

瑞香狼毒萃取物之蔬菜作物蟲害防治

鄒潤豪、楊博文

E-mail: 360543@mail.dyu.edu.tw

摘要

瑞香狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)為瑞香科狼毒屬植物，是一種需要防除的草地有毒植物，民間傳統中被用來治水腫腹脹、痰、止痛，但因為毒性大並不常用，也常被用於驅蟲、殺蠅等。本研究利用不同醇類溶劑(甲醇、乙醇、異丙醇、水)熱迴流萃取瑞香狼毒，對其萃取液進行總黃酮的含量測定，以分光光度計作定量分析；後續再對瑞香狼毒萃取液進行蔬菜作物的蟲害防治盆栽試驗；取蔬菜作物蟲害防治效果最適的萃取溶劑，以熱迴流萃取法對總黃酮，進行時間、溫度、固液比的單因子試驗，而在最佳萃取條件的研究上，將以直交試驗設計法(田口氏試驗法；Orthogonal Array)，探討在不同時間、溫度、固液比等條件下對總黃酮含量的影響。蔬菜作物的蟲害防治盆栽試驗結果顯示，醇溶劑萃取的萃取液，具有比溶劑對照組還要好的防治蟲害效果，效果最適是純異丙醇萃取液，而水萃取液與溶劑對照組的蟲害防治效果為相似。熱迴流萃取最佳條件為：以純異丙醇為最佳萃取溶劑，萃取時間7小時、萃取溫度70、萃取固液比1：25，即可得到產率0.28%總黃酮。

關鍵詞：瑞香狼毒、熱迴流萃取、總黃酮、蟲害防治

目錄

封面內頁	簽名頁	中文摘要	iii	英文摘要	iv	誌謝	v	目錄	vi	圖目錄	x	表目錄	xiv	1. 前言	1	2. 文獻回顧	2	2.1 瑞香狼毒簡介	3	2.1.1 瑞香狼毒型態及分佈簡介	3	2.1.2 瑞香狼毒成分及研究概況	5	2.1.3 瑞香狼毒活性成分簡介	7	2.1.3.1 類黃酮化合物	7	2.1.3.2 狼毒素	10	2.1.3.3 香豆素	11	2.2 傳統萃取方法簡介	13	2.2.1 冷浸攪拌萃取	13	2.2.2 索式萃取法	13	2.2.3 溶劑熱迴流萃取	14	2.2.4 熱迴流萃取應用於中藥植物萃取的前景	14	2.3 植物農藥與十字花科蔬菜及蟲害介紹	15	2.3.1 植物農藥	15	2.3.2 供試值物之介紹	15	2.3.2.1 包心白菜	15	2.3.2.2 甘藍	16	2.3.3 常見十字花科蔬菜害蟲之介紹	17	2.3.3.1 小菜蛾	17	2.3.3.2 大菜螟	17	2.3.3.3 菜心螟	17	2.3.3.4 紋白蝶	17	2.3.3.5 菜潛蠅	18	2.3.4 化學農藥對照組之介紹	18	2.3.4.1 百滅寧	18	2.4 直交試驗計劃法	19	2.4.1 直交試驗計劃法簡介	19	2.4.2 直交表之符號意義	19	2.4.3 信號雜信比	20	3. 材料與方法	22	3.1 材料	22	3.1.1 植物來源	22	3.1.2 藥品清單	22	3.1.3 實驗儀器與設備清單	22	3.1.4 盆栽防治試驗材料清單	23	3.2 試驗方法	24	3.2.1 樣品前處理	24	3.2.2 水份含量測定方式	24	3.2.3 不同萃取溶劑萃取試驗的建立	25	3.2.3.1 熱迴流萃取單一因子探討	25	3.2.3.2 熱迴流萃取之直交表探討	28	3.2.3.3 熱迴流萃取之最佳條件萃盡探討	28	3.2.4 成分分析	29	3.2.4.1 總黃酮含量分析	29	3.2.4.2 總黃酮標準取線建立	29	3.2.5 盆栽防治試驗方法	29	3.2.5.1 供試蔬菜植株樣品的製備	29	3.2.5.2 瑞香狼毒萃取液對蔬菜蟲害防治(第一階段)	30	3.2.5.3 瑞香狼毒萃取液對蔬菜蟲害防治(第二階段)	31	3.2.5.4 瑞香狼毒萃取液對蔬菜蟲害防治(第三階段)	32	3.2.5.5 土壤介質的配製	32	3.2.5.6 蔬菜盆株的製備	32	3.2.5.7 防治處理方式	33	3.2.5.8 試驗結果紀錄方式	33	3.2.5.9 試驗結果分析方式	33	3.2.5.10 萃取液中總固形物測定方式	34	3.2.6 試驗流程圖	35	4. 結果與討論	36	4.1 熱迴流萃取單一因子探討	36	4.1.1 熱迴流萃取瑞香狼毒，不同萃取溶劑對總黃酮產量之影響	36	4.1.2 熱迴流萃取瑞香狼毒，不同萃取時間對總黃酮產量之影響	42	4.1.3 熱迴流萃取瑞香狼毒，不同萃取固液比對總黃酮產量之影響	44	4.1.4 熱迴流萃取瑞香狼毒，不同萃取溫度對總黃酮產量之影響	46	4.2 熱迴流萃取直交表試驗	48	4.3 盆栽試驗	53	4.3.1 萃取液中固形物含量測定	53	4.3.2 瑞香狼毒萃取液對甘藍之蟲害防治試驗結果(第一階段)	55	4.3.3 瑞香狼毒萃取液對包心白菜之蟲害防治試驗結果(第一階段)	65	4.3.4 瑞香狼毒萃取液對蔬菜作物之蟲害防治試驗(第一階段)結果討論	75	4.3.5 瑞香狼毒萃取液對包心白菜之蟲害防治盆栽試驗(第二階段)	76	4.3.6 瑞香狼毒萃取液對包心白菜之蟲害防治盆栽試驗(第三階段)	81	5. 結論	85	參考文獻	88	附錄	91	圖目錄	圖1 瑞香狼毒植株及其根、花	圖2 瑞香狼毒植株及其根、花	圖3 類黃酮基本結構	圖4 狼毒素結構式	圖5 狼毒色原酮結構式	圖6 香豆素基本結構	圖7 瑞香素基本結構	圖8 傘形花內酯基本結構	圖9 百滅寧結構式	圖10 瑞香狼毒植株	圖11 熱迴流萃取直交表條件配置	圖12 試驗流程圖	圖13 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 不同濃度的甲醇對總黃酮產率的影響	圖14 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 不同濃度的乙醇對總黃酮產率的影響	圖15 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 不同濃度的異丙醇對總黃酮產率的影響	圖16 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 不同萃取時間對總黃酮產率的影響	圖17 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 不同固液比對總黃酮產率的影響	圖18 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 不同萃取溫度對總黃酮產率的影響	圖19 熱迴流萃取瑞香狼毒總黃酮 – L9(33)各項萃取因子之訊號與雜訊(S/N)比值	圖20 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 最佳條件進行連續3次萃取總黃酮	圖21 狼毒萃取液對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果	圖22 溶劑對照組對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果	圖23 狼毒萃取液對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果	圖24 溶劑對照組對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果	圖25 甲醇萃取液對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)	圖26 乙醇對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)	圖27 乙醇萃取液對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)	圖28 乙醇對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)	圖29 異丙醇萃取液對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)	圖30 異丙醇對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)
------	-----	------	-----	------	----	----	---	----	----	-----	---	-----	-----	-------	---	---------	---	------------	---	-------------------	---	-------------------	---	------------------	---	----------------	---	-------------	----	-------------	----	--------------	----	--------------	----	-------------	----	---------------	----	-------------------------	----	----------------------	----	------------	----	---------------	----	--------------	----	------------	----	---------------------	----	-------------	----	-------------	----	-------------	----	-------------	----	-------------	----	------------------	----	-------------	----	-------------	----	-----------------	----	----------------	----	-------------	----	----------	----	--------	----	------------	----	------------	----	-----------------	----	------------------	----	----------	----	-------------	----	----------------	----	---------------------	----	---------------------	----	---------------------	----	------------------------	----	------------	----	-----------------	----	-------------------	----	----------------	----	---------------------	----	------------------------------	----	------------------------------	----	------------------------------	----	-----------------	----	-----------------	----	----------------	----	------------------	----	------------------	----	-----------------------	----	-------------	----	----------	----	-----------------	----	---------------------------------	----	---------------------------------	----	----------------------------------	----	---------------------------------	----	----------------	----	----------	----	-------------------	----	---------------------------------	----	-----------------------------------	----	-------------------------------------	----	-----------------------------------	----	-----------------------------------	----	-------	----	------	----	----	----	-----	----------------	----------------	------------	-----------	-------------	------------	------------	--------------	-----------	------------	------------------	-----------	----------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------	---------------------------------	--------------------------------	---------------------------------	--	---------------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------	------------------------------	---------------------------	------------------------------	---------------------------	-------------------------------	----------------------------

圖31 百滅寧對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)64 圖32 水對照組對甘藍盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)64 圖33 狼毒萃取液對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果67 圖34 溶劑對照組對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果68 圖35 狼毒萃取液對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果69 圖36 溶劑對照組對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果70 圖37 甲醇萃取液對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)71 圖38 甲醇對照組對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)71 圖39 乙醇萃取液對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)72 圖40 乙醇對照組對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)72 圖41 異丙醇萃取液對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)73 圖42 異丙醇對照組對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)73 圖43 百滅寧對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)74 圖44 水對照組對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第五週)74 圖45 狼毒萃取液提高濃度對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果78 圖46 異丙醇萃取液(高濃度)對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第三週)79 圖47 百滅寧對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第三週)79 圖48 異丙醇萃取液對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第三週)80 圖49 異丙醇萃取液對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第四週)80 圖50 狼毒萃取液提高濃度對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果83 圖51 異丙醇萃取液(0.05 g/mL)對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第三週)84 圖52 水對照組對包心白菜盆栽蟲害防治之試驗結果(第三週)84 表目錄 表1 黃酮類化合物的結構分類8 表2 熱迴流萃取瑞香狼毒 – 不同溶劑對總黃酮產率的影響38 表3 熱迴流萃取瑞香狼毒直交表各因子及參數範圍49 表4 熱迴流萃取瑞香狼毒- L9(33)直交試驗設計表50 表5 熱迴流萃取總黃酮- L9(33)直交表的訊號與雜訊(S/N)比值51 表6 不同溶劑萃取的萃取液總固形物含量比較54 表7 狼毒萃取液對甘藍蟲害防治第一階段試驗結果56 表8 狼毒萃取液對包心白菜蟲害防治第一階段試驗結果66 表9 狼毒萃取液對包心白菜蟲害防治第二階段試驗結果77 表10 狼毒萃取液對包心白菜蟲害防治第三階段試驗結果82

參考文獻

- 1.于保青。2008。瑞香狼毒化學成分及活性的研究進展。農藥期刊。第47卷第12期。
- 2.王承中。2011。微波輔助及超音波輔助萃取千層塔中石杉鹼甲之最佳條件探討及萃取液活性成分分析。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 3.王敏、賈正平、馬俊。2005。瑞香狼毒總黃酮提取物的抗腫瘤作用。中國中藥雜誌。30(8):603。
- 4.王清玲。2000。作物蟲害非農藥防治資材。農試所特刊(142)。
- 5.王寧。2005。瑞香狼毒化學成分與殺蟲活性研究進展。青海農林科技。
- 6.吳昭其。1994。台灣的蔬菜(一)。渡假出版社有限公司。
- 7.李充壁、方天棋。2003。瑞香狼毒有效成分的提取及性質分析。生物加工工程。
- 8.李杰、張靜。1996。中藥狼毒抗癌作用研究進展。中醫研究。44-46。
- 9.李楊漢、韓學俊。1995。應重視對有毒雜草狼毒的綜合治理。植物雜誌。
- 10.沈初、張一實。2003。生物農藥。五南圖書出版股份有限公司。
- 11.沈明來。2005。試驗設計學第三版。九州圖書文物有限公司。349-363。
- 12.周廷光。1986。蔬菜主要病害彩色圖鑑。淑馨出版社。
- 13.林進、唐仕榮。2005。論天然黃酮類化合物及其抗氧化作用。徐州工程學院學報。187-190。
- 14.徐漢虹。2001。殺蟲植物與植物性殺蟲劑。中國農業出版社。
- 15.泰寶福、周樂。1977。瑞香狼毒根的抑菌活性研究。西北植物學報。
- 16.馬壽福、鄧君、刁治民、謝江民。2007。青海省狼毒研究??、?合利用及防治。
- 17.張如剛、劉曉松、趙建榮。2010。不同提取方法對瑞香狼毒總黃酮含量的影響。黑龍江畜牧獸醫科技版。
- 18.張勇智、董海龍、劉素琪。2001。瑞香狼毒甲醇萃取物對番茄灰霉病活性初步研究。山西農業大學農學院碩士論文。
- 19.張國洲、徐漢虹、王亞維。2002。瑞香亭等化合物對昆蟲的生物活性測定。青海大學學報。
- 20.張國洲、陳于年、徐漢虹、王亞維。2000。瑞香科殺蟲植物-瑞香狼毒。華中師範大學。自然科學版。
- 21.曹成有、富瑤、王文星、高菲菲。2007。瑞香狼毒根萃取液對植物種子萌發的抑制作用。東北大學自然科學版。
- 22.曹威。2005。瑞香狼毒素滅蚜活性及作用機理研究。四川大學天然產物化學與植物農藥學碩士論文。
- 23.曹新偉、鴻衛生。2004。狼毒化學成分研究進展。河南中醫學院學報。
- 24.盛璋、薛建平、高翔。2007。超聲波提取月腺大戟化學成分的研究。安徽農業科學。
- 25.郭晏華、胡爽。2006。瑞香狼毒藥材HPLC指紋圖譜研究。全國第二屆中藥藥效提高與有效成分分析研討會。
- 26.陳玉婷、楊云、王英華。2005。常用中藥化學鑑定。化學工業出版社。
- 27.陳建宏。2011。羅漢果活性成分萃取及其機能性分析試驗研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 28.陳學福。2006。岷山紅三葉草化學成分及異黃酮提取工藝的研究。蘭州理工大學碩士學位論文。
- 29.陸元彪、周翰信。1995。海北藏族自治州草原毒草狼毒調查報告。四川草原。
- 30.文魁。1977。瑞香科狼毒中的雙二氫?酮狼毒素的?構。?州大學學報(自科版)。13(4):50。
- 31.楊國紅。2005。瑞香狼毒等三種藥用植物的生物活性成分。上海復旦大學碩士論文。
- 32.楊紹祥、楊新玲、康鐵牛、凌云。1993。植物源蚜蟲控制劑 – 瑞香狼毒研究進展。第八屆全國新農藥創制學術交流會論文集。
- 33.楊順義、張新虎、沈慧敏。2006。瑞香狼毒根中抑菌成分提取工藝。農藥科技與開發。
- 34.綠色生活雜誌編輯部。2001。田園情趣 美夢成真的家庭菜園。成陽出版社。
- 35.劉玉生、任立云、陸溫、李紅雨。不同蟲害程度下作物葉片受害面積的測定方法。2009。廣西大學農學院碩士論文。
- 36.劉岱岳、余傳隆、劉鶴華。1990。生物毒素開發與利用。
- 37.劉長欣、劉思全、賈素貞。2002。瑞香科植物堇花殺蟲有效成分研究。農藥期刊。
- 38.劉桂芳、王?。1995。瑞香狼毒化?成分研究。中國中藥雜誌。20(12):738。
- 39.劉桂芳、付玉芹。1996。瑞香狼毒化?成分研究。中草藥。27(2):67。
- 40.蔡碧蓮。2010。微波輔助萃取法對桑黃活性成分之萃取與分析研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 41.餘志儒。2005。植物抽取液防治害蟲研究現況優質。安全農產品研討會專刊。129-139。
- 42.盧文讚。1987。台灣主要農作物病害彩色圖鑑。台灣省農藥商業同業公會聯合會。
- 43.蕭久富。1996。不同萃取方法對台灣筋骨草及匍匐筋骨草活性成分研究之分析比較研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 44.謝明勇、陳奕。2006。微波輔助萃取技術研究進展。食品與生物技術學報。
- 45.簡麗、張前程、馬惠言。2003。狼毒的有效成分及藥理活性研究進展。西北藥學雜誌。
- 46.蘇朝墩。2002。品質工程。清華大學工業工程與工程管理系。
- 45.Cao, Cheng-you, Fu, Yao, Wang, Wen-xing and Gao, Fei-fei. 2007. Inhibition influence of extraction liquids from stelleria chamaejasme root on seed germination. Journal of Northeastern University.
- 46.Ikegawa, T., Ikegawa, A. 1996. Extraction of antitumor diterpenes from Stelleria chamaejasme L. Japan patent number 08310993.
- 47.Jcan, Pierre Dedet, Michel, Sauvain, Nicolc, kunosch. 1994. Isolation of flavans from the Amaonian shrub Farama guianensis. Journal of

Natural Products. 403-406. 48. Lin, X. , Zu, J. H. 1992. A survey of pharmacological research and clinical application of *Stellera chamaejasme*. Zhejiang J Tradit Chin Med. 331-333. 49. Liu, Hiroshi, Niwa, M. 1984. Chamaechromone, a novel rearranged biflavonoid from *Stellera chamaejasme* L. Tetrahedron Letters. 3735-3738. 50. Tatematsu, H., Kurokawa, M., Niwa, M. 1984. Piscicidal constituents of *Stellera chamaejasme* L. Chem Pharm Bull. 1612-1613. 51. Yoshida, M., Saijo, N., Feng, WJ. 1996. Antitumor activity of daphnanetype diterpene gnidimacrin isolated from *Stellera chamaejasme* L. Int J Cancer. 268 – 273.