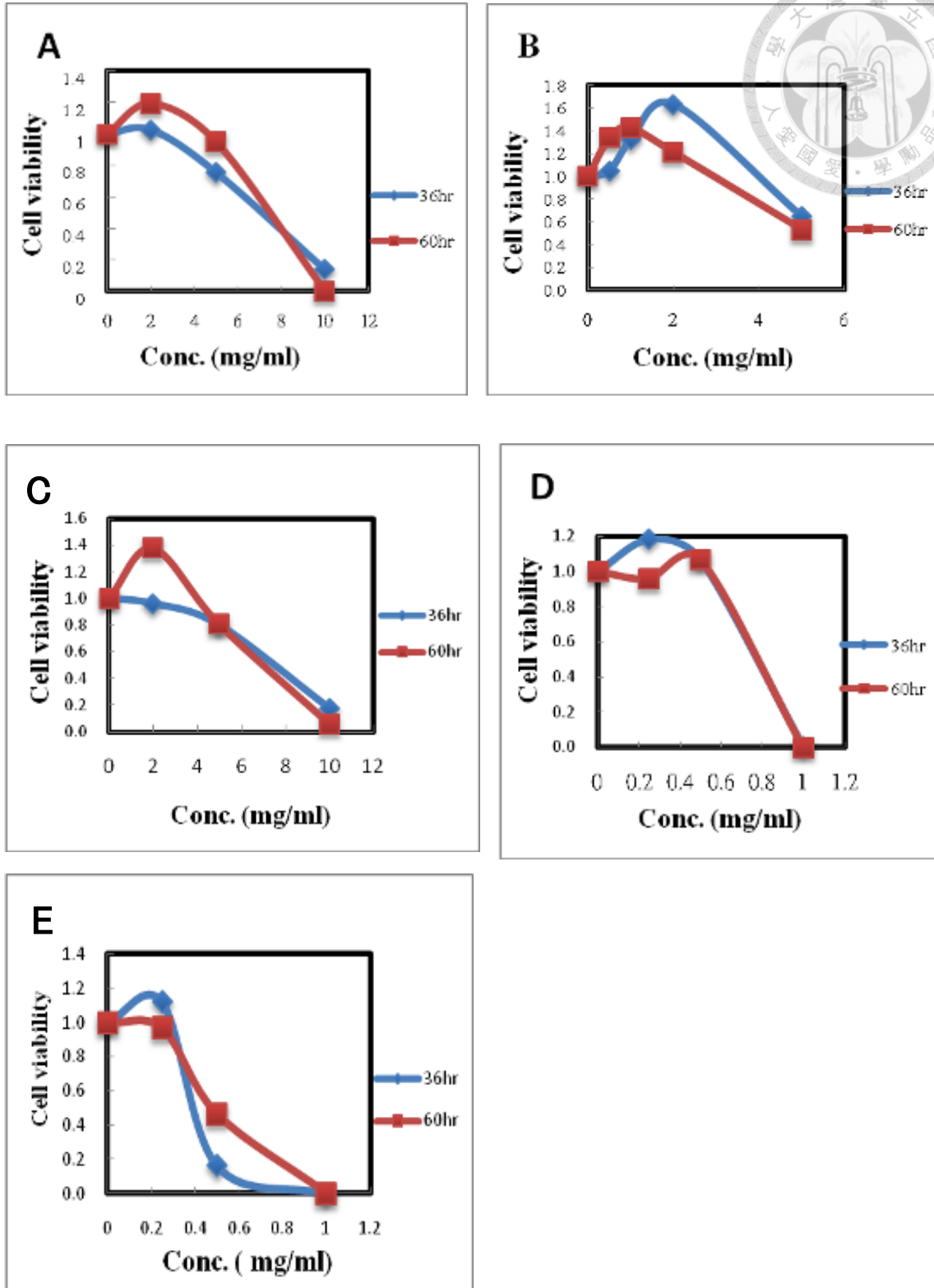


圖 4-5、當歸不同萃取物與濃度對抑制 A cell 腫瘤細胞之比較  
 Fig. 4-5. The inhibitory effect of *A. acutiloba* extract on A cells.

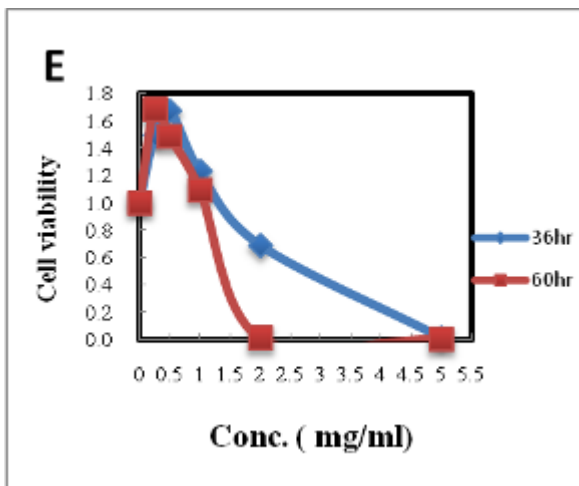
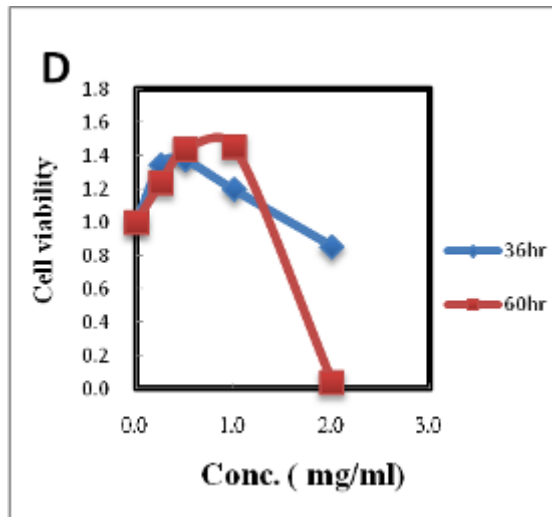
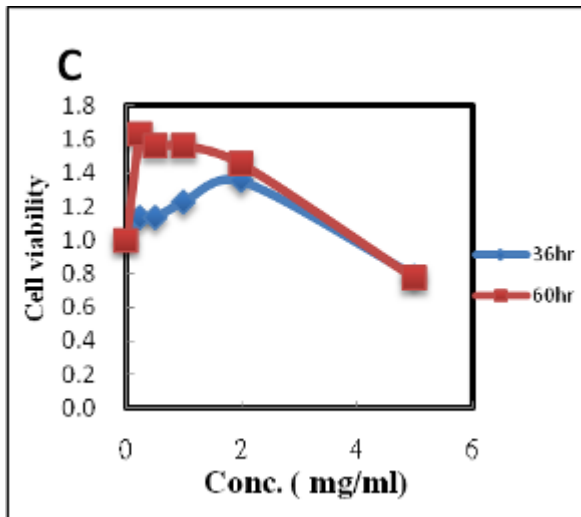
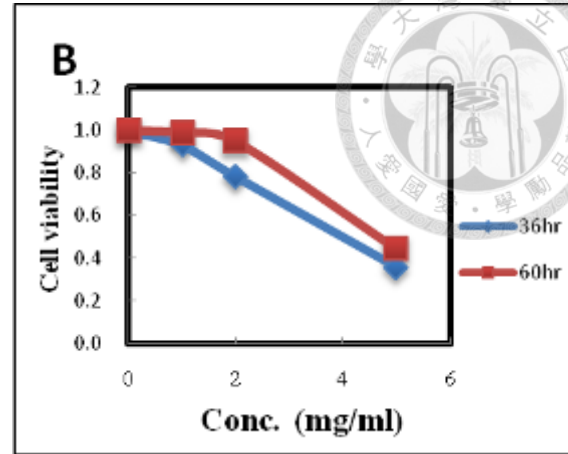
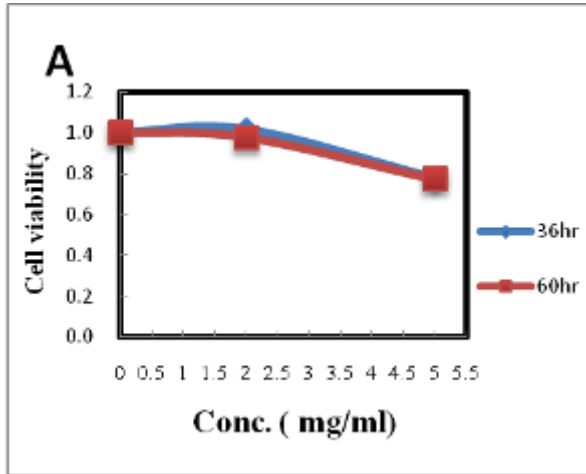
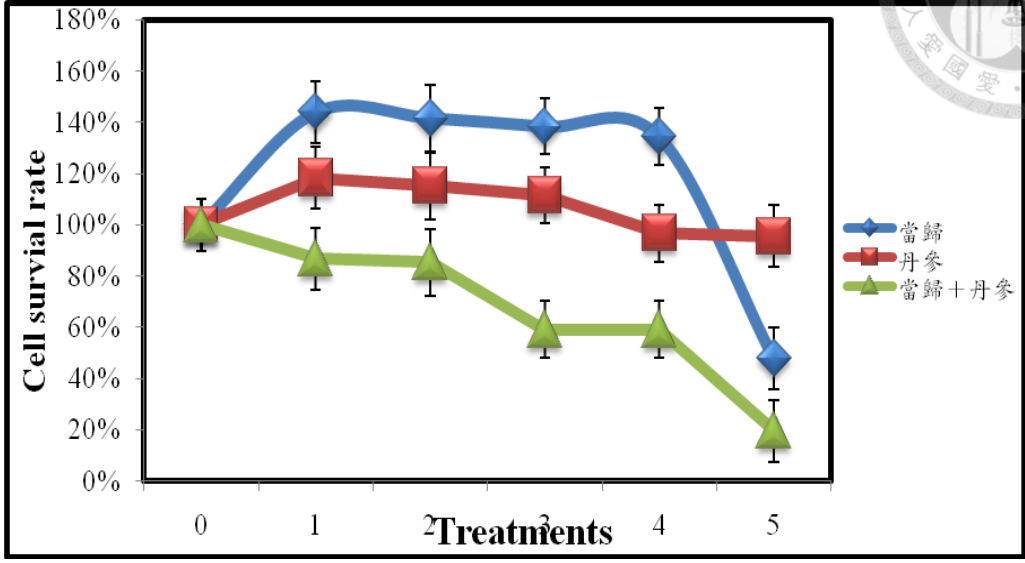


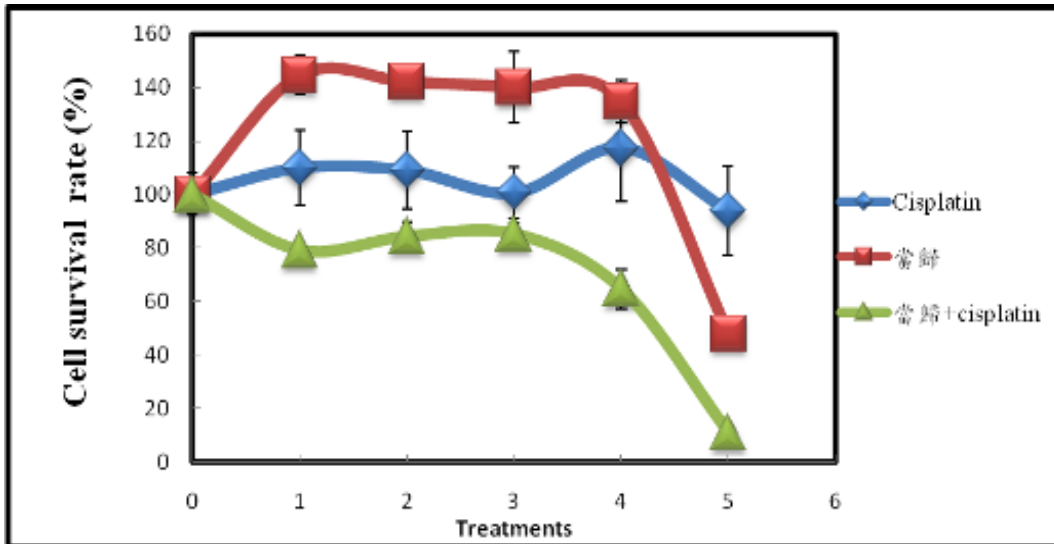
圖 4-6、當歸不同萃取物與濃度對抑制 MSG-2 腫瘤細胞之比較  
 Fig. 4-6. The coparison on the different extractions and concentration of inhibited the MSG-2 cells in *A. acutiloba*.



Treatment	0	1	2	3	4	5	
當歸	0	28.6	57.1	114	229	457	μg/ml
丹參	0	2	5	10	20	40	μg/ml

圖 4-7、丹參與當歸萃取物聯合使用 60 小時對肝癌細胞 HepG2 之抑制情形  
 Fig. 4-7. The combination effect of Salvia and Angelica extract on HepG2 cells at 60 hrs.

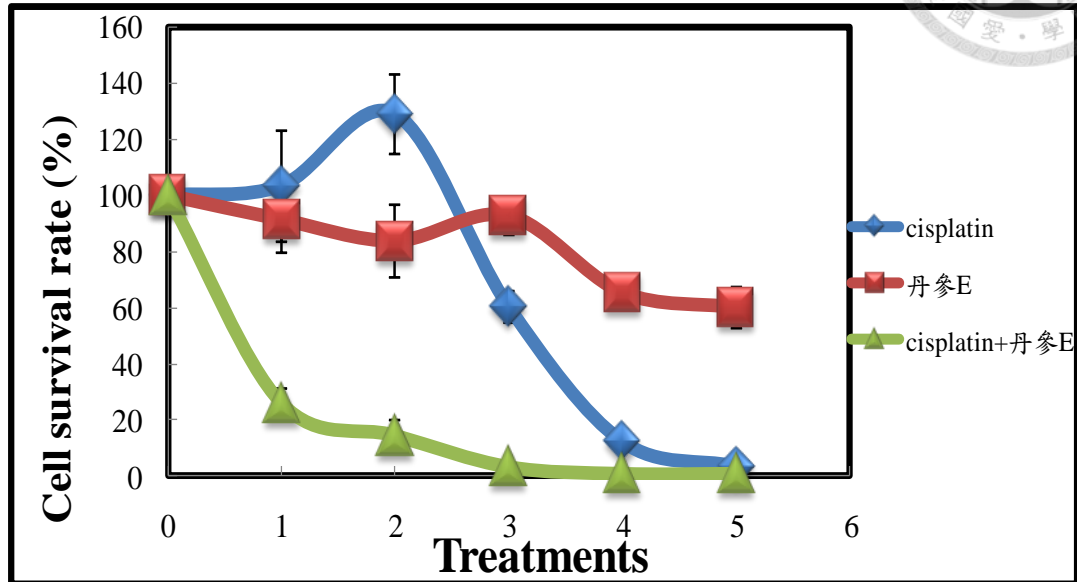




Treatment	0	1	2	3	4	5	
當歸	0	28.6	57.1	114	229	457	μg/ml
Cisplatin	0	1	1	1	1	1	μg/ml

圖 4-8、當歸萃取物與 cisplatin 聯合使用 60 小時對肝癌細胞 HepG2 之抑制情形

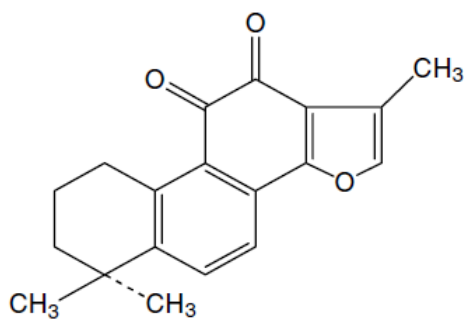
Fig. 4-8. The combination effect of Angelica extract and cisplatin on HepG2 cells at 60 hrs.



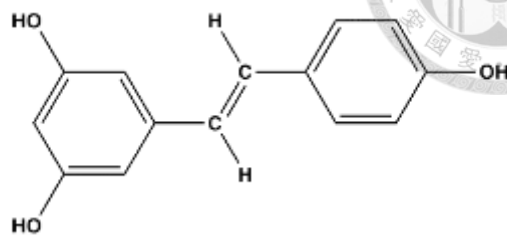
Treatment	0	1	2	3	4	5	
丹參E	0	2	5	10	20	40	μg/ml
Cisplatin	0	0.2	0.5	1	2	5	μg/ml

圖 4-9、丹參萃取物與 cisplatin 聯合使用 60 小時對肝癌細胞 MSG2 之抑制情形

Fig. 4-9. The combination effect of Salvia extract and cisplatin on MSG2 cells at 60 hrs.



Tanshinone IIA



Resveratrol

圖 4-10、丹參酮 IIA 與白藜蘆醇的化學構造式  
Fig. 4-10. Chemical structure of resveratrol and tanshinone IIA.

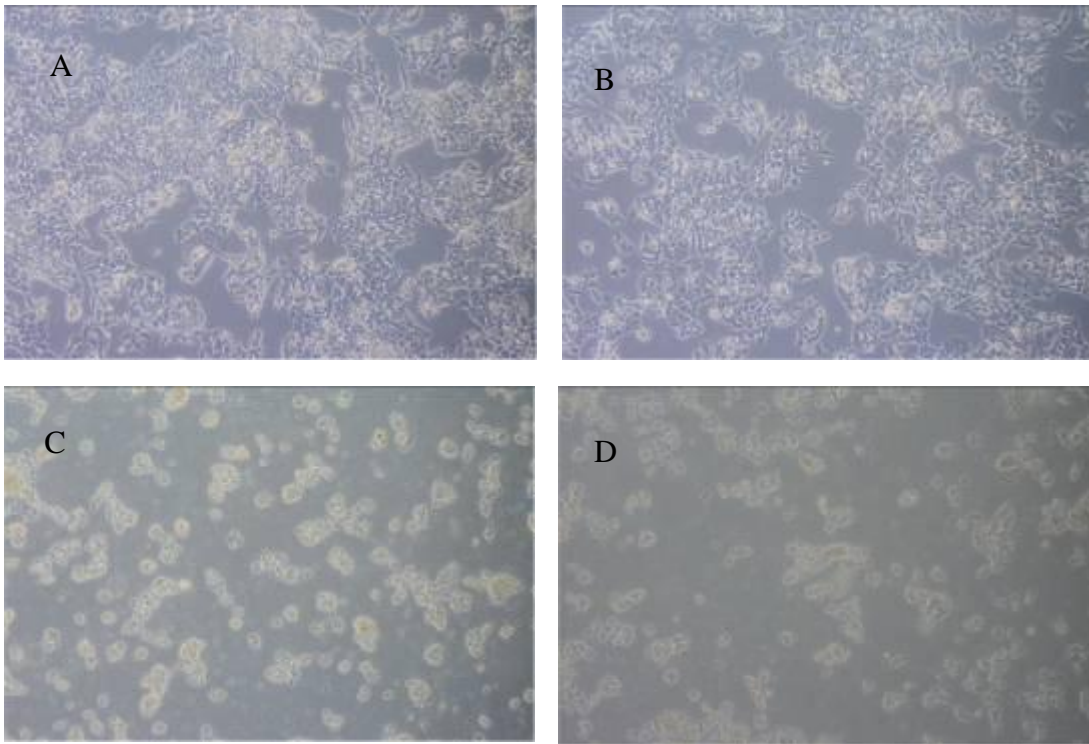


圖 4-11. HepG2 細胞經不同處理後之形態變化  
A: 對照組、B: 5  $\mu$ g/ml trans-resveratrol、C: 5  $\mu$ g/ml tanshinone IIA  
D: 5  $\mu$ g/ml trans-resveratrol + 5  $\mu$ g/ml tanshinone IIA

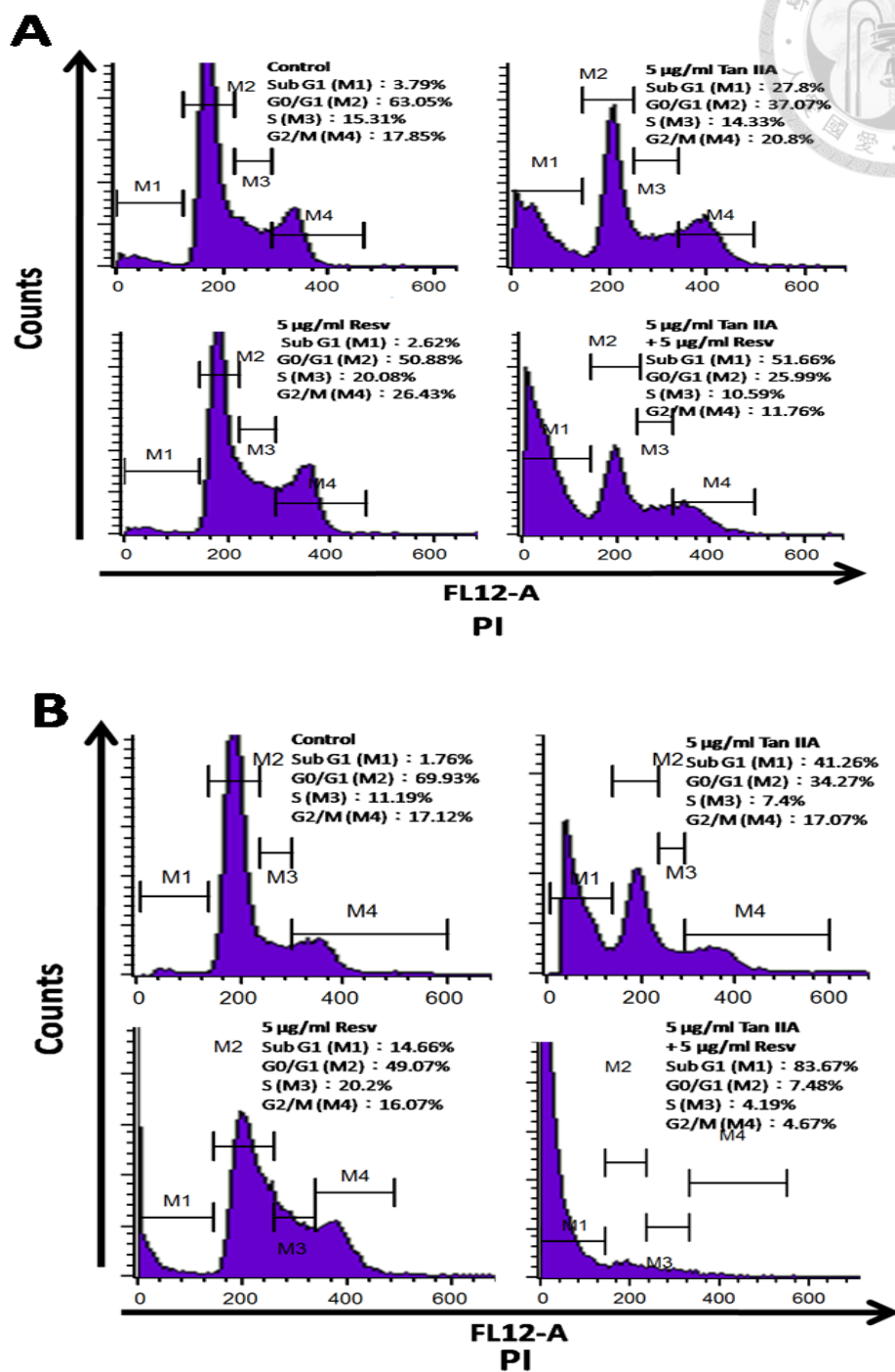
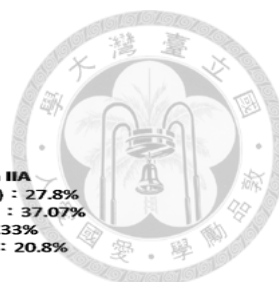


圖 4-12、丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇及二者聯用對細胞凋亡的效應  
 Fig. 4-12. Apoptosis in HepG2 cells induced by treatment of tanshinone IIA, trans-resveratrol and mixture of the two compounds for 12 h (A) and 24 h (B).

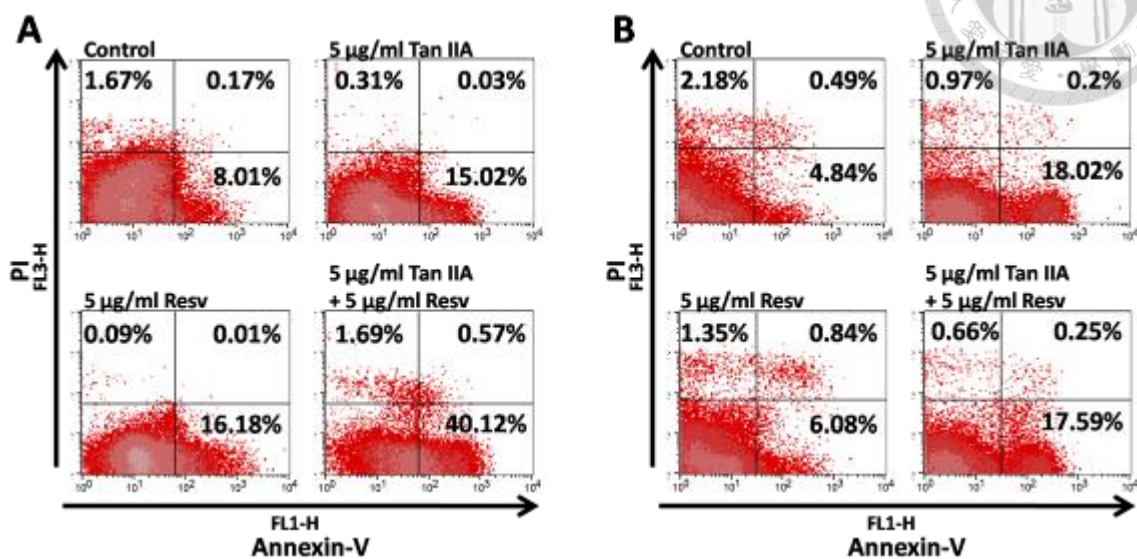


圖 4-13、丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇及二者聯用對細胞週期的影響

Fig. 4-13. Effects of tanshinone IIA, trans-resveratrol and mixture of the two compounds on HepG2 cell cycle progression for 12 hrs (A) and 24 hrs (B).

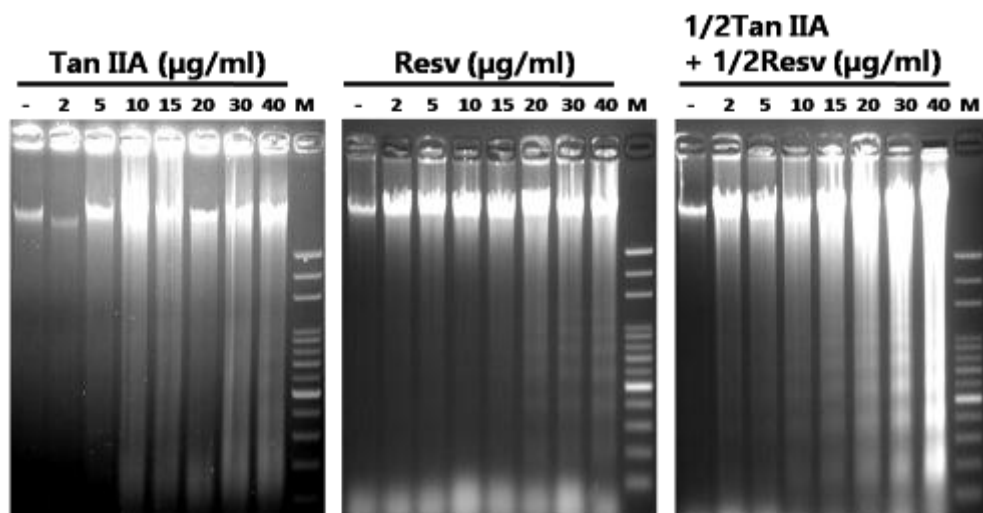


圖 4-14、丹參酮 IIA、反式白藜蘆醇及二者聯用對 DNA 斷裂的影響

Fig. 4-14. DNA fragmentation induced by treatment of tanshinone IIA, trans-resveratrol and mixture of the two compounds for 6 h.



表 4-1、當歸、丹參萃取條件及代號一覽表  
Table 4-1. The extraction condition and the code.

Code	Extraction conditions
A	60°C water
B	80°C water
C	100°C water
D	60°C ethanol
E	80°C ethanol

表 4-2、當歸不同萃取條件的有效成分含量比較  
Table 4-2. The comparison on on the active ingredient content with different extraction condition of *Angelica acutiloba*.

Extraction condition	Ferulic acid ( $\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	Z-ligustilide ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
A <sup>z</sup>	113.6	--
B	1.5	--
C	36.8	--
D	307.1	4.5
E	2109.2	6.2

z: A: 60°C 水溶液、B: 80°C 水溶液、C: 100°C 水溶液、D: 60°C ethanol  
及 E: 80°C ethanol



表 4-3、丹參不同萃取條件的有效成分含量比較

Table 4-3. The comparison on the active ingredient content with different extraction condition of *Salvia mitiorrhiza*.

Extraction condition	Salvianolic acid B (mg g <sup>-1</sup> DW)	Tanshinone IIA (mg g <sup>-1</sup> DW)
A <sup>z</sup>	27.6	--
B	7.1	--
C	35.2	--
D	41.1	27.3
E	133.5	54.1

z: A: 60°C 水溶液、B: 80°C 水溶液、C: 100°C 水溶液、D: 60°C ethanol  
及 E: 80°C ethanol

表 4-4、當歸萃取物對不同腫瘤細胞 50%抑制濃度之比較

Table 4-4. The comparison on the 50% tumor cells inhibition concentrations with different extraction condition of *Angelica acutiloba*.

Extraction conditions	乳癌細胞 MCF-7 (mg ml <sup>-1</sup> )	肝癌細胞 MSG2 (mg ml <sup>-1</sup> )	肺癌細胞 A549 (mg ml <sup>-1</sup> )
A <sup>z</sup>	1.25	11.5	49.68
B	3.42	4.02	24.56
C	3.37	12.38	10.68
D	1.35	4.84	2.55
E	0.80	3.27	2.07

z: A: 60°C 水溶液、B: 80°C 水溶液、C: 100°C 水溶液、D: 60°C ethanol  
及 E: 80°C ethanol





表 4-5、丹參萃取物對不同腫瘤細胞 50%抑制濃度之比較

Table 4-5. The comparison on the 50% tumor cells inhibition concentrations with different extraction condition of *Salvia miltiorrhiza*.

Extraction conditions	乳癌細胞 MCF-7 (mg ml <sup>-1</sup> )	肝癌細胞 MSG2 (mg ml <sup>-1</sup> )	肺癌細胞 A549 (mg ml <sup>-1</sup> )
A <sup>z</sup>	1.6	>5	18.37
B	1.67	>5	---*
C	1.1	>5	3.48
D	0.034	0.038	0.04
E	0.017	0.018	0.03

z: A: 60°C 水溶液、B: 80°C 水溶液、C: 100°C 水溶液、D: 60°C ethanol 及 E: 80°C ethanol

\*: 未檢出 (Not detected)

表 4-6、丹參酮 IIA 與白藜蘆醇二者聯用與順鉑對 HepG2 腫瘤細胞 IC50 之比較

Table 4-6 Cytotoxicity of tanshinone IIA, trans-resveratrol, mixture of the two compounds, and cisplatin against HepG2 cells.

Treatment time	Tan IIA			Resv			Cisplatin			1/2Tan IIA + 1/2Resv	1/3Tan IIA + 2/3Resv
	IC <sub>50</sub> (μg/mL)	P <sub>a</sub>	P <sub>b</sub>	IC <sub>50</sub> (μg/mL)	P <sub>a</sub>	P <sub>b</sub>	IC <sub>50</sub> (μg/mL)	P <sub>a</sub>	P <sub>b</sub>	IC <sub>50</sub> (μg/mL)	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
24 h	>100	0.0044	0.0001	74.59±1.62	0.0104	0.0001	35.92±2.14	0.0224	0.3631	53.61±5.34	37.07±1.01
36 h	91.63±8.93	0.0103	0.0156	57.53±3.73	0.0035	0.0019	11.46±0.40	0.0019	0.0039	34.90±2.27	37.82±2.87
48 h	40.28±11.63	0.0468	0.0458	41.89±11.99	0.0442	0.0453	10.14±0.46	0.4185	0.3735	10.51±0.24	10.39±0.17

IC50 values were statistically compared for single and dual compound treatments.

\*P<sub>a</sub>: P-value, compared to the mixture at a ratio of 1/2:1/2,

\*\*P<sub>b</sub>: P-value, compared to the mixture at a ratio of 1/3:2/3.




表 4-7、丹參酮 IIA、白藜蘆醇二者不同比例之混合物及時間在 IC<sub>50</sub> 之協同效應  
Table4-7. Synergistic combination of tanshinone IIA and trans-resveratrol demonstrated by combination index at IC<sub>50</sub> (CI<sub>50</sub>< 1).

Treatment time	1/2 Tan IIA + 1/2 Resv.	1/3 Tan IIA + 2/3 Resv.
	CI <sub>50</sub>	CI <sub>50</sub>
24 hrs	0.62	0.39
36 hrs	0.50	0.47
48 hrs	0.31	0.27



## 伍、總結



本論文對臺灣當歸與丹參二種藥用植物進行系統性研究，從農業的基礎栽培試驗、植物營養與肥料管理、最佳種植時期與採收期等，並配合作物輪作、有機栽培方式，建立臺灣生產當歸與丹參的優良農業操作栽培體系，以供農民參考遵循，達到人工栽培安全、優質的保健藥用植物之目的，並分析有效成分含量與市售進口藥材作比較，證實臺灣花東地區可生產品質優良的當歸與丹參之中藥材。以在地所生產的當歸與丹參為材料，萃取其有效成分，與慈濟大學醫學院進行跨領域的農、醫合作，分析當歸與丹參萃取物對不同腫瘤細胞的抑制效果，並進一步以丹參酮 IIA 與白藜蘆醇二種天然化合物，進行抑制人類肝腫瘤細胞 HepG2 的生長，使細胞產生細胞凋亡反應、細胞週期停止、以及 DNA 斷裂，證實其所產生的協同作用可達到與化療藥物順鉑相同的細胞毒性效果。國內外對於當歸與丹參已有不少研究，在藥理活性與臨床應用上的效果多有探討，而本研究針對丹參酮 IIA 與白藜蘆醇之協同效應，探討天然植物成分的聯用可增加植物藥之活性，在未來抗癌與藥物動力學之臨床研究，提供抗癌配方之應用，期能減少因化療藥物之使用所產生的副作用，對未來開發保健產品及天然植物藥之應用上，頗具有發展潛力。近年來傳統中草藥研究對疾病治療與預防醫學上日益受到重視，期待本論文所建立之跨領域研究合作平台，可提升農業研究的深度與廣度。

傳統的作物育種以提高產量為目標，但隨著保健風氣盛行，作物的品質及對保健有助益的植物化學成分，日益受到育種家與消費市場的重視。作物生長受其基因型、栽培環境以及二者的交互作用而影響，而中草藥所具有的有效成分，會因植物基原、栽培環境、種植時期、栽培方式、採收時期等因素影響其有效成分含量，故選育優良品種與適地適作的栽培制度，對中草藥的產量與品質提升有所助益。由於臺灣的中藥材多仰賴中國進口，雖然中國已有推廣 GAP，但是所進口的中草藥品質良莠不齊，加上臺灣對於中草藥的進口並無嚴格規範，這對民眾養生保健上產生嚴重的食品安全問題。因此，建立中草藥 GAP 栽培規範，生產臺灣在地栽種的新鮮中草藥，在整個栽培管理與生產過程中嚴格控管，降低可能危害農產品的風險，如農藥殘留、重金屬污染及微生物感染等，以永續農業的土地耕作理念來種植，生產高品質農產品，並可鼓勵農民從事中草藥栽培來活化休耕地，提高農業產值，或以輪作方式來充分利用地力，建構對土地友善的親和型農業。

本試驗在當歸與丹參的生理活性研究，二者的萃取條件是以水萃及酒精萃取而得，而非以甲醇溶劑萃取，其考量的觀點是以藥膳處理的方式來衡量，傳統藥膳料理在烹調上以水煮並加米酒熬煮、或浸泡在米酒中作為藥酒使用，可以得到較多的脂溶性有效成分，故以酒精萃取物進行細胞試驗，不僅可證實本土生產的當歸與丹參的生理活性成分，具有抑制腫瘤細胞的功效，且較符合作為藥膳料理的實際情況，並準確知道實際攝取的有效成分，證實對人體有保健的功效，對於推廣本土藥用食材及未來保健產品的開發利用更具應用價值。

目前美國、歐盟、日本、中國等國家，均已建立藥用植物的優良農業操作規範準則，為提升臺灣中草藥植物產業的國際競爭力，建立一套符合臺灣生態環境與優良農業操作之栽培體系，使所生產的中草藥能符合國際標準，與國際規範接軌，將是發展中草藥產業的最佳保障。因花東地區工業化程度低、汙染少，具有良好的農業栽培環境，有利於中草藥之生產，而當歸與丹參的優良農業操作栽培體系之建立，可提供農民生產合乎安全標準之高品質、高價值的中藥材，增加農民收益，並提升臺灣在全球中草藥市場的競爭力。