

Effects of Fertilization on Intact Granules Seed Yield and Antioxidant Capacity of Taiwan Djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.)

Tzu-Ching Wang*

Department of Hospitality Management, Meiho University

Abstract

The objective of this study was to research the cultivation and investigate the antioxidant capacity of the native plant Taiwan djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.) in Taiwan. The results suggest that it is essential to appropriate apply fertilizer when cultivate Taiwan djulis in order to increase output. The yield of intact granules seeds of organic fertilizer group is more than those of chemical and control groups. When at the same concentration, the methanolic extract of Taiwan djulis possesses the more antioxidant capacity than that of ethanol extracts.

Key Words: Taiwan djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.), Cultivation, Antioxidant capacity.



* Corresponding author: tcw0511@gmail.com
DOI : 10.3966/222344892018040801004

施肥對臺灣藜籽實產量及抗氧化力之影響

王子慶

美和科技大學 餐旅管理系

摘要

本研究的目的是研究台灣本土臺灣藜的種植和抗氧化能力。研究結果顯示，臺灣藜之栽培需要適度施用肥料以增加產量，且以施用有機肥者之產量高於施用化學肥料與對照組者。在抗氧化分析方面，以不同溶劑萃取臺灣藜全穀籽實時，發現在相同濃度下時，均以甲醇提取物的抗氧化能力高於乙醇提取物者。

關鍵字：臺灣藜、栽培、抗氧化能力



壹、前言

本土保健植物為值得開發之潛力作物，如何提供衛生、健康及品質優良之原料，是非常值得重視的課題，此外，隨著國人養生保健觀念蔚為風潮，「醫食同根」與「藥食同源」的觀念，也深入到生活中，若能從飲食攝取做好保健工作，將對疾病的預防將會有重大助益。

紅藜是台灣原生種植物之一，在2008年12月正名為臺灣藜(Taiwan djulis)，臺灣藜 (*Chenopodium formosanum* Koidz.) 屬於藜科 (Chenopodiaceae) 中的藜屬 (*Chenopodium*) 植物，排灣族原住民稱之為djulis，是具有保健概念的植物，近年來，更發展出臺灣藜料理或產品，如減糖馬卡龍(張，2015)、月宮餅、酋長派、勇士的戰斧、海味酒釀燒豚飯、元氣藜麵、乳霜美人茶及玫瑰茄凍飲(吳，2017)等，不但豐富餐飲種類，也加強了臺灣藜的應用層面。

台灣藜含有大量的甜菜苷(betainin)(Tsai *et al.*, 2010; Tsai *et al.*, 2011)，臺灣藜萃取物可以保護皮膚免受紫外線損傷，這種保護主要來自黃酮類的芸香苷(rutin)和酚酸類的綠原酸(chlorogenic acid)之貢獻(Hong *et al.*, 2016)，也具有降血壓效果(楊，2017)與保護大鼠肝臟來自於CCl₄及酒精引起的肝損傷(傅，2016；林，2017)，故臺灣藜具有作為開發為養生或保養產品之潛力，因此，本研究擬探討其抗化潛力與有機肥料對其產量之影響，以強化作物競爭並提供實用資訊。

貳、材料與方法

一、材料與藥品

有機肥料「根之肥」購自崇容實業(台南，臺灣)，化學肥料「台肥五號即溶複合肥料」購自臺灣肥料股份有限公司(苗栗，臺灣)。所使用之藥品有 methanol 購自林純試藥公司(日本)，ethanol、iron (II) chloride tetrahydrate 購自 Riedel-deHaen 公司(德國)， α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH)、butylated hydroxyanisol (BHA)、gallic acid、quercetin、ferrozine、potassium ferricyanide、trichloro acetic acid、ferric chloride、ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)購自 Sigma 公司(美國)，hydrochloric acid 購自日本試藥公司(日本)，sodium carbonate、aluminum chloride hexahydrate 購自日本和光純藥工業株式會社(日本)，phosphate buffer 購自 Gibco 公司(美國)。

二、有機栽培試驗

栽培試驗採逢機完全區集設計(randomized complete block design, RCBD)，共分為三個區集，每一區集再分為三小區塊(即三重複)，每一小區塊面積 3.825 m²，分種兩行，行距 30 公分，共 15 株臺灣藜。所施用上述有機肥料，每區塊用量 1.5 包(每包 25 kg，化學肥料每株施用 10 g，對照組為不施用肥料者。種植期間調查臺灣藜植

株性狀與園藝特性，並於結穗時以網袋套袋加以保護籽實，並分別測定第一穗至第三穗之產量。

三、抗氧化成分分析

取有機栽培後之全穀籽實，磨細後(40 mesh, American Society for Testing and Materials)，加5倍甲醇或95%乙醇(w/v)於室溫下震盪萃取1小時，所得到之萃取液以 Whatman No. 1 濾紙進行抽氣過濾後，以迴轉真空濃縮機(N-1000SW, Eyela, Japan)於 40°C 以下濃縮至恆重，取出該濃縮物裝入棕色瓶中，分別置於-20°C 暗處凍藏備用，此即為臺灣藜甲醇萃取物(methanolic extract)與乙醇萃取物(ethanolic extract)，並進行下述之抗氧化探討。萃取率計算如下：

$$\text{萃取率(\%)} = [(\text{濃縮物重量}) / (\text{臺灣藜全穀籽實重量})] \times 100\%$$

(一) 總酚類化合物測定(total phenolics)

根據 Taga *et al.* (1984) 的方法，取標準品 gallic acid 及 20 mg 臺灣藜萃取物分別以 0.3%、HCl 酸化之 methanol/water (60:40, v/v) 溶液溶解至一定濃度。各取 100 μ L 加入 2 mL 2% Na₂CO₃，以均質機(869-18S, Sunbeam-oster, U.S.A.)混合均勻，於室溫下放置 30 min，以分光光度計(U-2001, Hitachi Japan)測其在 750 nm 波長之吸光值，並與 gallic acid 之標準曲線對照。

(二) 類黃酮(flavonoids)

參考 Christel *et al.* (2000) 的方法予以修飾之，即取不同濃度的臺灣藜萃取物，加入等體積之 2% Aluminum chloride hexahydrate 經震盪混合，於室溫下靜置 10 min 後，以分光光度計測其在 430 nm 波長之吸光值，並以標準品 quercetin 製作檢量曲線，計算樣品中所含相當於之 quercetin 類黃酮含量。

四、抗氧化能力測定

取上述甲醇或乙醇萃取物分別進行下述抗氧化能力之測定：

(一) 清除 DPPH 自由基

樣品清除 DPPH 自由基能力之測定是參考 Shimada *et al.* (1992) 的方法。取臺灣藜萃取物 4 mL，加入 1 mL 新鮮配製的 0.2 mM DPPH 之甲醇溶液。均勻混合，靜置 30 min 後，以分光光度計測其在 517 nm 波長之吸光值，若吸光值愈低，表示測試樣品清除 DPPH 自由基之能力愈強，並與一系列濃度(0、2、6、8、10 及 12 mg/mL)之 BHA 對照比較。

(二) 螯合亞鐵離子



樣品螯合亞鐵離子能力之測定是參考 Dinis *et al.* (1994)的方法。取 1 mL 臺灣藜萃取物，加入 3.7 mL 之甲醇及 0.1 mL、2 mM 之 iron (II) chloride tetrahydrate，30 秒後再加入 0.2 mL、5 mM 之 ferrozine，反應 10 min 後，使用分光光度計測其在 562 nm 波長之吸光值，若吸光值愈低，表示測試樣品螯合亞鐵離子之能力愈強，並與一系列濃度(0、2、6、8、10 及 12 mg/mL)之 EDTA 對照比較。

(三)還原力

樣品還原力之測定是參考 Oyaizu (1986)的方法。取 5 mL 臺灣藜萃取物，加入 5 mL、0.2 M phosphate buffer (pH 6.6)及 5 mL、1% potassium ferricyanide，於 50°C 水浴 20 min 後，快速冷卻，加入 5 mL、10% trichloro acetic acid 溶液。以離心機 (CR21, Hitachi, Japan)離心(3000 rpm，10 min)後，取上清液 5 mL，並加入 5 mL 蒸餾水及 1 mL、0.1% ferric chloride 溶液。混合均勻，於 10 min 後測定其 700 nm 吸光值，吸光值愈高，表示測試樣品之還原力愈強，並與一系列濃度(0、2、6、8、10 及 12 mg/mL)之 BHA 對照比較。

五、統計分析

試驗數據以 ANOVA 程序作變異分析，並以 Duncan's Multiple Range tests 作顯著差異性之比較。

參、結果與討論

一、植株性狀、園藝特性與產量調查試驗

黃(2016)曾研究發現播種40天之臺灣藜苗具有甚佳的抗氧化能力及抗醱化能力，本研究臺灣藜是以種子繁殖，種植期是1月、萌芽期2月、花期3月、結果期4月至5月、採收期5月至6月，採收後曬乾使用，並記錄了臺灣藜育苗、生長、結穗、套袋採收及籽實情形(圖一A至F)，並調查臺灣藜植株性狀與園藝特性如下所述：臺灣藜屬陸生植物、根為軸根系、正常莖的生長狀態為直立、無變態莖、葉序的形態為互生、奇數羽狀複葉、葉在莖上著生的狀態為莖生葉、葉脈的分佈與走向為羽狀脈、葉的型態為卵形、葉尖的形態為鈍形、葉片基部的形態為契形、葉緣的形態為鋸齒狀、托葉生長的位置為腋生托葉、花序的類型為穗狀花序、花冠的形態為輪狀、花著生的位置為上位花以及籽實的形態為穗狀下垂，這些基本資料可以提供給後續研究者參考料。此外，不論經過何種處理(施用有機肥、化學肥及對照組)，臺灣藜各穗產量均是以施用有機肥之產量最高，可見臺灣藜在栽培上仍須適當的施用肥料，並以施用有機肥料較佳。臺灣藜田間生活史共約3.5個月，其中營養生長期超過一半(王，2005)，本研究發現在其生活史中，產量以第一穗為最高，第三穗者最低(表一)，若以產量計，第一穗約為第三穗的6.6-8.2倍，此可能與植株生理作用與營養吸收有關。

二、抗氧化成分與能力分析

(一) 抗氧化成分

臺灣藜約有8種酚酸和14種類黃酮(Hsu *et al.*, 2017)，由於酚酸與類黃酮，對於抗氧化能力具有相當程度的貢獻，臺灣藜含有這些成分可以有效提高其抗氧化能力。萃取方式與條件是有可能影響臺灣藜萃取成分與含量的(陳, 2016)，本研究發現，不論是施用有機肥、化學肥或對照組，則均是以乙醇的萃取率高於以甲醇萃取者，且均高出超過2倍以上(表二)，其中，又以施用有機肥者之乙醇與甲醇萃取率最高，故後續以此進一步進行探討其抗氧化成分及抗氧化能力，並發現臺灣藜籽實總酚含量介於9-12 mg/g之間(圖二A)，類黃酮含量介於1.5-2.5 mg/g之間(圖二B)。陳(2015)曾以50%酒精萃取臺灣藜殼發現總多酚、總類黃酮高於熱水萃取者，本研究則證實全穀籽實之甲醇萃取物之總多酚、總類黃酮高於乙醇萃取者。

(二) 清除DPPH能力

在研究體外(*in vitro*)抗氧化能力時，常以清除DPPH能力為指標，而研磨粒徑亦可能影響抗氧化成分之萃取與抗氧化能力之強弱(許, 2009)。臺灣藜籽實甲醇與乙醇萃取物之清除DPPH能力比較如圖三所示，發現兩萃取物均會隨濃度之增加而增加其清除DPPH之能力，但仍遠低於BHA者。甲醇萃取物的清除DPPH率高於乙醇萃取者，推測與其總多酚含量有關，由於甲醇萃取物含有較多之總多酚，而該總多酚含量又與DPPH呈現正相關(洪, 2017)，故有較強的DPPH自由基清除能力。

(三) 螯合亞鐵離子能力

亞鐵離子具有促氧化的效果，不但可加速脂質氧化的進行(Halliwell *et al.*, 1995)，亦有可能增強氧化壓力進而對細胞與遺傳物質造成傷害(Curnutte & Babior, 1987)，如果可以藉由螯合(chelating)亞鐵離子，則可以有效終止其促氧化反應。另有研究(吳, 2008)指出，臺灣藜之DPPH清除能力和螯合亞鐵能力則來自水溶性之甜菜紅素(betacyanins)。本研究則比較甲醇與乙醇萃取臺灣藜籽實之螯合亞鐵離子能力，發現該二萃取物亦均會隨濃度之增加而提升其螯合亞鐵離子之能力(圖四)，但仍遠低於EDTA者。

(四) 還原力

吳(2008)認為臺灣藜水萃取物還原能力主要是來自水溶性之甜菜黃素(betaxanthins)，亦有研究(蕭, 2016)指出，臺灣藜萃取液在抗氧化能力中，以還原力的效果最好，並具有美白潛力。本研究比較甲醇與乙醇萃取臺灣藜籽實之還原力，證實此二萃取物也均會如同前述清除DPPH與螯合亞鐵離子能力，隨著濃度之增加而增加其還原能力(圖五)，唯仍遠低於BHA者。

肆、結論

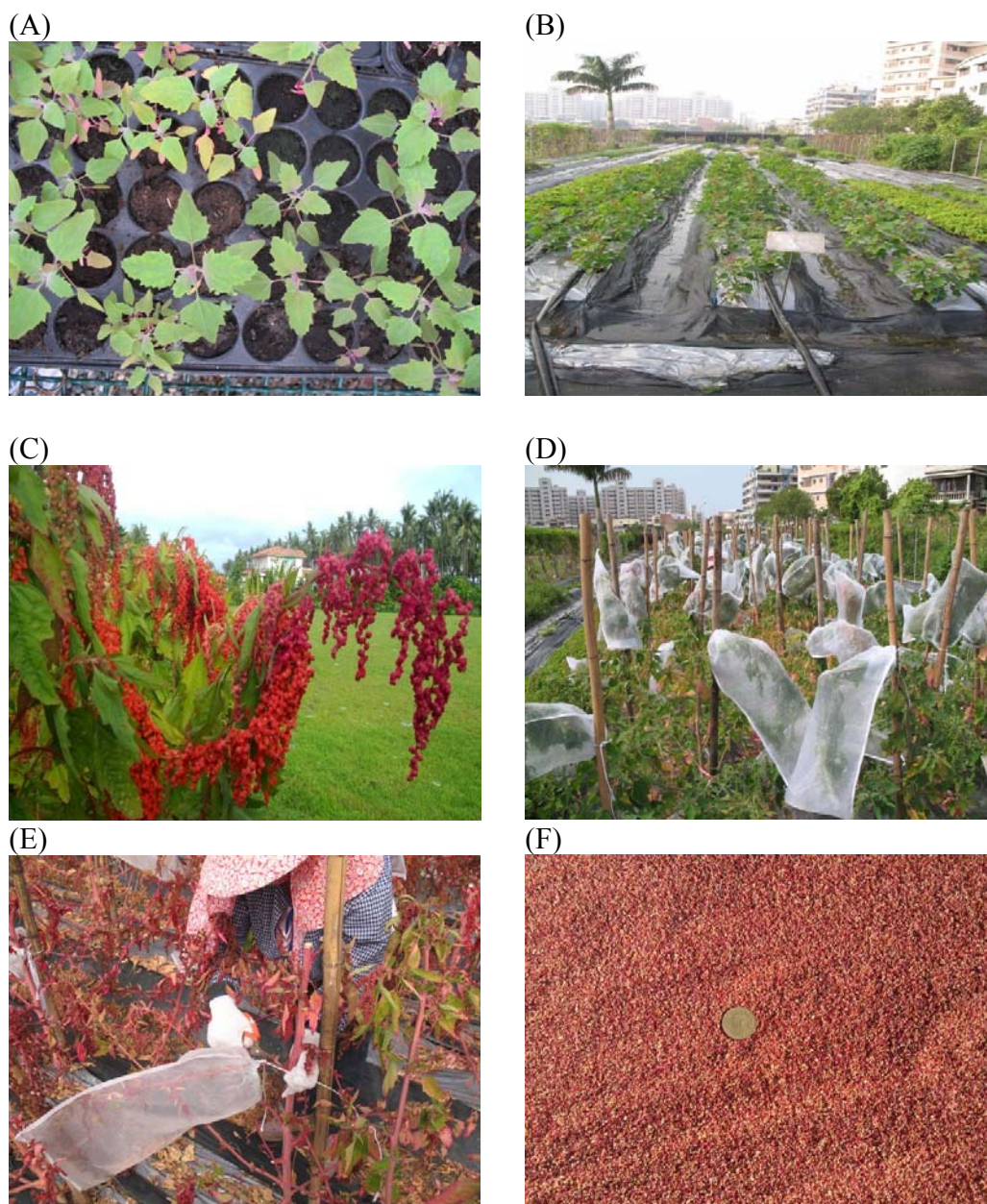
綜合言之，臺灣藜的栽培需要適度施用肥料，以增加產量，並以施用有機肥料者之產量顯著最高，而不同萃取物之間，以甲醇萃取者具有最多的抗氧化成分與最高的抗氧化能力。

伍、參考文獻

- [1] 王惠娟(2005)。紅藜不同發育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，屏東縣，臺灣。
- [2] 吳幸霖(2017)。臺灣紅藜特色商品開發實務。國立高雄餐旅大學飲食文化暨餐飲創新研究所碩士論文，高雄市，臺灣。
- [3] 吳佩樺(2008)。不同品種及生長季節之紅藜抗氧化活性的探討。國立屏東科技大學食品科學系所碩士論文，屏東縣，臺灣。
- [4] 洪莉棻(2017)。超臨界萃取台灣紅藜中的多酚物質及其在經皮吸收之探討。國立中興大學化學工程學系碩士論文，臺中市，臺灣。
- [5] 林庭安(2017)。探討紅藜全穀及殼萃取物對酒精及四氯化碳誘導肝損傷之改善效果，國立臺東大學生命科學系碩士論文，台東市，臺灣。
- [6] 許志鴻(2009)。微/奈米化紅藜之特性分析及色素鑑定。國立屏東科技大學食品科學系碩士論文，屏東縣，臺灣。
- [7] 陳宗強(2016)。以反應曲面法探討台灣藜種子最佳化萃取條件及固液萃取的動力模式分析。國立臺北科技大學化學工程研究所碩士論文，臺北市，臺灣。
- [8] 陳筱君(2015)。臺灣藜之營養及機能性成分分析。國立中興大學食品暨應用生物科技學系所碩士論文，臺中市，臺灣。
- [9] 張軒慈(2015)。以紅藜應用在減糖馬卡龍製作之探討。國立高雄餐旅大學餐飲創新研發碩士學位學程論文，高雄市，臺灣。
- [10] 黃景彬(2016)。臺灣藜芽苗之熱水、酒精萃取物和其區分物之抗氧化能力及抗醱化能力評估。大葉大學生物產業科技學系碩士論文，彰化縣，臺灣。
- [11] 傅梓涵(2016)。紅藜及其活性成分對於四氯化碳及酒精所誘導肝損傷的護肝作用。嘉南藥理大學保健營養系碩士論文，台南市，臺灣。
- [12] 楊景雯(2017)。紅藜及其活性成分對原發性高血壓大鼠血壓之影響。嘉南藥理大學保健營養系碩士論文，台南市，臺灣。
- [13] 蕭任宏(2016)。紅藜萃取物美白與抗氧化特性之研究。弘光科技大學化妝品科技研究所碩士論文，臺中市，臺灣。
- [14] Christel, Q. D., Bernard, G., Jacques, V., Thierry, D., Claude, B., Michel, L., Micheline, C., Jean-Cluade, C., Francois, B., & Francis, T. (2000). Phenolic

- compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1-2), 35-42.
- [15] Chu, C. C., Chen, S. Y., Chyau, C. C., Fu, Z. H., Liu, C. C., & Duh, P. D. (2016). Protective effect of Djulis (*Chenopodium formosanum*) and its bioactive compounds against carbon tetrachloride-induced liver injury, in vivo. *Journal of Functional Foods*, 26, 585-597.
- [16] Curnutte, J. T., & Babior, B. M. (1987). Chronic granulomatous disease. *Advances in Human Genetics*, 16, 229-297.
- [17] Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., & Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169.
- [18] Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S., & Aruoma, O. I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(1-2), 7-20.
- [19] Hong, Y. H., Huang, Y. L., Liu, Y. C., & Tsai, P. J. (2016). Djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.) water extract and its bioactive components ameliorate dermal damage in UVB-irradiated skin models. *BioMed Research International*, 2016, 1-8.
- [20] Hsu, B. Y., Lin, S. W., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H. (2017). Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Chenopodium formosanum* Koidz. (djulis) by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 132, 109-116.
- [21] Oyaizu, M. (1986). Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 35(11), 771-775.
- [22] Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidant properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6), 945-948.
- [23] Taga, M. S., Miller, E. E., & Pratt, D. E. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61(5), 928-931.
- [24] Tsai, P. J., Chen, Y. S., Sheu, C. H., & Chen, C. Y. (2011). Effect of nanogrinding on the pigment and bioactivity of djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5), 1814-1820.
- [25] Tsai, P. J., Sheu, C. H., Wu, P. H., & Sun, Y. F. (2010). Thermal and pH stability of betacyanin pigment of djulis (*Chenopodium formosanum*) in Taiwan and their relation to antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1020-1025.





圖一、臺灣藜育苗(A)、生長(B)、結穗(C)、套袋(D)、採收(E)及籽實(F)
Figure 1. The growing seedlings (A), growth (B), tasselling (C), bagging (D), harvesting (E) and intact granules seed (F) of *Chenopodium formosanum* Koidz.

表一、臺灣藜產量調查

Table 1. The yield of *Chenopodium formosanum* Koidz

Treatment	First Tassel (g/plant)	Second Tassel (g/plant)	Third Tassel (%)
Control	1048.9 ± 200.1 b*, A* (100)**	587.3 ± 169.6 a, B (100)	127.4 ± 16.0 a, C (100)
Chemic fertilizer	1123.0 ± 234.1 ab, A (107.1)	542.9 ± 223.6 a, B (92.4)	147.6 ± 50.0 a, C (115.9)
Organic fertilizer	1402.8 ± 123.2 a, A (133.7)	839.1 ± 424.2 a, AB (142.9)	212.1 ± 89.3 a, C (166.5)

* Each value on the top right of means on the same column bearing different letters are significantly different ($P < 0.05$). Each area is 3.825 m² large. The lowercase and capital letter mean significantly different among different fertilizer treatments and tassels, respectively.

** The data shown in parentheses means the yield index compared with control treatment harvest, respectively.

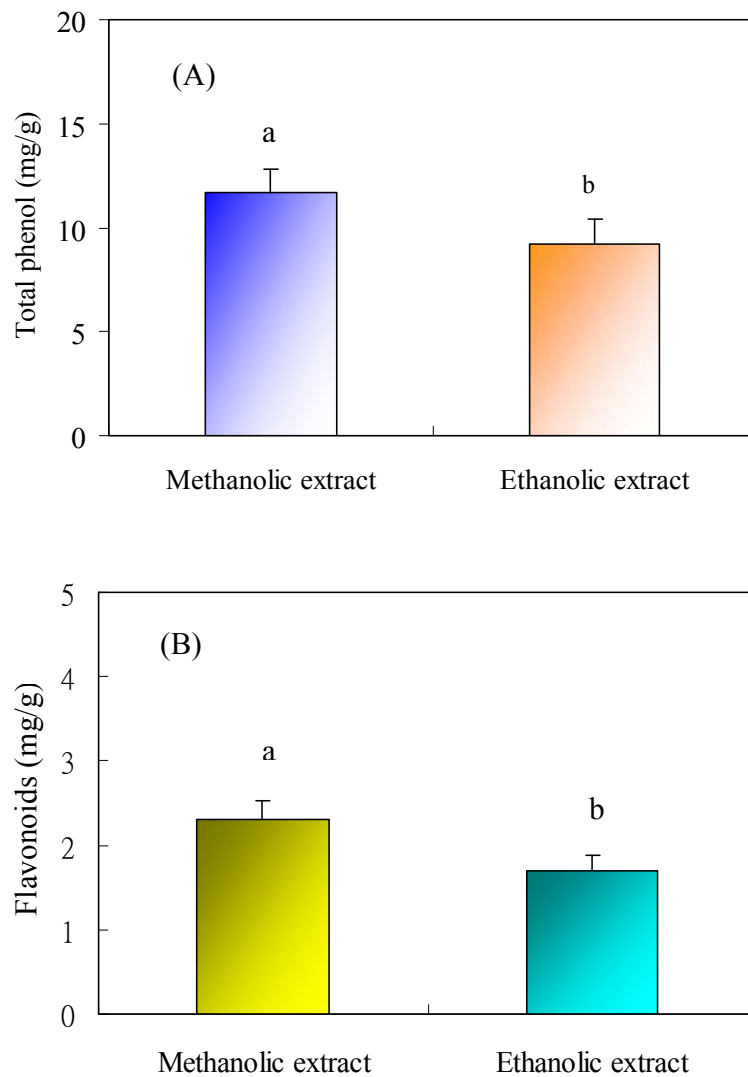
表二、不同處理之臺灣藜以甲醇或乙醇溶劑萃取之萃取率

Table 2. Extraction yield of different treatment *Chenopodium formosanum* Koidz with different treatments by methanol and ethanol

	Organic fertilizer	Chemistry fertilizer	Control
Extraction yield of methanol	3.8 ± 0.6	3.7 ± 0.3	3.8 ± 0.3
Extraction yield of ethanol	9.0 ± 0.9***	7.5 ± 1.0**	8.8 ± 1.6*

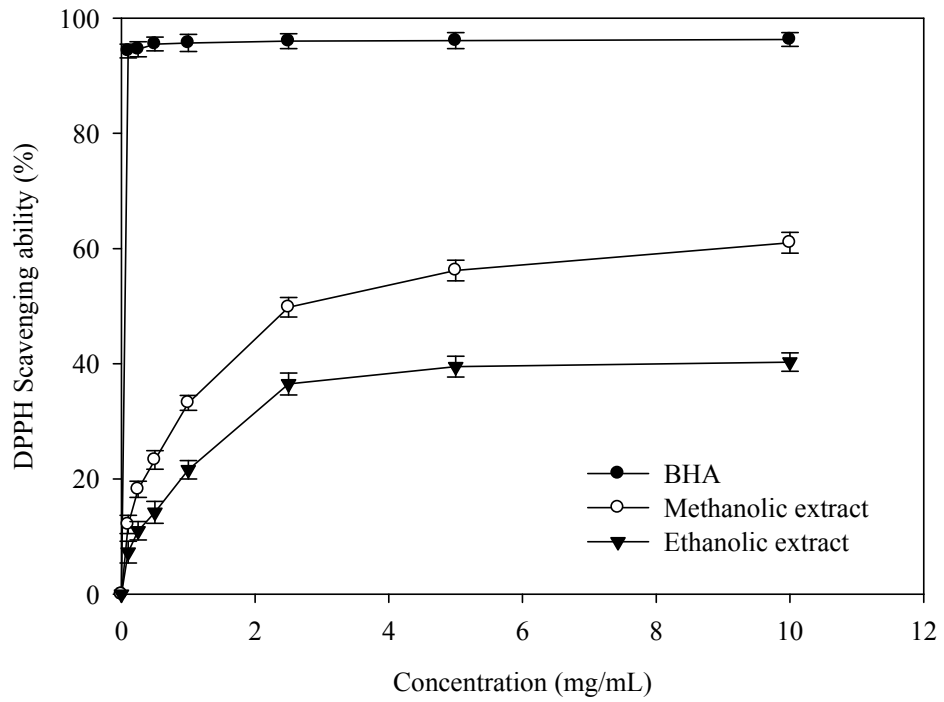
Each value on the top right of means on the same column bearing different number of asterisks are significantly different (***) $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$). Each value is the means ± SD. (n=3).





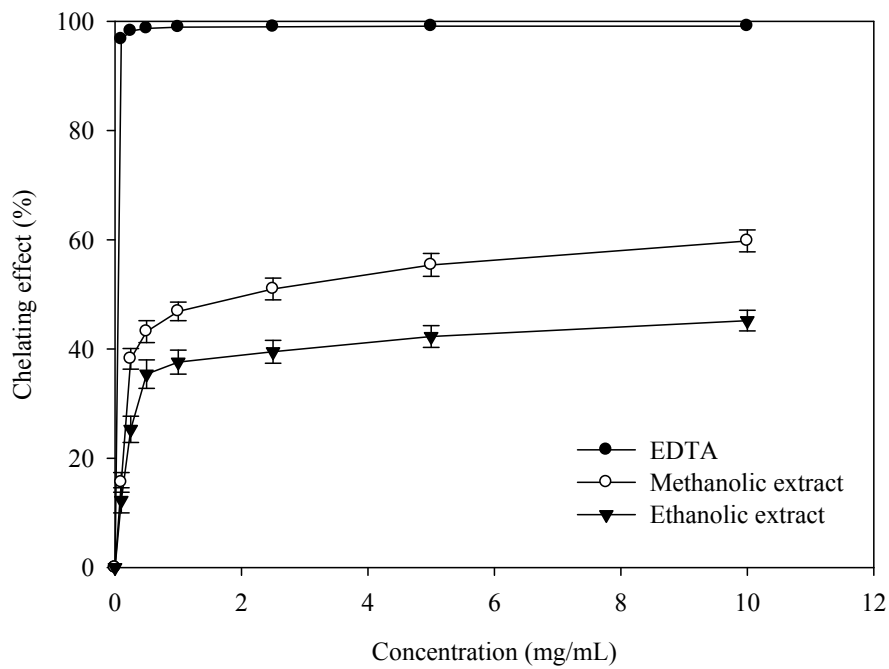
圖二、不同之臺灣藜籽實萃取物總酚(A)與類黃酮(B)含量

Figure 2. The total phenolics (A) and flavonoids (B) content of different extracts from seeds of *Chenopodium formosanum* Koidz. Data with different letters in the same column were significant different ($P < 0.05$). Each value is the means \pm SD. (n=3).



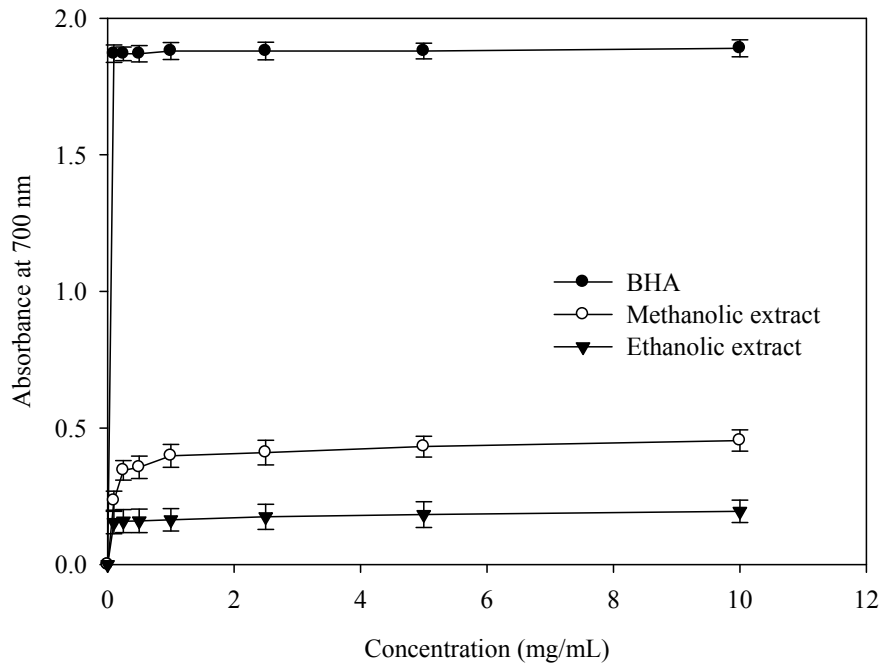
圖三、不同之臺灣藜籽實萃取出物清除 DPPH 之能力

Figure 3. Scavenging effects of different extracts from seeds of *Chenopodium formosanum* Koidz. on DPPH. Each value is the means \pm SD. (n=3).



圖四、不同之臺灣藜籽實萃取出物螯合亞鐵離子能力

Figure 4. Chelating effect of different extracts from seeds of *Chenopodium formosanum* Koidz. on ferrous ions. Each value is the means \pm SD. (n=3).



圖五、不同之臺灣藜籽實萃取物700 nm波長之吸光值

Figure 5. Absorbance at 700 nm of different extracts from seeds of *Chenopodium formosanum* Koidz. Reducing power: absorbance at 700 nm. A high absorbance indicated a high reducing power. Each value is the means \pm SD. (n=3).