



公開
密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：080404e200

行政院農業委員會林務局99年度科技計畫研究報告

計畫名稱： 民族植物台灣藜(*Chenopodium formosanum*
Koidz)應用與開發之研究(2) (第2年/全程2年)
(英文名稱) Application and developement of the
compositions from *Chenopodium*
formosanum Koidz, an ethnobotanical
plant(2)

計畫編號： 99農科-8.4.4-務-e2(Z)

全程計畫期間： 自 98年1月1日 至 99年12月31日

本年計畫期間： 自 99年3月5日 至 99年12月31日

計畫主持人： 蔡碧仁
研究人員： 陳健儒、葛孟杰、何美萱
執行機關： 屏東科技大學





公開
密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：080404e201

行政院農業委員會林務局99年度科技計畫研究報告

計畫名稱：
(英文名稱) 台灣藜成分之應用與開發(2) (第2年/全程2年)
Application and developenent of the
compositions from Chenopodium
formosanum Koidz, an ethnobotanical
plant(2)

計畫編號： 99農科-8.4.4-務-e2(1)

全程計畫期間：自 98年7月1日 至 99年12月31日

本年計畫期間：自 99年3月5日 至 99年12月31日

計畫主持人： 蔡碧仁
研究人員： 陳健儒
執行機關： 屏東科技大學





一、中文摘要：

台灣藜為台灣原住民雜糧植物，過去四年，已就其抗氧化成分如甜菜色素、 γ 胺基丁酸與多酚建立基本資料。但其機能性成分，多仍乏人研究。據文獻記載，藜屬種子外殼含皂素，具苦味，具有抑菌、抗癌、降低膽固醇及充當界面活性劑之功能。預備試驗也證實台灣藜含有皂素，但其天然乳化劑或抗菌性之特性，尚無利用。此外， β -glucan屬於膳食纖維，具有提高免疫力、抗腫瘤，抗發炎之功能。而台灣藜的膳食纖維高達14-22%，為目前穀類之首。其膳食纖維中是否具有類似巴西蘑菇之 β -glucan的成分，很值得探討。本研究主要針對台灣藜皂素與 β -glucan之含量加以分析，並進行其利用產品如潔膚露及高纖台灣藜全穀錠等之開發，以提高其經濟價值。結果顯示，紅色台灣藜 β -glucan含量約3.61%，黃色種則約為2.69%。而紅色台灣藜皂素含量約1.3% DW，黃色品種皂素約 0.77%。亦即紅色品種之 β -glucan與皂素含量，皆較黃色品種者為高。台灣藜皂素不具明顯的生理活性，但台灣藜不論紅色或黃色其 β -glucan皆具有明顯的提高免疫力的生理活性。產品製作方面，經由田口法，可製得具接受度及洗淨力的潔膚露，並以4°C為最適保存條件。製錠部分，則以微晶纖維素較麥芽糊精當賦型劑，可得到崩散度較佳的產品，並且台灣藜粉末含量應該低於30%才有接受度。台灣藜錠劑於不同溫度貯藏後，其機能性成份及抗氧化力並無顯著變化，具有開發價值。





二、英文摘要：

Djulis is an aboriginal cereal plant in Taiwan. We have established the basic information about some of their function such as betanin, GABA and polyphenols. However, there are still other phytochemicals remained unknown and not utilized. According to references, saponin in the seeds of Chenopodium species exhibited bitter taste, antipathogen, anticancer, lowering LDL and emulsifier function. In addition, β -glucan belong to dietary fiber exhibited immunity increasing, antitumor and anti-inflammation. Since the dietary fiber in Djulis is very high (14-22%), it become interesting to know its β -glucan activity. In this study, we try to analyze the content of saponin and β -glucan in the Djulis, and develop a Djulis facial cleaner and high fiber tablet in order to raise its economical value. Results showed that, the β -glucan and saponin were 3.61% and 1.3% in red Djulis while 2.67% and 0.77% in yellow Djulis. Apparently, higher β -glucan and saponin were found in red than yellow one. β -glucan of Djulis exhibited high bioactivity but not the saponin. The optimum condition for Djulis facial cleaner was established by Taguchi method and the product was found good in cleaning with high acceptance. The best storage condition for this facial cleaner is at low temperature (4°C). As to the tablet making, MCC is better than MD and the content of Djulis should be lower than 30% to be accepted by the consumer. No significant changes of functional compositions or antioxidant capacities of the tablet was found during 8 weeks storage.





三、計畫目的：

有關省產台灣藜機能性成分之資料非常少，本研究室過去研究發現，省產台灣藜的豐富色彩，來自甜菜色素(betalain)，為一種水溶性含氮色素，具有強抗氧化能力，能清除自由基，文獻上記載可抑制黑色素腫瘤及肺腫瘤(Wu et al., 2006)。也曾就其多酚成分之抗氧化性加以探討，發現台灣藜多酚高於一般穀類，以芸香苷為主(吳，2008)，具有預防心血管疾病之功能(Krkoskova & Mrazova, 2005)。而台灣藜經過浸泡萃取後，其萃取物含有起泡的效果。根據文獻，台灣藜具有皂素成份，為植物的二次代謝產物。Meguro等(1987)指出，皂素含有天然界面活性劑結構，具有清潔效果。皂素也能降低膽固醇(Jung等，2007)，及抑制黴菌(Pappier, 2008)。工業上，皂素可以作為食品或飲料的起泡劑、乳化劑或化妝品、清潔用品等。農業上可作為生物殺蟲劑、濕潤劑及植物生長促進劑。因此本研究將由不同品種、季節與萃取條件之台灣藜，測定樣品中皂素含量的變化，選擇含皂素最多的樣品，利用其天然乳化劑之效果，開發出台灣藜皂素相關保養品，提高台灣藜的經濟效應。再者，為利用台灣藜的全方位營養，本研究將就其全穀粒之超微細粉體，搭配不同的賦形劑，以田口法，打錠做成高纖台灣藜全穀錠。此外，台灣藜所富含高纖中的多醣體，也是全穀粒錠中重要的機能性成分。有關多醣體之研究，多集中於菇類，如巴西蘑菇之 β -glucan，為葡萄糖聚合物，其主鏈以 β -1,3糖苷鍵連結。多項研究指出 β -glucan具有免疫調節功效，可刺激先天性免疫系統、抗腫瘤、抗細菌、抗病毒、抗真菌及加速傷口復原等功效(Brown and Gordon 2003)。海藻多醣則能有效抑制簡單泡疹病毒(HCMV)。若和治療愛滋病患的臨床用藥AZT(3'-azido-3'-deoxythymidine)共用，具有加乘性效果(Lee等, 1999)。由於台灣藜的膳食纖維高達14-22%，為目前穀類之首。其膳食纖維中是否具有類似巴西蘑菇之 β -glucan的成分，很值得探討。





四、重要工作項目及實施方法：

以省產台灣藜為原料，利用甜菜色素、多酚、皂素之保健特性，試製潔膚露，並進行保濕、膚質彈性等性質測試。經由田口法，找出最適台灣藜萃取液、保濕劑及增黏劑等之使用比例以提升台灣藜的經濟價值。各產品亦將進行貯存試驗，以了解其貯存安定性。

為完全利用台灣藜的營養與機能性成分，著眼於全穀粒高纖台灣藜錠之開發。利用田口法，經由其品質測定(硬度、腸胃液溶離測試及品評)，找出最適台灣藜超微粒粉末、黏合劑及潤滑劑之使用比例。此外，為釐清台灣藜多醣的效果，首先就多醣中的 β -glucan加以萃取，利用精密儀器加以分析。並就各產品貯存期間，機能性成分或抗氧化力之變化，加以測定，以了解高纖台灣藜全穀錠之貯存安定性。

1、台灣藜之多醣測定

(I)台灣藜中多醣測定

(a) β -glucan多醣的萃取:利用82°C熱水萃取後，經由離心取上層液，加入等體積的酒精沈澱出多醣，再利用純酒精洗滌以40°C烘乾，即得到 β -glucan(粗多醣)

(b) β -glucan定性及定量

將多醣溶液於100°C加熱，冷卻後將多醣調至pH6.5，加入lichenase，作用1小時，利用6000 g沈澱酵素後取上層液。以去離子水稀釋，利用硫酚法(sulfer-phenol method)，於波長490 nm下測其吸光值。藉由不同濃度的葡萄糖標準品所繪製成糖濃度與吸光值相關性之標準曲線圖，可計算出多醣的含量。或另以HPLC加以測定。移動相為：水、氰甲烷。流速：1.0 mL/min。注射量：50 μ L

偵測器(detector)：RI detector，溫度：125°C

min	水	氰甲烷
0	10%	90%
18	22%	78%
36	90%	10%

(II)不同品種對台灣藜中多醣含量之影響

以不同品種台灣藜(紅色、黃色品種)為原料，針對 β -glucan含量加以測定，以挑選





出 β -glucan含量最高的品種樣品。

2、省產全穀粒台灣藜錠開發

將全穀粒台灣藜粉末混合各種賦型劑，並以適當打錠條件將台灣藜全穀粉打製成錠劑。利用田口法四因子三階層(台灣藜超微細粉末、稀釋劑、黏合劑、調味劑)探討全穀粒台灣藜錠初步製作的可行性。

其中，錠劑之品質試驗：

(a) 錠劑重量差異試驗(Weight variation test)

每批各取二十顆錠劑測試，計算產品之平均重量，每一錠之重量與平均重量的差異計之，其差異超過重量差異百分率5%的不得超過二粒，並不能有任何錠劑有超過5%之一倍者。

(b) 錠劑硬度試驗(Hardness test)

每批各取十顆錠劑測試，計算產品的平均硬度。

(c) 崩散度試驗(Disintegration test)

將錠劑六粒分別至於崩散機之每一試管中，再加入載片各一片，啟動錠劑崩散度計使試管依照規定速度上下昇降，其水溫為 $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 。依照中華藥典所敘，其崩散應於30分鐘內完全崩散。

(d) 品評：就全穀粒台灣藜錠之風味、色澤及整體接受性，加以測試。

3、台灣藜錠貯藏試驗

以最適台灣藜粉末進行製錠後，於不同溫度(25及 35°C)進行貯藏，期間測定TPA硬度、崩散度、 γ -胺基丁酸含量、抗氧化力(DPPH清除自由基能力、FRAP還原力和總酚)

4、省產台灣藜中皂素之萃取與定量

將濾紙烘乾秤重後，以甲醇萃液台灣藜粗皂素後，將萃取液進行過濾及濃縮，再以正丁醇進行分餾，然後用甲醇沖提出粗皂素，並以乙醚去除油質後，過濾，烘乾，然後稱重，即可得黃色粗皂素，帶入公式進行粗皂素收率計算。

粗皂素收率(%)=(溶劑蒸發後濾紙重-濾紙烘乾重)/濾紙烘乾重

5、省產台灣藜之皂素生理活性之測定

將乾燥的皂素粉末做生理活性相關測定，包括

(1) MTT test: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide

(2) Nitric oxide (NO)

(3) 樹狀凸細胞測定

6、省產台灣藜潔膚露製備

使用田口法採四因子(凝膠、台灣藜粗皂素萃取液、保濕劑、色素)三階層找





出9個最適配方，進行潔膚露感官品評。再利用田口法之台灣藜潔膚露整體接受性及洗淨力找出最佳配方。再將製作好的潔膚露送至檢驗公司做皮膚相關之測定(保水力、彈性、美白、油脂)

7、省產台灣藜潔膚露之儲藏試驗

將製作好的潔膚露，分別於見光25°C、避光25°C及4°C下，測其貯藏過程中台灣藜潔膚露色澤(a值)和色素殘留(裂解指數與分光光度計 A_{530} nm)的變化。

8、其他品質測定

a 色澤之測定：以色差計測定其L a b值。

b甜菜色素分析：台灣藜樣品經過24小時水萃取後，離心過濾，利用分光光度計測定 A_{530} ，代表甜菜色素之含量。

c 多酚含量測定：將台灣藜樣品液，以0.45 μ m膜過濾，取20 μ l以前述HPLC進行分析，再與標準品作比對。

d 自由基清除能力測定：取樣品利用酒精萃取後，加入新鮮配製之1 mM 1,1-diphenyl- β -picryl-hydrazyl (DPPH)之甲醇溶液1 mL，均勻混合，並靜置30分鐘後，於515 nm測其吸光值。以【1- (樣品吸光值/未加樣品之控制組吸光值)】 \times 100，得到清除自由基效應百分比。清除百分比值愈高者，抗氧化性愈高。

e 還原能力測定：該試驗原理為 Fe^{3+} (tripyridylferriazine，簡稱TPTZ)複合物，在含有抗氧化物質的情況下，可將 Fe^{3+} 還原成 Fe^{2+} 複合物，而 Fe 複合物在593 nm具有吸收波峰，呈藍綠色，可用來測定樣品的抗氧化能力(Niemeyer and Metzler 2003)。取新鮮配製之FRAP試劑加入蒸餾水及樣品，震盪於37°C混合均勻。





五、結果與討論：

(一) 台灣藜 β -glucan 粗多醣之萃取與不同品種台灣藜 β -glucan 粗多醣之分析

先將不同品種台灣藜之種子磨碎，以纖維酵素加以水解(50°C，30分鐘)後，離心取上澄液，凍乾後，秤取粗多醣之回收率。結果，紅色台灣藜之粗多醣回收率為7.3%，而黃色品種則為6.6%。各樣品之粗多醣再進一步以酚及硫酸處理後(硫酚法)，測定 β -glucan 含量。結果顯示，紅色台灣藜 β -glucan 含量約3.61%，黃色種則約為2.69%。表示紅色品種之 β -glucan 含量比黃色品種者高。

(二) 台灣藜多醣生理活性之測定

(1) 樹狀凸細胞之形成，顯示台灣藜具有提高免疫力之生理活性

(2) MTT 活性：隨著台灣藜多醣添加濃度之增加，其細胞存活率並未減少，顯示台灣藜多醣不具毒性

(3) 產生NO：隨著台灣藜多醣添加濃度之增加，其NO產生量增加，故可提高免疫力

(三) 台灣藜錠製作

賦型劑對於錠劑之品質影響甚鉅，近來許多報告利用天然植物纖維，取代傳統賦型劑來製作錠劑。因此本研究選用目前經許多學者證實，整體效果最佳之微晶纖維素(MCC)及市面上較常使用之麥芽糊精(MD)當作台灣藜營養錠之賦型劑。並利用流程簡單、內容物不易散失、配方比例穩定且可避免熱反應及濕氣影響的直接加壓打錠法，來製作台灣藜營養錠。首先將前述實驗最適之紅色品種台灣藜芽體磨粉，接著與微晶纖維素及麥芽糊精分別以3比7、5比5、7比3比例進行混合，再利用油壓打錠機以不同壓力(1000、5000 psi)進行加壓打錠，製成錠劑如圖4所示。

(1) 質地剖面分析

台灣藜錠劑以TPA (Instron) 分析，各項數據結果如圖5所示。在硬度方面，不論是以麥芽糊精還是微晶纖維素製作錠劑，皆以賦型劑：台灣藜粉末=7：3比例，並使用5000 psi加壓打錠可得最高硬度(麥芽糊精及微晶纖維素分別可達2.71 kg/F、3.69 kg/F)。此結果顯示出，微晶纖維素能使錠劑擁有較高的硬度，且使用不同壓力進行加壓打錠，也會對硬度產生不同影響。

(2) 官能品評測定台灣藜營養錠

進一步以感官品評方式探討。圖6為利用五分制感官品評表分析不同方式處理之台灣藜營養錠，與TPA相比，二者硬度之趨勢一致，皆以賦型劑：台灣藜粉末=7：3之比例，並以5000 psi加壓打錠得分最高(麥芽糊精為4.44分、微晶纖維素為4.67分)。香氣部分，得分最高者為麥芽糊精：台灣藜粉末=3比7最高(3.67分)。質地接受度部份，不論是麥芽糊精還是微晶纖維素當賦型劑，皆以賦型劑：台灣藜粉末=7：3之比例混合，並以5000 psi加壓打錠得分最高(麥芽糊精為4.33分、微晶纖維素為4.50分)。後續貯藏則以此2種賦型劑，各以7：3混合台灣藜粉末，並貯藏於25及





35°C，探討貯藏對其色澤、質地及抗氧化力之影響。

(四)台灣藜錠貯藏試驗

(1) 台灣藜錠之TPA硬度試驗

為了瞭解貯藏過程中，台灣藜錠劑之物性是否有所變化，因此利用質地剖面分析儀進行TPA試驗，其結果如圖7所示。從圖中可以得知，不論是以微晶纖維素製成之台灣藜錠劑還是以麥芽糊精製成之台灣藜錠劑，於不同溫度下進行貯藏二個月，其硬度沒有太大變化，顯示經貯藏二個月後，台灣藜錠劑仍然具有良好的物理性質。

(2) 台灣藜錠之崩散度試驗

崩散度方面如圖8所示，以台灣藜粉末製成之台灣藜錠劑，不論是麥芽糊精還是微晶纖維素當賦型劑之崩散度時間，整體上來看，還是以微晶纖維素製成之台灣藜錠劑具有較佳之崩散能力。

(3) 台灣藜錠 γ -胺基丁酸含量之變化

γ -胺基丁酸含量方面如圖9所示，可發現 γ -胺基丁酸經過不同溫度貯藏後，不論是以麥芽糊精還是微晶纖維素當賦型劑者製成之錠劑，於不同溫度下其 γ -胺基丁酸含量基本上沒有損失之情形發生。

(4) 台灣藜錠抗氧化力之變化

將貯藏在不同溫度下之台灣藜錠劑抗氧化力之變化(DPPH清除自由基能力、FRAP還原能力和總酚)。結果如圖10所示，由圖可以得知，其FRAP還原能力和總酚於貯藏期間，雖有些微的變化，但整體而言，與貯藏第0天相比並無明顯的變化，DPPH清除自由基能力則有些微上升之趨勢，但於貯藏20天後，其DPPH清除自由基能力則無明顯變化。

(五)省產台灣藜中皂素萃取與不同品種台灣藜中皂素之分析

將濾紙烘乾秤重後，以甲醇萃液台灣藜粗皂素後，將萃取液進行過濾及濃縮，再以正丁醇進行分餾，然後用甲醇沖提出粗皂素，並以乙醚去除油質後，過濾，烘乾，然後稱重，即可得黃色粗皂素，帶入公式進行粗皂素收率計算。結果顯示，紅色品種台灣藜皂素含量約1.3% DW，黃色品種皂素約 0.77%。此與一般植物中皂素含量約在1% 左右相符合。

(六)省產台灣藜皂素生理活性之測定

(1)MTT test如圖11，台灣藜皂素在10 $\mu\text{g/ml}$ 及25 $\mu\text{g/ml}$ 與控制組比有較高的細胞存活率，但高於25 $\mu\text{g/ml}$ 後的濃度，則是隨著濃度的升高，細胞存活率卻下降，但在100 $\mu\text{g/ml}$ 以內仍有80%以上之存活率。





(2) Nitric oxide (NO)的結果如圖12，添加不同濃度之台灣藜皂素的組別與控制組相比，其NO產生量有稍高的現象。

(3)若有樹狀凸細胞之形成，顯示樣品具有提高免疫力之生理活性(圖13)。由圖14中之(A)至(E)，顯示台灣藜粗皂素並無明顯提升免疫力之能力。

(六) 台灣藜潔膚露製作

萃取出台灣藜粗皂素後，將其調成水溶液，由結果可以得知，台灣藜水萃液所得潔膚露與添加胺基酸起泡劑者，在洗淨力與舒適感方面並無差別(圖15與圖16)。之後使用田口法採四因子(凝膠、台灣藜皂素粗萃取液、保濕劑、色素)三階層找出9個配方，攪拌均勻後，添加適量香精，即可裝瓶，進行潔膚露感官品評，其感官品評表，再利用整體接受性找出最佳台灣藜潔膚露製作配方，並進行貯藏試驗。

(七) 台灣藜潔膚露儲藏試驗

(1)L a b 之 a值的結果如圖17，置於4°C 避光儲藏的台灣藜潔膚露色澤保持的最好，無明顯的下降幅度；而置於室溫下見光與恆溫箱避光則是在第七天有大幅度的下降。

(2)甜菜色素(A_{530} nm)和裂解指數：置於4°C 儲藏的台灣藜潔膚露，其甜菜色素殘留量較25°C貯藏者高且其裂解程度較低(圖18)。





六、結論：

1. 紅色品種台灣藜之 β -glucan 及皂素含量皆較黃色品種者為高。
2. 台灣藜粗多醣確實具有生理活性。
3. 台灣藜製錠時，可利用台灣藜本身纖維取代部分賦型劑。使用微晶纖維素當作賦型劑，能夠獲得較短之崩散時間。
4. 台灣藜錠劑於不同溫度貯藏後，其機能性成份並無顯著變化，具有開發價值。
5. 台灣藜皂素萃取液，可製得具洗淨力的潔膚露。
6. 台灣藜潔膚露於不同溫度貯藏後，儲藏於4°C 為最適保存條件。





七、參考文獻：

1. 吳佩樺、蔡碧仁。2007。台灣藜之營養及機能性成分之加工與利用。台灣保健食品第五屆第一次年會。台北台灣大學。
2. 吳佩樺、蔡碧仁。2007。不同品種及季節的之藜抗氧化活性之探討。穀類食品安全與健康國際研討會。屏東科技大學。
3. 許志鴻、戴士傑、蔡碧仁。2006。溫度與pH值對台灣藜紅色素穩定性之影響。台灣食品科技學會第36次年會。基隆海洋大學。(95-農科-11-4-1-務-e2(3))
4. 許志鴻、蔡碧仁。2007。研磨對台灣藜色素及抗氧化力之影響。穀類食品安全與健康國際研討會。國立屏東科技大學。
5. Leung MYK, Liu C, Koon JCM, Fung KP. 2006. Polysaccharide biological response modifiers. *Immunology Letters* 105: 101-14.
6. Lee JY, Joo YK, Yong GL, Man HR, Eock KH, Jae YC. 2008. Molecular mechanism of macrophage activation by exopolysaccharides from liquid culture of *Lentinus edodes*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 18: 355-364.
7. Lee KY, Jeon YJ. 2006. Macrophage activation by polysaccharide isolated from *Astragalus membranaceus*. *International Immunopharmacology* 5: 1225-33.
8. Madl T, Sterk H, and Mittelbach M. 2006. Tandem Mass Spectrometric Analysis of a Complex Triterpene Saponin Mixture of *Chenopodium quinoa*. *J Am Soc Mass Spectrom* 17: 795 - 806.
9. Nair PKR, Melnick SJ, Ramachandran R, Escalon E, Ramachandran C. 2006. Mechanism of macrophage activation by (1,4)- α -D-glucan isolated from *Tinospora cordifolia*. *International Immunopharmacology* 6: 1815-24.
10. TSAI*PJ, SHEU CH, WU PH, SUN YF. 2010. Thermal and pH stability of Betacyanin Pigment of *Djulis (Chenopodium formosanum)* in Taiwan and their relation to antioxidant activity. *J. Agric. Food Sci.* 58(2):1020-1025
11. Volman JJ, Ramakers JD, Plat J. 2008. Dietary modulation of immune function by β -glucans. *Physiology & Behavior* 94: 276-84.





公開
密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：080404e202

行政院農業委員會林務局99年度科技計畫研究報告

計畫名稱： 台灣藜植株矮化及顏色轉換之研究 (第2年/全程2年)

(英文名稱) The studies of *Chenopodium formosanum* dwarfing and color altering

計畫編號： 99農科-8.4.4-務-e2(2)

全程計畫期間： 自 98年7月1日 至 99年12月31日

本年計畫期間： 自 99年3月5日 至 99年12月31日

計畫主持人： 葛孟杰
研究人員： 何美萱
執行機關： 高雄大學



992272_Conclude



公開
密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：080404e202

行政院農業委員會林務局99年度科技計畫研究報告

計畫名稱： 台灣藜植株矮化及顏色轉換之研究 (第2年/全程2年)

(英文名稱) The studies of *Chenopodium formosanum* dwarfing and color altering

計畫編號： 99農科-8.4.4-務-e2(2)

全程計畫期間： 自 98年7月1日 至 99年12月31日

本年計畫期間： 自 99年3月5日 至 99年12月31日

計畫主持人： 葛孟杰

研究人員： 何美萱

執行機關： 高雄大學



992272_Conclude



一、中文摘要：

我們利用前期計畫發現的酵素活性及逆境原理，進行矮化及改變葉片顏色試驗。上年度計畫以日夜溫差、澆灌水溫之控制、矮化劑、培植容器大小及盆栽內之定植株數進一步進行矮化之試驗。在定植株數對台灣藜植株高度的影響方面：五株組增加幅度則只有控制組的87%。在容器大小對台灣藜植株高的影響方面：控制組(500ml)與800ml組分別是250ml組的90%及85%。在矮化劑對台灣藜植株高度的影響方面：12.5ppm組、25ppm組及50ppm組增加的株高分別是控制組的58%、45%、36%。下半年度計畫以日夜溫差、澆灌水溫之控制、及摘心進一步進行矮化之試驗；而植株變色方面則以培植環境溫度之控制作為變因，探討控制植株變色之條件。在摘心對台灣藜植株高度的影響方面：20cm組、30cm組與40cm組增加分別為控制組的65.19 %、66.8 %及93.51 %。在澆灌水溫對台灣藜植株高度的影響方面：5°C組、10°C組、35°C組、50°C組與60°C組的株高增加幅度分別為控制組的1.78倍、88.7%、90.6%、1.07倍及1.33倍。在不同日夜溫差對台灣藜植株高度的影響方面：20/15°C組與25/20°C組株高增加幅度為30/25°C組的38.4%及88.0%。在不同生長溫度試驗中對台灣藜植株高度的影響方面：30/25°C組與35/25°C組株高增加幅度分別為控制組的1.31倍與98.53 %。另外在台灣藜紅色葉片與綠色葉片的ETR、POD活性及H₂O₂含量影響方面：紅色葉片的電子傳遞效率會比綠色葉片降低許多；在POD活性上，紅色葉片的POD活性為綠色葉片的48倍；在H₂O₂含量上，紅色葉片的H₂O₂含量為綠色葉片的1.24倍。





二、英文摘要：

The purpose of this project is to inhibit plant height and alter leaf coloring by the principle of enzyme activity and stress physiology previously developed from our lab. To achieve dwarfism, plant per pot, container size, day/ night temperature difference, temperature of water, chemical for inhibiting plant height were investigated for the first part of this year. Incensement of 5 plants resulted in 87% height of plants from control group for *Chenopodium formosanum*. As the effects of container sizes (800ml, and 250ml) on plant height were 90%, and 85% of control group (500ml) respectively. Plant heights of treatments with inhibiting agent, paclobutrazol (PP333), 12.5ppm, 25ppm, and 50ppm were 58%、45%、36% compared with control. Day/ night temperature difference, water temperature, tip-removal experiments were carried out for the 2nd half of this year. By manipulating growing temperature, altering plant coloring were executed. Tip-removal treatments (20cm, 30cm, and 40cm) effects of plant height exhibited 65.19 %, 66.8 %, and 93.51 % compared with control group. Water temperature treatments (5°C, 10°C, 35°C, 50°C, and 60°C) effects on plant height resulted in 1.78fold, 88.7%, 90.6%, 1.07 fold, and 1.33 fold. Different day/ night temperatures treatments (20/15°C, and 25/20°C) resulted in 38.4%, and 88.0% of height compared with plants from 30/25°C. The results of growth temperature effects were 1.31 fold, and 98.53 % for 30/25°C, and 35/25°C. Moreover, ETR, POD activities, from red, and green leaves were analyzed. Electron transfer rate were higher in red leaves, activity of POD was 48 folds of red leaves, and H₂O₂ content was 1.24 fold in red leaves compared with green leaves.





三、計畫目的：

台灣藜矮化及莖葉變色評估：

許多環境因子可促使植物矮化，這包括了生長環境之溫度、澆灌之水溫、培植容器大小、定植株數等，而新生頂芽所產生之生長激素也是影響植物高度的關鍵，故本試驗將由調控環境因子、矮化劑與摘除頂芽(摘心)以降低其生長激素下手，矮化台灣藜之生長高度，使其符合市場園藝作物之需求。而經初步測試，高溫處理下之台灣藜其葉片會在數天內由綠轉紅，因此將擬以不同環境溫度培植台灣藜，觀察其莖葉顏色的變化。





四、重要工作項目及實施方法：

1. 試驗材料栽培

將台灣藜種子播於標準規格品之100 格塑膠盤穴（直徑3公分之圓形穴盆），穴盤內介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，培養於溫度26℃；光照16小時，黑暗8小時；相對濕度65%之培養箱中，待其發芽後1個月開始試驗，試驗期間不施用任何化學肥料及農藥。

2. 定植株數對台灣藜植株高度之影響

將台灣藜幼苗以1、3、5株數轉至容積為500ml之單一植盆內，栽培介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，兩個月間觀察植株高度，以捲尺量測各植株總長、離地垂直高度、穗長。

3. 容器大小對台灣藜植株高度之影響

將台灣藜幼苗轉至容積為250、500、800ml之植盆內，栽培介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，兩個月間觀察植株高度，以捲尺量測各植株總長、離地垂直高度、穗長。

4. 矮化劑(retardant)對台灣藜植株高度之影響

將台灣藜幼苗轉至容積為500ml之植盆內，栽培介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，施以矮化劑paclobutrazol (PP333)不同濃度 (0 ppm、12.5 ppm、25 ppm、50ppm)，並培植兩個月間觀察植株高度，以捲尺量測各植株總長、離地垂直高度、穗長。

5. 日夜溫差對台灣藜植株高度之影響

將台灣藜幼苗轉至容積為500ml之植盆內，栽培介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，並置於培養箱中以不同日/夜溫20/15℃、25/20℃及30/25℃處理，並在培植兩個月間觀察植株高度，以捲尺量測各植株總長、離地垂直高度、穗長。

6. 摘心對台灣藜植株高度之影響

將台灣藜幼苗轉至容積為500ml之植盆內，栽培介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，待植株長至20、30、40公分時作摘心處理，並在培植兩個月間觀察植株高度，以捲尺量測各植株總長、離地垂直高度、摘心高度、穗長。





7. 不同生長溫度對台灣藜植株高度之影響

將台灣藜幼苗轉至容積為500ml之植盆內，栽培介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，並置於培養箱中以不同日/夜溫25/25°C、30/25°C、35/25°C處理，持續觀察植株莖葉顏色。植株葉片將以 phosphate buffer (pH=7.0) 萃取其色素，並以分光光度計予以分析比較。

8. 不同澆灌溫度對台灣藜植株高度之影響

將台灣藜幼苗轉至容積為500ml之植盆內，栽培介質使用砂：泥炭土=1：1(V/V)，以5、10、35、50、60°C及室溫水(27°C)於每天早上八點灌溉，每次澆灌200ml，並在培植兩個月間觀察植株高度，以捲尺量測各植株總長、離地垂直高度、穗長。

9. PSII 電子傳遞速率(ETR)測定：

植物事先以鋁箔紙暗處理20分，並利用PAM-210測量其葉綠素螢光，儀器每20秒增強一次光源，共計11筆數據，其數據計算為 $ETR = \text{螢光數值} \times \text{參數} \times 0.5 \times \text{PAR}$ (光強度)，並依照PAR做橫軸，ETR為縱軸做出 light curve。

10. 蛋白質含量的測定：
實驗中測量蛋白質含量的方法是使用Bio-Rad 公司的蛋白質微量檢測法(Bio-Rad Protein Assay microassay procedure)。首先準備1至10 $\mu\text{g/ml}$ 的BSA溶液作為標準蛋白溶液。將40 μl 的標準蛋白溶液與待測蛋白質溶液分別置於乾淨的試管中。各加入800 μl 的染色試劑(Dye Reagent Concentrate)，混合均勻，並避免產生氣泡。五分鐘後，各取200 μl 的混合液，加到96孔的培養皿之一孔中，並取三次作三次重複試驗。在一小時內，以光譜儀測其595nm的吸光值(OD_{595})，並將每個樣本所得的三個吸光值加以平均，即為此樣本的吸光值。把標準蛋白溶液的吸光值對蛋白質濃度作圖，畫出迴歸直線，再將待測蛋白的吸光值代入，以內插法算出其蛋白質濃度。

11. Peroxidase (POD)活性分析：

以50 mM磷酸緩衝液(pH 7.0) 萃取。1 ml reaction mixture裡含有50 mM potassium phosphate (pH 6.5)，0.5 mM ascorbate, 0.1 mM H_2O_2 與 0.1 mM EDTA。此反應在加入 H_2O_2 或Ascorbate peroxidase即進行記錄10-30秒內290 nm的吸光值變化。

12. 過氧化物含量測定：

取葉片組織秤重後，加入600 μl 10 mM sodium phosphate buffer (pH=7.0)，加入3-





ammo-1,2,4-triazole) 研磨。以6000xg, 4°C 離心25分鐘。再取上清液100 μ l 與900 μ l 反應液混合 (反應液中含有100 μ l 2.5mM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 μ l 1mM Xylenol orange, 100 μ l 1M Sorbital, 100 μ l 250 mM H_2SO_4 , 600 μ l dd H_2O) , 避光反應30分鐘。 H_2O_2 將反應液的 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 再與Xylenol orange反應, 使得Xylenol Orange的顏色從黃色轉為粉紅色。最終反應液以560 nm波長測定其吸光值。





五、結果與討論：

1. 矮化劑對台灣藜植株高度的影響：

(1) 平均株高——控制組的株高在41天後增加15.08cm；12.5ppm組、25ppm組及50ppm組增加的株高分別是控制組的58%、45%、36%。

(2) 平均總葉片數——控制組在41天後平均增加6.5片；12.5ppm組、25ppm組及50ppm組的總葉片數分別是控制組的1.17倍、1.15倍、1.2倍。

2. 容器大小對台灣藜植株高的影響：

(1) 平均株高——控制組91天後增加29.58cm；控制組與800ml組分別是250ml組的90%及85%。

(2) 平均穗數——250ml組平均穗數為5.33個；控制組與800ml組平均穗數分別為250ml組的65.67%及43.71%。

(3) 平均葉面積——控制組的葉面積為80.95cm²。250ml組及800ml組分別是控制組的64.8%及92%。

(4) 平均莖粗——控制組的平均莖粗為1.16cm。250ml組與800ml組的莖粗分別是控制組的84%與94%。

(5) 抽穗所需平均天數——控制組為110.5天。250ml組與800ml組在抽穗所需天數上分別是控制組的85%與1.07倍。

(6) 平均總葉片數——控制組兩星期後增加12.67片；250ml組及800ml組的增加幅度分別是控制組的70%及1.18倍。

3. 定植株數對台灣藜植株高度的影響：

(1) 平均株高——控制組在91天後增加49.67cm；一組增加幅度為控制組的1.16倍；五株組增加幅度則只有控制組的87%。

(2) 平均穗數——控制組為5.67個。一株組與五株組分別為控制組的1.15倍與78%。

(3) 平均葉面積——一株組第十位葉平均葉面積大小為69.14 cm²；控制組與五株組分別是一株組的77.4%與88.5%。





(4) 平均莖粗——控制組為1.1cm。一株組與五株組在平均莖粗上分別為控制組的1.1倍與89%。

(5) 抽穗所需平均天數——控制組抽穗平均天數為93天。一株組與五株組分別是控制組的1.23倍及1.18倍。

(6) 平均總葉片數——控制組91天後增加17.63片；一株組增加幅度為控制組的1.47倍；五株組增加幅度只有控制組的44.2%。

4. 不同日夜溫差對台灣藜植株高度的影響：

(1) 平均株高——30/25°C組增加37.58±4.91cm；20/15°C組與25/20°C組株高增加幅度為30/25°C組的38.4%及88.0%。

(2) 平均穗數——30/25°C組為6.33±1.37個；20/15°C組與25/20°C組在抽穗數上分別為30/25°C組的80.0%與68.4%。

(3) 平均莖粗——30/25°C組為0.72±0.23cm；20/15°C組與25/20°C組在平均莖粗上分別為30/25°C組的1.53倍與1.18倍。

(4) 抽穗所需平均天數——30/25°C組為62.77±1.91天；20/15°C組與25/20°C組在抽穗天數上分別是30/25°C組的1.24倍及1.02倍。

(5) 平均總葉片數——30/25°C組則增加5.17±0.66片；20/15°C及25/20°C組葉片數增加幅度為30/25°C組的29.0%及87.0%。

(6) 種子重量——30/25°C組為0.35±0.17g。20/15°C組與25/20°C組在平均種子重量上分別為30/25°C組的1.07倍與1.03倍。

5. 不同生長溫度對台灣藜植株高的影響：

(1) 平均株高——控制組增加35.5±11.06cm；30/25°C組與35/25°C組株高增加幅度分別為控制組的1.31倍與98.53%。

(2) 平均穗數——控制組為7.33±2.92個；30/25°C組與35/25°C組在抽穗數上分別為控制組的81.82%與92.05%。

(3) 抽穗所需平均天數——控制組抽穗平均天數為117±15.9天；30/25°C組與35/25°C組在抽穗天數上分別是控制組的80.34%及91.45%。





(4) 平均總葉片數——控制組增加 7.67 ± 2.78 片；30/25°C 組與35/25°C 組分別為控制組的-50 %與40.58 %。

(5) 種子重量——控制組為 0.76 ± 0.43 g；30/25°C 組與35/25°C 組平均種子重量增加幅度為分別為控制組的46.07 %與40.45 %。

6. 不同灌溉溫對台灣藜植株高度的影響：

(1) 平均株高-27°C 組增加 13.62 ± 2.51 cm；5°C、10°C 組、35°C 組、50°C 組與60°C 組的株高增加幅度分別為控制組的1.78倍、88.7%、90.6%、1.07倍及1.33倍。

(2) 平均穗數——控制組平均每株抽穗 8.0 ± 1.29 個；5°C 組、10°C 組、35°C 組、50°C 組與60°C 組分別是控制組的68.8%、87.5%、1.06倍、1.41倍與77.5%。

(3) 平均莖粗——控制組的平均莖粗為 0.87 ± 0.13 cm；5°C 組、10°C 組、35°C 組、50°C 組與60°C 組分別是控制組的98.1%、90.2%、88.5%、1.04倍、78.26%與96.2%。

(4) 抽穗所需平均天數——控制組為 138.5 ± 5.24 天；5°C 組、10°C 組、35°C 組、50°C 組與60°C 組分別是控制組的45.7%、99.2%、94.9倍、1倍與66.4%。

(5) 平均總葉片數——控制組增加 3.0 ± 1.64 片；5°C 組、10°C 組、35°C 組、50°C 組與60°C 組葉片增加幅度分別為控制組的1.56倍、1.17倍、89%、94.3%及59%。

(6) 種子重量——控制組的平均種子重量為 0.421 ± 0.13 g，5°C 組、10°C 組、35°C 組、50°C 組與60°C 組重量分別是控制組的1.89倍、1.16倍、84.78%、1.61倍與91.18%。

7. 摘心對台灣藜植株高度的影響：

(1) 平均株高——控制組增加 35.8 ± 1.79 cm；20cm組、30cm組與40cm組增加幅度分別為控制組的65.19 %、66.8 %及93.51 %。

(2) 平均穗數——控制組平均每株抽穗 7.33 ± 1.25 個；20cm組、30cm組及40cm分別是控制組的54.6%、45.4%及86.4%。

(3) 平均莖粗——控制組的平均莖粗為 0.85 ± 0.17 cm；20cm組、30cm組與40cm組莖粗分別是控制組的94.42%、1.02倍與92.16%。

(4) 抽穗所需平均天數——控制組為 107.17 ± 3.8 天；20cm組、30cm組與40cm組在抽





穗所需天數上分別是控制組的94.43%、1.04倍與95.8%。

(5) 平均總葉片數-控制組增加 5.17 ± 1.25 片；20cm組、30cm組與40cm組增加幅度分別為控制組的-74.19%、-58.06%及10.84%。

(6) 種子重量——控制組平均種子重量為 0.76 ± 0.25 g；20cm組、30cm組及40cm分別是控制組的84.68%、44.85%及57.94%。

8. 台灣藜紅色葉片與綠色葉片之比較：

(1) H_2O_2 含量—紅色葉片 H_2O_2 含量為 34.0 ± 2.76 nmol/g，綠色葉片則為 27.5 ± 2.6 nmol/g；紅色葉片的 H_2O_2 含量為綠色葉片的1.24倍

(2) POD活性—紅色葉片POD活性為 72.0 ± 11.0 A470/mg protein；綠色葉片其POD活性為 1.5 ± 0.16 A470/mg protein；紅色葉片的POD活性為綠色葉片的48倍

(3) ETR—紅色葉片的ETR值比綠色葉片ETR值降低許多。

(4) 台灣藜葉片顏色轉換機制：在我們的實驗中發現台灣藜具有極高之光合作用效率，其PSII的電子傳遞速率明顯高於水稻。然而在此高效率電子傳遞下容易發生電子未耦合(uncoupling)現象，也就是電子無法全部傳遞給FNR以合成NADPH。此時過多之電子會散佈在葉綠體中形成自由基，此自由基會造成過氧化物(Reactive Oxygen species, ROS)暴增。ROS進而造成葉綠素崩解導致葉片顏色轉紅。而在此同時植物也會誘導POD活性來移除過氧化物，以避免細胞走向程式死亡路徑(Programmed Cell Death, PCD)。





六、結論：

使台灣藜矮化及葉片變色之最佳條件如下：(1) 矮化：在眾多條件中，以不同日夜溫試驗20(日)/15(夜)°C處理的植株高度只有控制組的38%，並且下層葉片會慢慢變為紅色。(2) 葉片變色：在實驗中發現高溫、高光照與低溫水灌溉均會迅速造成葉片顏色轉紅，然而高溫與高光照處理時間過久會造成植株死亡。目前以低溫水灌溉處理較為容易也不會造成植株過度受損。

根據結果顯示，以不同日夜溫試驗20(日)/15(夜)°C處理能達到最好效果，此處理下之植株高度只有控制組的38%。而此種條件在秋冬之際的雲嘉南濱海空曠之地容易達成，因此種苗業者可在此種條件下大量生產矮化品種的台灣藜。此外，在這些處理過程中也發現逆境會造成台灣藜葉片轉紅，因此可能開發其成為耶誕節除了聖誕紅之外的另一選擇。許多報告指出光照與溫度會影響植物光合作用電子傳遞鏈，進而產生過多之過氧化物；而此過氧化物會造成葉綠素崩解使得葉片轉色。因此我們也分析台灣藜在高溫時期光合作用電子傳遞鏈效率與過氧化物含量。結果顯示高溫會使光合作用電子傳遞鏈效率迅速下滑，進而造成過氧化物含量與相關酵素活性上升；而葉綠素也因此有崩解現象。然而此種處理所造成之紅葉色澤不夠深，因此做為耶誕節園藝作物之可能性也降低許多。整體而言，透過逆境處理生產矮化台灣藜是原住民鄉鎮可以發展的方向；目前的困境在於逆境處理矮化的台灣藜花穗數也會減少。因此未來若能配合育種技術培育出矮化且多花穗之台灣藜應是一較可行之做法。





七、參考文獻：

- 張錦興 台南區農業改良場 天南星科盆栽植物生產技術。
- 李志仁 (1993) 聖誕紅盆花以溫度和水分控制高度之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- 朱格麟 (1995) 藜科植物的起源、分化和地理分布。植物分類學報 34:486-504。
- 葉德銘 (1996) 潮汐灌溉系統對蔓綠絨，白鶴筍生長及水分，礦物養分利用率之影響 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告。
- 張芳銘 (1997) 台灣食用藜之研究。台灣大學農藝學研究所碩士論文，83頁。
- 郭能成、林萬居 (1997) 民俗作物藜之利用評估—播種密度對植株生質量及籽實產量之影響(夏秋作)。雜糧作物試驗研究年報 86：371-378。
- 郭能成 (1998) 民俗作物藜之利用評估—播種密度對植株生質量及籽實產量之影響(冬季裡作)。雜糧作物試驗研究年報 87：372-379。
- 郭能成 (1999) 民俗作物藜之利用評估—播種密度對植株生質量及籽實產量之影響(春作)。雜糧作物試驗研究年報 88：307-314。
- 葉茂生 (1999) 台灣山地作物資源彩色圖鑑。台灣省政府農林廳編，217頁。
- 郭能成 (2000) 藜高產性狀之探討。雜糧作物試驗研究年報 89：288-295。
- 林純瑛 (2000) 生長調節劑對盆栽秋石斛蘭矮化及開花之影響。花蓮區研究彙報18：33-42。
- 鍾旻潔 (2002) 溫度、季節、容器大小與矮化劑對盆菊生育及品質之影響。台灣大學農藝學研究所碩士論文。
- 孫永偉 (2004) 冷水澆灌矮化番茄苗機制之探討。國立中興大學園藝學系博士論文。
- 詹哲明 (2004) 生長抑制劑、硝酸鈣以及摘心對聖誕紅盆花品質之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- 王惠娟 (2005) 紅藜不同階段光合作用潛力及相關生理活動之變化。國立屏東科技





大學森林系碩士論文。

郭耀綸 (2008) 民族植物紅藜的栽培與生態生理特性(3)。行政院農業委員會林務局九十七科技計畫研究報告，7頁。

蔡碧仁 (2008) 民族植物紅藜之營養及機能性成分之永續利用(3)。行政院農業委員會林務局九十七科技計畫研究報告，28頁。

Berhage R.D., D. Heins, M. Karlsson, J. Erwin, W. Carson. (1989) Pinching technique influences lateral shoot development in poinsettia. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 144(6):909-914

Campbell BR and Bonner BA (1986) Evidence for Phytochrome Regulation of Gibberellin A(20) 3beta-Hydroxylation in Shoots of Dwarf (lele) *Pisum sativum* L. *Plant Physiol.* 82(4):909-15.

Johnson, D. L. (1990) New grains and pseudograins. p.122-127. In: Janick, J., and J. E. Simon (eds.). *Advances in New Crops*. Timber Press. Portland.

Harvaux and Klopstech (2001) The protective functions of carotenoid and flavonoid pigments against excess visible

radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis* npq and tt mutants. *Planta.* 213(6):953-66.

Krieger-Liszak A, Fufezan C, Trebst A. (2008) Singlet oxygen production in photosystem

II and related protection mechanism. *Photosynth Res.* 98(1-3):551-64.

Laura A. Flores-Ramírez and Marco A. Liñán-Cabello (2007) Relationships among thermal stress, bleaching and oxidative damage in the hermatypic coral, *Pocillopora capitata*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 146(1-2):194-202.

Partap, T., B. D. Joshi, and N. W. Galwey (1998) Chenopods. *Chenopodium* spp. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 22. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research,





Gatersleben/International Plant Genetic Research Institute, Rome, Italy.
67 pp.

Peterson T. A., M. D. Reinsel and D. T. Krize. (1991). Tomato
(*Lycopersicon esculentum* Mill., cv. "Better Bush")

plant response to root restriction. J Exp.Bot. 42:1421-1429.

Partap, T., and P. Kapoor (1985) The Himalayan grain chenopods. I.
Distribution and ethnobotany. Agriculture Ecosystems Environments 14: 185-
199.

Schlick, G., and D. L. Bubenheim (1996) Quinoa: candidate crop for
NASA' s controlled ecological life support systems. p.632-640. In:
Janick, J. (ed.). Progress in New Crops. ASHS press. Arlington. VA.

Tanja Sch" afer, Bernd Honermeier (2006) Effect of sowing date and plant
density on the cell morphology of hemp (*Cannabis sativa* L.) Industrial
Crops and Products 23:88 - 98

Weiss D. and R.Shillo (1998) Axillary bud inhibition induced young leaves
or bract in *Euphorbia pulcherrima* Wild.

Ann. Bot.62:435-440

Went F. W. (1953) The Effect of Temperature on Plant Growth. Annual
Review of Plant Physiology Vol. 4: 347-362

White J. C., G. C. Medlow, J. R. Hillman, and M. B. Wilkins. (1975)
Correlative inhibition of lateral bud growth in

Phaseolus vulgaris L. Isolation of indole acetic from the inhibitory
region J. Expt. Bot. 26:419-424

