

台灣金線連之天麻素萃取方法¹

蕭翌柱^{2,4} 何婉綸³

摘 要

蕭翌柱、何婉綸。2012。台灣金線連之天麻素萃取方法。台灣農業研究 61:259–268。

天麻素 (gastrodin) 屬於酚類化合物，也是台灣金線連重要的次級代謝物質之一，本研究之主要目的，在於建立台灣金線連的天麻素萃取技術及比較其在不同器官中的含量變化。試驗結果顯示，鮮品材料先經冷凍乾燥預處理，再用純水作為溶劑並設定溫度在 50°C 時，為萃取天麻素最適宜的條件。以純水作為溶劑的天麻素平均萃取量 ($300.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 43.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 高於使用 99.9% 甲醇溶劑、95% 乙醇溶劑和 50% 乙醇溶液者。台灣金線連植株不同器官中，以根系的天麻素含量最高 ($2241.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 331.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 且依序大於花朵 ($660.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 179.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、葉片 ($402.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 50.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、花序軸 ($285.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 35.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 或莖 ($273.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 33.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 等部位。本研究結果未來將可提供量產高優質台灣金線連種苗及研發保健產品之重要參考。

關鍵詞：台灣金線連、萃取、天麻素。

前 言

台灣金線連 (*Anoectochilus formosanus* Hayata) 為蘭科多年生草本植物，屬於地生蘭類 (Leou 2000)，近百年來，早已被我國民間視為保健功效卓著的珍稀植物，故另有藥王、藥虎、烏蔘、金線蓮、虎頭蕉及雉雞草等名稱 (Chiu & Chang 1995)，其主要分布於海拔 800–1500 m 冷涼、高濕的原始林蔭處，生育適溫約為 18–24°C，在台北市陽明山、宜蘭棲蘭山、新竹司馬庫斯山區、南投水社大山、嘉義奮起湖一帶及南部的南仁山等原始林地均可

見其蹤跡。根據近代刊行的藥草典籍記載，台灣金線連性味甘、平，入肝、脾、腎三經，故民間常用為清涼解熱、祛風活血、止血、解鬱、強心、利尿，降血糖、降血壓，治肝亢、肝炎、肺病、肺癆、胸腹痛、小兒發育不良、蛇類咬傷及肝脾諸臟器疾病之滋養強壯劑 (Kan 1979; Kan 1986)。

有關台灣金線連藥效和藥理的動物試驗報告，現已初步證實純水抽出液對於四氯化碳 (CCl₄) 誘發的肝臟毒性，具有降低體內麩氨酸草醋酸轉氨基醯素 (glutamic oxaloacetic

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2692 號。接受日期：101 年 7 月 30 日。

2. 本所作物種原組助理研究員。台灣 台中市。

3. 本所生物技術組計畫助理。台灣 台中市。

4. 通訊作者，電子郵件：yjshiau@tari.gov.tw；傳真機：(04)23331705。

transaminase, GOT) 及麩氨酸焦葡萄糖轉氨基醯素 (glutamic pyruvic transaminase, GPT) 的作用，且保肝效果優於絞股藍和靈芝等藥材，另在抗腫瘤、抗發炎、抗氧化作用、免疫調節作用、保肝、降高血糖及降高血脂等方面，亦有正面的助益；此外，國內、外學者們也相繼在台灣金線連根莖部位檢測發現含有抑制血小板中前列環素產生的物質，葉片則含有促進內皮組織中前列凝素合成的成分，此類活性化合物在治療心血管疾病可能具有正面效用 (Mak *et al.* 1990; Huang *et al.* 1991)。後續的研究也顯示，在台灣金線連植株萃取液另含有金線連醣苷 (kinsenoid)、金線連酮 (kincenone) 及天麻素 (gastrodin) 等機能性成分，且其抗氧化能力足以媲美銀杏葉和兒茶素 (Ito *et al.* 1993; Du *et al.* 1998; Hung 2000; Wang *et al.* 2002; Tzeng 2005)。天麻素屬於天然的酚類化合物，亦為深具保健功效的植物次級代謝物質 (Zhou *et al.* 1979)，目前市售各類含天麻素之高價保健食品或營養液，其成分大多萃取自蘭科有名的中藥材-天麻，由於台灣金線連全草萃取液中也發現含有天麻素和天麻苷元 (gastrodigenin) 等珍貴成分，故可作為台灣金線連品質分析的重要指標，更可藉此與一般傳統藥草市場中常被混用的 *Goodyera* 屬及 *Zebrina* 屬植物進行區別 (Lin & Namba 1981)。

現階段有關天麻素成分在台灣金線連植株各器官間的含量變化迄今仍未見報導，且最適當的天麻素萃取技術仍有賴進一步加以確立，故本研究之主要目的，在於有系統地探討台灣金線連植株體內天麻素成分的分布情形及最佳的萃取方法與條件，並檢測不同栽培時期對於含量高低的影響。上述各項試驗成果，將有助於建立台灣金線連天麻素的分析技術和栽培方針，未來，若能應用於產量高優質種苗及有用次級代謝物保健產品的開發，不但有助於農村經濟之繁榮和提高農民收益，更有利於我國農

業生技產業的發展且兼顧自然資源永續利用的目標。

材料與方法

天麻素之萃取流程及分析條件

萃取流程：秤取供試樣本鮮重並分置於長、寬、高各為 38.5、28.5 和 2.4 cm 的不鏽鋼盤後進行乾燥處理。乾燥樣本精秤其乾物重再磨粉取樣，每次試驗各取 0.2 g 粉末，在加入 10 mL 溶劑後，以 Elma[®] 超音波震盪器 (T-760DH, Germany) 進行 1 小時的震盪及定溫萃取。萃取液在 Hermle[™] 高速離心機 (Z383K, Germany) 及 15°C 定溫條件下，以轉速 5000 rpm 離心 10 分鐘，再吸取上清液。取得的上清液以 Speed Vac[®] 真空減壓離心濃縮機 (SC110, NY) 進行濃縮，再用去離子水定量至 5 mL，經 0.22 μm 微孔過濾膜過濾後，使用高效液相層析儀 (HPLC) 進行分析。

高效液相層析儀分析條件：分析天麻素使用的 HPLC 系統包括分離模組 (Waters 2695 HPLC separation module, USA)、紫外光/可見光偵測器 (2489 UV/Visible Detector, USA) 以及自動樣品注入器。固定相 (stationary phase) 使用 Atlantis[®] dC18 (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm Waters, Ireland) 且管柱溫控設定為 40°C；移動相 (mobile phase) 則是超純水及乙腈 (ACN, Germany) (95 : 5; v/v) 混合溶液，並在流速 0.5 mL \cdot min⁻¹ 條件下，以濃度梯度 (gradient) 方式進行流注。所有供試樣本和標準品溶液在光電矩陣檢測器以 220 nm 光波長進行檢測前，先以 0.22 μm 過濾膜 (Millipore, Carrigtwohill, Co. Cork, Ireland) 濾除雜質，再以每次 30 μL 的注射量進行含量分析。本試驗使用之天麻素標準品購自中華醫藥產業股份有限公司 (Lot. 20071114, 台灣)，並且先用去離子水溶解後，再分別配製成 1、10、50、100 和 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的標準濃度，以繪製標準檢量線及層析光譜。

天麻素之萃取及定量試驗

不同溶劑對於天麻素萃取量的影響：台灣金線連苗株經馴化出瓶再移植於黑色培育盤(長×寬×高=26 cm×46 cm×6.5 cm)，每盤種植80株，待溫室栽培2個月後進行採樣。每次取用20株作為供試樣本，先用50°C烘箱烘乾後，再依前述流程進行萃取，試驗使用的溶劑種類分別為99.9% 甲醇(Mallinckrodt Chemical Ltd., USA)、95% 乙醇(Taiwan Sugar Corporation, Taiwan)、50% 乙醇水溶液和去離子水等四種，萃取時之水浴溫度設定為50°C並待各處理組取得萃取液再分別檢測和比較天麻素的含量。

不同水溫對於天麻素萃取量的影響：台灣金線連苗株經馴化且出瓶移植於如上述之黑色培育盤中，經溫室栽培2及3個月後進行採樣，供試樣本先用50°C烘箱烘乾再依前述萃取流程進行製備，並使用去離子水作為萃取溶劑；萃取時之水浴溫度分別設定為25、50和90°C，並待各處理組取得萃取液再分別檢測和比較天麻素的含量。

不同月份移植栽培對於天麻素萃取量的影響：在2009年5、7和9月份分別將台灣金線連瓶苗馴化出瓶並移植於黑色培育盤中，經溫室栽培2個月後採樣。供試樣本先用50°C烘箱烘乾再依前述萃取流程進行製備，並使用去離子水作為萃取溶劑，萃取成分之水浴溫度設定為50°C，各處理組取得萃取液後，再分別檢測和比較天麻素的含量。

不同乾燥方法對於天麻素萃取量的影響：台灣金線連苗株經馴化出瓶，再分別栽種於溫室2和3個月後進行採樣，供試樣本分別採用50°C熱風乾燥機(DO-60, 乾曜, 台灣)或是-20°C冷凍乾燥機(FD-25B3P8, 宏誠, 台灣)進行乾燥處理，乾燥後的樣本再依前述萃取流程進行製備，並使用去離子水作為萃取溶劑；萃取時之水浴溫度設定為50°C，並待各

處理組取得萃取液再分別檢測和比較天麻素的含量。

植株不同器官之天麻素含量比較：本試驗使用的台灣金線連植株購自南投縣埔里鎮鍾鼎江先生之山城園藝場，其苗株係自2008年8月份馴化出瓶並移植於塑膠網籃(直徑28 cm；高10 cm)，每籃種植數量60株，再於外圍包覆一層透明塑膠袋進行培育。在溫室栽培1年2個月後，植株完成抽苔並有花朵開始綻放時進行採樣分析，每1重複隨機採樣10株。供試植株先以解剖刀由上而下切取不同部位，並依序區分為花朵、花序軸、莖、葉片和根等五種器官，再個別採用-20°C冷凍乾燥處理，乾燥後的樣本再依前述萃取流程進行製備，並使用去離子水作為萃取溶劑，萃取時之水浴溫度設定為50°C，待各部位處理組取得萃取液再使用高效液相層析儀檢測和比較天麻素含量。

試驗統計分析

以上試驗每一處理皆重複3次，獲得的資料計算各處理之算術平均值及其標準機差(standard error, SE)，並以SAS(SAS Institute Inc. 2001)統計軟體進行變方分析(analysis of variance, ANOVA)，在5%顯著性水準下以最小顯著差異性測驗(least significant difference test, LSD test)檢定各處理間差異的顯著性。

結 果

不同溶劑對於天麻素萃取量的影響

台灣金線連苗株經馴化且出瓶移植於溫室2個月後，生長勢強健且未受病蟲危害，可進行採樣及烘乾作為供試樣本。試驗分析結果顯示，使用99.9% 甲醇作為溶劑所萃取得到之台灣金線連天麻素含量為 $183.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 40.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (圖1)；以95% 乙醇作為溶劑萃取得到的天麻素含量最少，僅有 $34.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 15.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ；使用50% 乙醇水溶液作為溶劑時，其天麻素萃取量有 $148.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 22.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ；至於，以去

離子水作為溶劑萃取到的天麻素含量則最高為 $300.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 43.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，故萃取效能經比較後顯著優於其他各處理組。

不同水溫對於天麻素萃取量的影響

在溫室栽培 2 及 3 個月之台灣金線連植株經採樣及烘乾後，供試樣本選擇以去離子水作為溶劑，並在 25°C 水浴溫度中振盪萃取的天麻素含量分別為 $193.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 48.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 及 $116.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 30.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (圖 2)；以 50°C 振盪萃取的天麻素含量最高，分別為 $284.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 81.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 及 $275.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 35.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，且數值顯著高於其他處理組；若是水浴萃取溫度提高至 90°C ，其天麻素萃取量反而降低，分別僅有 $125.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 18.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $89.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 26.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

不同月份移植栽培對於天麻素萃取量的影響

在不同月份進行移植並於溫室栽培 2 個月之台灣金線連植株，經採樣烘乾後振盪萃取的天麻素含量，在 2009 年 5 月份夏季種植者為 $300.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 43.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (圖 3)；在 7 月份種植者則為 $284.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 81.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ；至於，在 9 月份秋季種植者為 $314.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 71.9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，三種處理組經比較後並無顯著差異。

不同乾燥方法對於天麻素萃取量的影響

在溫室栽培 2 及 3 個月之台灣金線連植株經採樣並以 50°C 熱風乾燥機烘乾後，供試樣本以去離子水作為溶劑並在 50°C 水浴振盪萃取的天麻素含量分別為 $284.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 81.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 及 $275.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 35.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (圖 4)；若使用 -20°C 冷凍乾燥機進行乾燥再振盪萃取的天麻素含量分別為 $616.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 20.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 及 $650.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 113.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，顯著高於以熱風乾燥之處理組。

植株不同器官之天麻素含量比較

逢機採收在溫室栽培期已達 1 年 2 個月以上且抽苔開花之台灣金線連植株，以解剖刀分別切取花朵、花序軸、莖、葉片和根等五種不同部位器官，各供試部位先以 -20°C

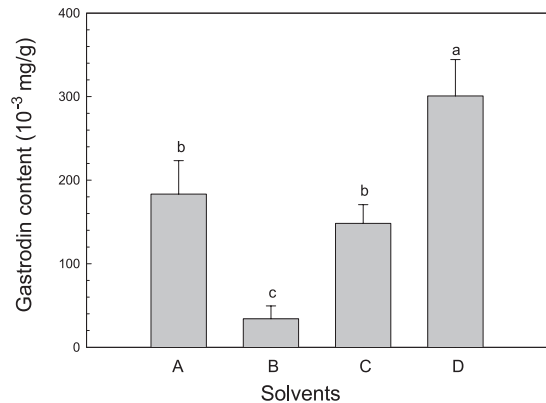


圖 1. 不同溶劑對於台灣金線連植株天麻素萃取量之影響。(A) 99.9% 甲醇；(B) 95% 乙醇；(C) 50% 乙醇水溶液；(D) 去離子水。試驗計算平均值和標準機差 ($n = 3$)。

Fig. 1. Effect of various solvents on extraction contents of gastrodin of *Anoectochilus formosanus* Hayata. Solvents: (A) 99.9% methanol; (B) 95% ethanol; (C) 50% ethanol solution, and (D) deionized water. Vertical bars indicate standard error ($n = 3$).

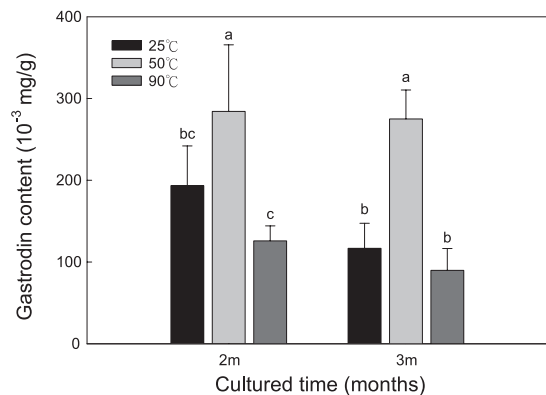


圖 2. 不同水溫對於台灣金線連植株天麻素萃取量之影響。試驗計算平均值和標準機差 ($n = 3$)。

Fig. 2. Effect of various water temperatures (25, 50, and 90°C) on extraction contents of gastrodin of *Anoectochilus formosanus* Hayata. Vertical bars indicate standard error ($n = 3$).

冷凍乾燥後，採用上述最適宜的條件進行振盪萃取，其花朵萃取液經比對高效液相層析儀層析圖譜 (圖 5) 得知，天麻素含量為 $660.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 179.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (圖 6)；花序軸以

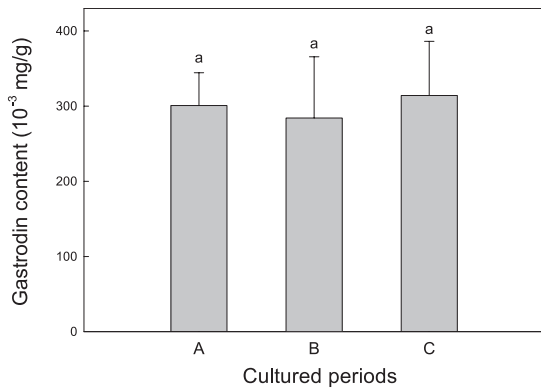


圖 3. 不同栽培時期對於台灣金線連植株天麻素含量之影響。(A) 五月-六月；(B) 七月-八月；(C) 九月-十月。試驗計算平均值和標準機差 (n = 3)。

Fig. 3. Effect of various cultural periods on extraction contents of gastrodin of *Anoetochilus formosanus* Hayata. Cultured period: (A) May-June; (B) July-August, and (C) September-October. Vertical bars indicate standard error (n = 3).

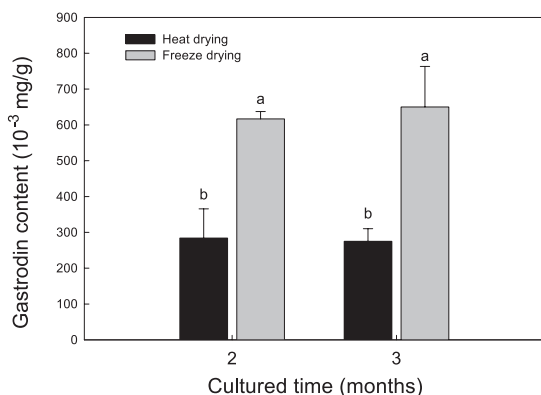


圖 4. 不同乾燥方法 (烘乾法和冷凍乾燥法) 對於培養 2 個月及 3 個月的台灣金線連植株天麻素萃取量之影響。試驗計算平均值和標準機差 (n = 3)。

Fig. 4. Effect of various drying methods (heat-dried and freeze-dried) on extraction contents of gastrodin from 2-month-old and 3-month-old plantlets of *Anoetochilus formosanus* Hayata. Vertical bars indicate standard error (n = 3).

及莖節的含量各僅有 $285.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 35.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 及 $273.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 33.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ；葉片部位的天麻素含量則為 $402.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 50.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ；至於植株根段之天麻素含量最高，平均達到

$2241.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 331.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，經比較後顯著高於其他部位，經換算含量比值約為莖節之 8.2 倍，若計算全植株天麻素之平均含量則為 $772.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

討 論

天麻素是台灣金線連和天麻 (*Gastrodia elata* Blume) 等珍稀藥用保健植物主要活性成分之一，此種重要成分的藥物動力學研究已取得良好的進展 (Chiang 2003)，且其藥理試驗也證明具有鎮靜、安眠、抗驚厥、增強記憶力和延遲衰老等功效 (Hsieh *et al.* 1997; Kim *et al.* 2001)，至於改善腦部血管供氧狀況和神經衰弱症也有正面的助益。本研究係取天麻素作為評估台灣金線連供試樣本品質的指標成分並探討最適當的萃取條件與方法。近年曾有報導指出，收集自大陸貴州、山西和雲南地區的天麻種原，可先以 -70°C 的低溫冷凍儲藏後，再使用 70% 乙醇水溶液萃取天麻素進行 HPLC 含量檢測與分析 (Tao *et al.* 2009)；但本試驗結果得知，台灣金線連樣本先以 -20°C 冷凍乾燥後，若以純水作為溶劑再設定提取溫度為 50°C 的條件，則天麻素的萃取量將較使用 99.9% 甲醇或乙醇溶劑者高 (圖 1)，此一結果也與學者發表純水之萃取率遠高於使用乙醇溶劑 (Liu *et al.* 2002) 的結論相符。此外，台灣金線連樣本以 90°C 的高溫進行水萃，結果顯示天麻素的提取效能比使用 50°C 者低 (圖 2)，其原因可能是天麻素長期處於高水溫環境下容易受到破壞分解，故建議國人在日常燉補時，可待其他中藥及食材煮熟完成後，再放入已清洗乾淨並經沸水迅速川燙殺菌過之台灣金線連鮮品一起食用，此種方式應有助於提高台灣金線連良好的保健成效。

在夏、秋二季依不同月份移植及栽培台灣金線連種苗 2 個月後，檢測各處理組間之天麻素含量似無顯著的差異 (圖 3)；若比較栽培期

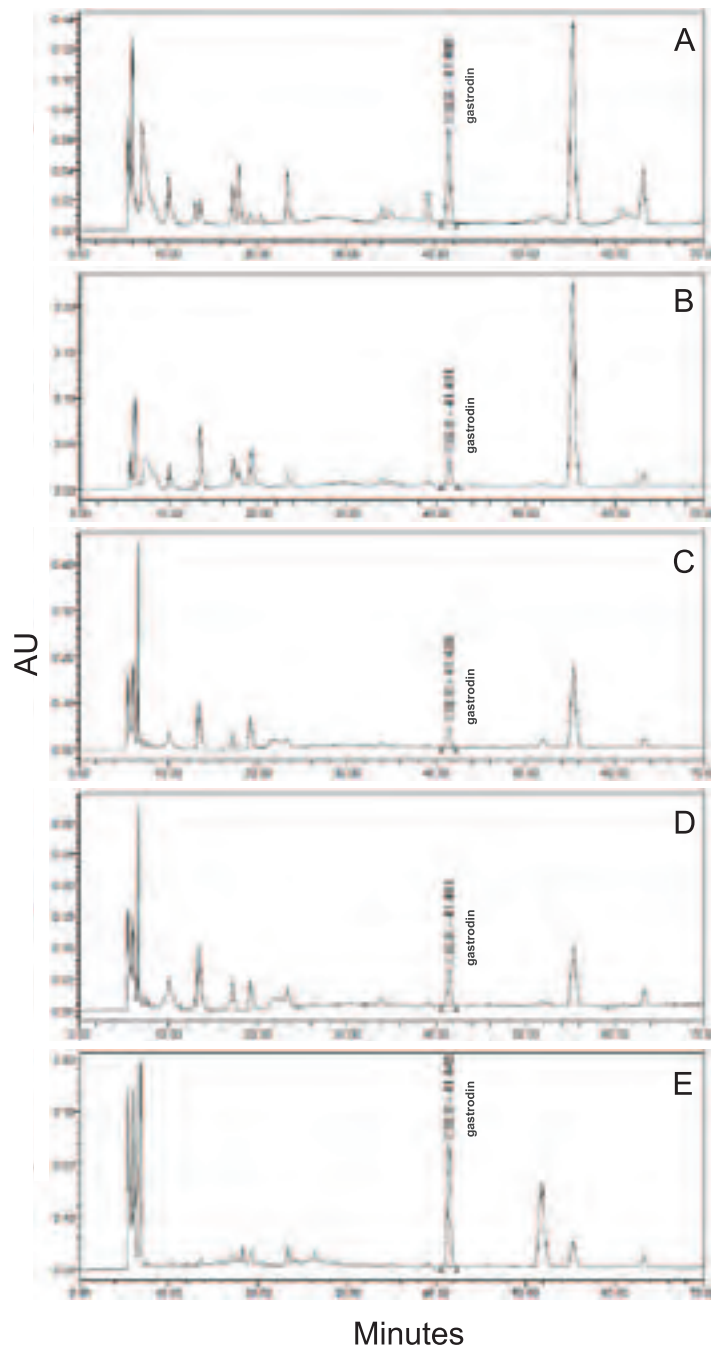


圖 5. 台灣金線連植株不同器官之天麻素含量高效液相層析儀 (HPLC) 層析光譜。(A) 花朵；(B) 花序軸；(C) 莖；(D) 葉片；(E) 根。

Fig. 5. The high performance liquid chromatography (HPLC) chromatograms of gastrodin content in various plantlet organs of *Anoectochilus formosanus* Hayata. Plantlet organs: (A) flower; (B) rachis; (C) stem; (D) leaf, and (E) root.

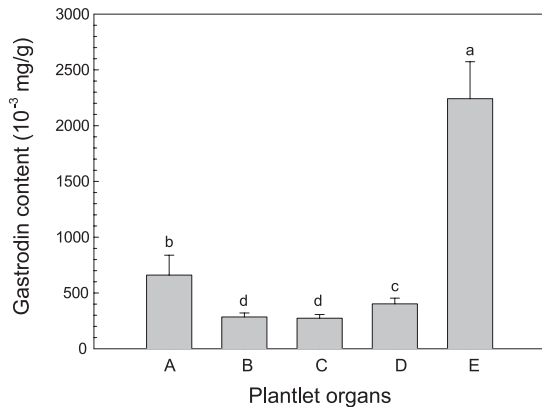


圖 6. 台灣金線連植株培養 1 年 2 個月後不同器官之天麻素含量。(A) 花朵；(B) 花序軸；(C) 莖；(D) 葉片；(E) 根。試驗計算平均值和標準機差 (n = 3)。

Fig. 6. Contents of gastrodin in various plantlet organs of *Anoectochilus formosanus* Hayata cultured for one year and two months. Plantlet organs: (A) flower; (B) rachis; (C) stem; (D) leaf, and (E) root. Vertical bars indicate standard error (n = 3).

2 和 3 個月供試植株的天麻素含量雖無顯著不同 (圖 4)，但 Tzeng (2005) 的調查結果卻顯示台灣金線連瓶苗 (初始鮮重約 1.1 g/株、莖徑 2.2 mm) 在馴化移植 2 和 3 個月後，天麻素含量會先降低，再隨著栽培期的增加逐步回升，此一結論和本試驗 (初始鮮重平均 1.7 g/株、莖徑 2.5 mm) 獲得的數據不盡相同，推測主要原因可能與選用的瓶苗株齡、栽培環境及種苗根系發育情形有關。以本試驗的檢測結果為例，台灣金線連苗株培養 1 年 2 個月後，分析不同部位器官的天麻素含量以根部最高 (圖 5、6)，平均可達到 $2241.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，花朵的含量次之為 $660.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，莖 ($273.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 和葉片 ($402.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 部位含量則偏低，因此，當根系數目愈多和生長勢愈強健且其生物量占全植株重量的比例愈高時，計算全株的天麻素平均含量可能比其他較瘦弱的苗株高，換言之，若移植 2 或 3 個月的苗株發育健壯且栽培環境和溫度均適宜時，彼此間的天麻素含量應無顯著

差異。

天麻素等次級代謝物質早已被研究學者們完成結構鑑定，並確認其為植物體自生的酚類化合物 (Zhou *et al.* 1979; Hayashi *et al.* 2002; Pyo *et al.* 2004)，酚類、萜類 (terpenoids) 及生物鹼 (alkaloids) 等物質，大多是由植物體內之碳水化合物、脂肪或胺基酸進行生化代謝及衍生而來，故皆屬於植物體內重要的代謝產物。以化學結構而言，酚類化合物至少是以一個羥基或衍生官能基連結在芳香族環系統 (aromatic ring system) 的物質。植物體除正常的代謝功能外，其生成酚類化合物的主要目的在於癒傷、抗菌或抗逆境。植物在生長發育期間，若受到自然界天候變化及風雨吹襲、相互碰撞、昆蟲叮咬、鳥獸啃食或人為切取與刻傷等外部侵害時，其自體會啟動氧化酵素活性並催化一連串的生化反應，待生成的酚類與其他次級代謝物質蓄積於傷口處，再經氧化作用後產生褐化物質，即能避免汁液持續外流並具有防止病原菌感染的作用 (Marks & Simpson 1990; Cheng & Crisosto 1995)。有些研究指出，植物荷爾蒙或生長調節劑的種類與濃度，會影響植物酚類物質的生成量，例如，培養基中添加高濃度的生長激素 (auxin) 將減緩酚類物質的合成 (Zaid 1987)；但細胞分裂素 (cytokinin) 對於酚類化合物之合成則有刺激作用 (Asahira & Nitsch 1969)。由於植物的根尖是細胞分裂素主要的合成位置，且可藉由根的木質部或輸導組織運移至地上部未成熟種子或發育中的果實，此可能也是台灣金線連根系和花朵二個部位比花序軸、莖節和葉片等部位存有較高濃度天麻素的原因 (圖 5、6)。

本研究除先前已建置完成的天麻素高效液相層析儀分析技術外，綜合上述各項試驗結果得知，台灣金線連植株先經 -20°C 冷凍乾燥處理後，採用純水作為溶劑並在設定提取溫度為 50°C 的條件下，可萃取到較多量的天麻素成

分，此亦為最適當的萃取條件，此外，台灣金線連的根部為天麻素含量最高的部位，在栽培過程中若能誘導產生大量健壯的根系並促進其發育，對於提高天麻素成分的產出量應有明顯的效益，因此，本研究結果將有助於提供未來應用於量產高優質台灣金線連種苗及有用次級代謝物保健產品開發之重要參考。

誌 謝

本試驗承農委會主管科技計畫經費補助(98農科-5.3.3-農-C1)，特此申謝。

引用文獻 (Literature cited)

- Asahira, T. and J. P. Nitsch. 1969. Effect of polarity and kinetin on the browning reaction of *Dioscorea batatas* and *D. japonila*. *Planta* 84:292–294.
- Cheng, G. W. and C. H. Crisosto. 1995. Browning potential, phenolic composition, and polyphenol-oxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120:835–838.
- Chiang, F. M. 2003. The Pharmacokinetic Studies of Gastrodin, *p*-Hydroxybenzyl Alcohol and Uracil The Constituents of *Anoectochilus formosanus* Hayata. Master Thesis, Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical University. Taichung. 102 pp. (in Chinese with English abstract)
- Chiu, N. Y. and K. H. Chang. 1995. Chin-hsin-lien. p.282–283. *in*: The Illustrated Medicinal Plants of Taiwan (4). (Chiu, N. Y. and K. H. Chang, eds.) Southern Materials Center Inc. Taipei. 319 pp. (in Chinese)
- Du, X. M., T. Yoshizawa, and Y. Shoyama. 1998. Butanoic acid glucoside composition of whole body and *in vitro* plantlets of *Anoectochilus formosanus*. *Phytochemistry* 49:1925–1928.
- Hayashi, J., T. Sekine, S. Deguchi, Q. Lin, S. Horie, S. Tsuchiya, S. Yano, K. Watanabe, and F. Ikegami. 2002. Phenolic compounds from *Gastrodia* rhizome and relaxant effects of related compounds on isolated smooth muscle preparation. *Phytochemistry* 59:513–519.
- Hsieh, M. T., C. R. Wu, and C. F. Chen. 1997. Gastrodin and *p*-hydroxybenzyl alcohol facilitate memory consolidation and retrieval, but not acquisition, on the passive avoidance task in rats. *J. Ethnopharmacol.* 56:45–54.
- Huang, D. D., R. C. S. Law, and O. T. Mak. 1991. Effects of tissue-cultured *Anoectochilus formosanus* Hay extracts on the arachidonate metabolism. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 32:113–119.
- Hung, D. F. 2000. The Mechanism Study of Hepatoprotective Activity of *Boehmeria* Species and *Anoectochilus* Species. Master Thesis, Graduate Institute of Natural Products, Kaohsiung Medical University. Kaohsiung. 95 pp. (in Chinese with English abstract)
- Ito, A., R. Kasai, K. Yamasaki, and H. Sugimoto. 1993. Aliphatic and aromatic glucosides from *Anoectochilus koshunensis*. *Phytochemistry* 33:1133–1137.
- Kan, W. S. 1979. Taiwan Chin-hsin-lien. p.646–647. *in*: Manual of Medicinal Plants. (Kan, W. S., ed.) National Research Institute of Chinese Medicine. Taipei. 711 pp. (in Chinese)
- Kan, W. S. 1986. *Anoectochilus formosanus* Hayata. p.647. *in*: Pharmaceutical Botany. 7th ed. (Kan, W. S., ed.) National Research Institute of Chinese Medicine. Taipei. 699 pp. (in Chinese)
- Kim, H. J., K. D. Moon, S. Y. Oh, S. P. Kim, and S. R. Lee. 2001. Ether fraction of methanol extracts of *Gastrodia* tuber, a traditional medicinal herb protects against kainic acid-induced neuronal damage in the mouse hippocampus. *Neurosci. Lett.* 314:65–68.
- Leou, C. S. 2000. *Anoectochilus blume*. p.746–749. *in*: Flora of Taiwan (5). 2nd ed. (Editorial Committee of the Flora of Taiwan, ed.) Department of Botany, National Taiwan University. Taipei. 1143 pp.
- Lin, C. C. and T. Namba. 1981. Pharmacognostical studies on the crude drugs of Orchidaceae from Taiwan (VI) on 'Kim-sòan-liân' (1). *Shoyakugaku Zasshi* 35:262–271.
- Liu, C. L., M. C. Liu, and P. L. Zhu. 2002. Determination of gastrodin, *p*-hydroxybenzyl alcohol, vanillyl alcohol, *p*-hydroxybenzaldehyde and vanillin in tall *Gastrodia* tuber by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia* 55:317–320.
- Mak, O. T., D. D. Huang, and R. C. S. Law. 1990. *Anoectochilus formosanus* Hay contains substances

- that affect arachidonic acid metabolism. *Phytotherapy Res.* 4:45–48.
- Marks, T. R. and S. E. Simpson. 1990. Reduced phenolic oxidation at culture initiation *in vitro* following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 65:103–112.
- Pyo, M. K., J. L. Jin, Y. K. Koo, and H. S. Yun-Choi. 2004. Phenolic and furan type compounds isolated from *Gastrodia elata* and their anti-platelet effects. *Arch. Pharm. Res.* 27:381–385.
- Tao, J., Z. Y. Luo, C. I. Msangi, X. S. Shu, L. Wen, S. P. Liu, C. Q. Zhou, R. X. Liu, and W. X. Hu. 2009. Relationships among genetic makeup, active ingredient content, and place of origin of the medicinal plant *Gastrodia tuber*. *Biochem. Genet.* 47:8–18.
- Tzeng, S. H. 2005. Tissue Culture of *Anoectochilus formosanus* Hayata and Quantitative Analysis of Gastrodin. Master Thesis, Department of Life Sciences, National Chung-Hsing University. Taichung. 93 pp. (in Chinese with English abstract)
- Wang, S. Y., Y. H. Kuo, H. N. Chang, H. S. Tsay, K. F. Lin, N. S. Yang, and L. F. Shyur. 2002. Profiling and characterization of antioxidant activities in *Anoectochilus formosanus* Hayata. *J. Agric. Food Chem.* 50:1859–1865.
- Zaid, A. 1987. *In vitro* browning of tissues and media with special emphasis to date palm cultures- a review. *Acta Hort.* 212:561–566.
- Zhou, J., Y. B. Yang, and T. R. Yang. 1979. The isolation and identification of chemical constituents of *Gastrodia elata* Bl. *Acta Chimica Sin.* 37:183–189.

Method for Extraction of Gastrodin in *Anoectochilus formosanus*

Hayata¹

Yih-Juh Shiau^{2,4} and Wan-Lun Ho³

Abstract

Shiau, Y. J. and W. L. Ho. 2012. Method for extraction of gastrodin in *Anoectochilus formosanus* Hayata. J. Taiwan Agric. Res. 61:259–268.

Gastrodin is a phenolic compound. It is one of the important secondary metabolites in *Anoectochilus formosanus* Hayata. The objectives of this study were to establish the method for extraction of gastrodin from *A. formosanus* and to compare contents of gastrodin in various parts of plants of *A. formosanus*. Results showed that the proper procedure for extraction of gastrodin from fresh tissues of *A. formosanus* was by extraction of gastrodin from freeze-dried tissues at 50°C, using deionizer water as solvent. The content of gastrodin extracted with deionizer water was $300.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 43.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, and it was significantly higher than those samples extracted by the solvents of 99.9% methanol, 95% ethanol, and 50% ethanol. The content of gastrodin in *A. formosanus* roots was $2241.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, which was significantly higher than gastrodin in the samples of flowers ($660.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 179.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), leaves ($402.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 50.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), rachis ($285.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 35.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) or stems ($273.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 33.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). This study indicates that roots of *A. formosanus* are the best tissues for extraction of gastrodin and that the testing procedure described in this study is useful for selection of *A. formosanus* plantlets with high contents of gastrodin.

Key words: *Anoectochilus formosanus* Hayata, Extraction, Gastrodin.

-
1. Contribution No. 2692 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: July 30, 2012.
 2. Assistant Researcher, Plant Germplasm Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Project Assistant, Biotechnology Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
 4. Corresponding author, e-mail: yjshiau@tari.gov.tw; Fax: (04)23331705.