

臺灣二〇〇六年國際科學展覽會

科 別：植物學

作 品 名 稱：台灣稀有水生植物蓴菜生長型態構造觀察及成分分析研究

得 獎 獎 項：第三名

學 校 / 作 者：臺北市立松山高級工農職業學校 陳暉凱

作者介紹及照片



由於從小常於戶外接觸大自然，再加上求學過程中認識許多的師長以及朋友給予專業指導和協助，漸漸啟發了我對自然事物研究工作的興趣，又因對台灣這塊美麗的福爾摩沙之島擁有著耐人尋味的豐富生態變化，隨著接觸到瞭解、從觀察到研究，更引發了我對生態環境與生命科學探索學習的熱忱。從小學三年級到六年級對自然科的興趣與好奇，開始以獨角仙、蝸牛、台灣鬥魚作為科展研究主題，參與校內競賽均得師長們的鼓勵，榮獲三件作品特優成績之嘉勉。國一開始學習對生活環境的觀察，開始選擇地球科學方面的主題並以「921地震之斷層研究」參與校內科展獲得優等，國二因著住家附近挖掘考古現場引發我極大的震撼與強烈的好奇心，選擇以「芝山岩田野考古踏察記」，展開一連串的觀察紀錄以及學習研究主題，參加第三十四屆臺北市中小學科展，同年因學校於基隆河畔水災頻傳，另外申請臺北市中等學校研究獎助計劃，研究探討「基隆河與汐止洪水的關係」得到入選獎，在不斷的主題探討學習中，相對也開啟更多研究領域的涉略，國三時在升學的壓力下，仍得師長們的鼓勵下再度以「台灣鍬形蟲—北橫居住環境調查報告」參加第三十五屆臺北市中小學科展獲得優等獎及最佳鄉土教材獎，為國中三年劃下快樂學習的句點。高中階段藉以蕁菜之題材，第一次試著踏入生化醫學之研究領域，且於國立陽明大學生化研究所，以及臺北醫學大學生藥研究所，進行中草藥成分分析抑菌、抗癌方面之研究，終於以四年之時間完成實驗與研究，從這些不斷累積的科展研究經驗中，使我對未來生涯規劃的理想有了更清楚的目標和方向，同時也再次激發我對生命科學研究再接再勵的動力。

目錄

目錄.....	2
縮寫表.....	3
中文摘要.....	4
Abstract.....	4
壹、緒論.....	4
一、研究背景與動機：.....	5
二、研究目的：.....	6
(一) 瞭解崙埤蓴菜之構造與生長環境：.....	6
(二) 瞭解蓴菜對腸胃道常見致病細菌之抑菌效果：.....	6
三、文獻回顧.....	6
(一) 植物族群分布調查.....	6
(二) 蓴菜為蓴科蓴屬之浮葉型水生植物：.....	7
(三) 金黃葡萄球菌之抗藥性：.....	8
(四) 單寧類成分之效用：.....	9
貳、實驗研究.....	10
一. 崙埤湖蓴菜之構造與生長環境.....	10
(一) 研究器材：.....	10
(二) 研究方法.....	10
(三) 研究結果：.....	20
(四) 分析與討論.....	46
二. 蓴菜植株各部位之抗菌活性研究.....	47
(一) 實驗器材與儀器.....	47
(二) 實驗方法：.....	48
三. 蓴菜之各種成分分析及化合物純化分離鑑定研究：.....	60
(一) 實驗材料與儀器：.....	60
(二) 研究方法.....	62
(三) 研究結果與討論.....	67
參、結論.....	74
肆、參考文獻.....	74
伍、附表.....	77
崙埤湖之水域及陸域植物名錄：.....	77
陸、附圖.....	81
蓴菜分離化合物 MNR 光譜圖：.....	83

圖表目錄

圖 1-2-3 蓴菜，採集自宜蘭縣大同鄉崙埤湖。	pag 8
圖 2-1-2-1 石蠟切片實驗流程圖	pag 14
圖 2-1-2-2 脫水實驗過程操作	pag 15
圖 2-1-2-3 滲蠟實驗過程操作	pag 16
圖 2-1-2-4 埋蠟實驗過程操作	pag 16
圖 2-1-2-5 切片實驗過程操作	pag 17
圖 2-1-2-6 切片展開實驗過程操作	pag 18
圖 2-1-2-7 染色及封片實驗過程操作	pag 19
圖 2-1-3-1 崙埤位置圖和樣帶及樣點的配置	pag 20
圖 2-1-3-1 崙埤湖內水生植物分佈示意圖	pag 23
圖 2-1-3-2、91.12.8 崙埤湖棲地調查表之線截優勢百分比(東西向)	pag 25
圖 2-1-3-2、91.12.8 崙埤湖棲地調查表之線截優勢百分比(東西向)	pag 25
圖 2-1-3-4 崙埤湖水域及週邊植物社會示意圖 (東-西)	pag 26
圖 2-1-3-5 崙埤湖剖面圖水生植物棲地社會示意圖 (南-北)	pag 27
圖 2-1-3-6 長軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度	pag 29
圖 2-1-3-7 短軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度	pag 30
圖 2-1-3-8 崙埤湖蓴菜 1-6 月份生長物候觀測紀錄	pag 31
圖 2-1-3-9 崙埤湖蓴菜 7-12 月份生長物候觀測紀錄	pag 32
圖 2-1-3-10 崙埤湖水體季節溫度變化觀測	pag 33
圖 2-1-3-11 崙埤湖水體季節溶氧變化觀測	pag 34
圖 2-1-3-12 崙埤湖 BOD 生化需氧量檢測過程	pag 35
圖 2-1-3-13 崙埤湖內湖水酸鹼值季節觀測調查	pag 36
圖 2-1-3-14 崙埤湖內湖水導電度季節觀測調查	pag 37
圖 2-1-3-15 水質微生物觀察	pag 38
圖 2-1-3-16 蓴菜葉背及葉柄被覆透明黏液構造。	pag 39
圖 2-1-3-17 水面下之蓴菜莖葉分布狀態。	pag 39
圖 2-1-3-18 蓴菜地下走莖分布	pag 39
圖 2-1-3-19 蓴菜花之雌雄蕊構造	pag 39
圖 2-1-3-20 蓴菜植株型態示意圖	pag 40
圖 2-1-3-21 蓴菜之莖部切片觀察	pag 41
圖 2-1-3-22 蓴菜橫切面之最外層組織放大倍率：100X	pag 42
圖 2-1-3-23 蓴菜葉表皮之保衛細胞放大倍率：40X	pag 42
圖 2-1-3-24 蓴菜葉表皮氣孔放大倍率：400X	pag 42
圖 2-1-3-25 蓴菜之葉部切片觀察	pag 44
圖 2-1-3-26 蓴菜之葉柄部位切片觀察	pag 44
圖 2-1-3-27 蓴菜之根部位切片觀察	pag 45
圖 2-2-1 冷凍乾縮之蓴菜藥粉	pag 48
圖 2-2-2 有機溶劑萃取流程	pag 48
圖 2-2-3 蓴菜各部位抗菌活性實驗	pag 49
圖 2-2-4 將溶媒倒入蓴菜萃取瓶	pag 50
圖 2-2-5 有機溶媒萃取流程	pag 50

圖 2-2-6 以水萃取溶液流程	pag 51
圖 2-2-7 濃縮流程	pag 51
圖 2-2-8 濃縮後之情形	pag 52
圖 2-2-9 配置水溶液	pag 52
圖 2-2-10 與水互溶完成之樣本	pag 52
圖 2-2-11 酒精槽 Colding 冷凍	pag 52
圖 2-2-12 接上冷凍乾縮機之操作過程	pag 52
圖 2-2-13 冷凍乾縮 24hr 後之情形	pag 53
圖 2-2-14 裝置於樣品瓶中以防受潮	pag 53
圖 2-2-15 量秤藥粉	pag 53
圖 2-2-16 加入酒精並均勻稀釋	pag 53
圖 2-2-17 藥劑滴定過程	pag 54
圖 2-2-18 準備置於 U.V.燈下殺菌 30mins	pag 54
圖 2-2-19 將菌液滴於數菌器	pag 54
圖 2-2-20 置於顯微鏡下數菌	pag 54
圖 2-2-21 培養基製作	pag 56
圖 2-2-22 紙錠貼置	pag 56
圖 2-2-23 紙錠標示、紀錄	pag 56
圖 2-2-24 放置培養箱 37°C 16-18hr	pag 56
圖 2-2-25 丙酮萃取之蓴菜葉片液對金黃葡萄球菌之抑菌現象	pag 58
圖 2-2-26 枯草桿菌抑菌試驗	pag 59
圖 2-2-27 金黃葡萄球菌抑菌試驗	pag 59
圖 2-2-28 大腸桿菌抑菌試驗	pag 59
圖 2-2-29 丙酮萃取蓴菜地下根莖對枯草桿菌抑	pag 59
圖 2-2-30 丙酮萃取之蓴菜地下根莖對枯草桿菌之抑菌現象	pag 59
圖 2-2-31 丙酮萃取之蓴菜莖與葉柄對金黃葡萄球菌之抑菌現象	pag 59
圖 2-3-1 蓴菜各部位成份分離實驗流程	pag 62
圖 2-3-2 有機溶劑大量冷浸萃取	pag 62
圖 2-3-3 以酒精溶解藥劑	pag 62
圖 2-3-4 以毛細管將藥劑滴於 TLC 板	pag 62
圖 2-3-5 以溶媒展開之情形	pag 62
圖 2-3-6 將展開之藥劑浸硫酸	pag 63
圖 2-3-7 以 Hot Play 調至 70-80°C 烤乾成色	pag 63
圖 2-3-8 極性分層實驗	pag 63
圖 2-3-9 薄層層析實驗	pag 64
圖 2-3-10 管柱層析實驗流程	pag 65
圖 2-3-11 低壓管柱分離實驗	pag 65
圖 2-3-12 高效能液相層析實驗流程	pag 66
圖 2-3-13 以 1:7:1 之比例展開溶媒之組成成分分析	pag 67
圖 2-3-14 以 2:7:1 之比例展開溶媒之組成成分分析	pag 67
圖 2-3-15 TLC 所有蓴菜萃取物之成份分析	pag 67
圖 2-3-16 高效能液相層析圖	pag 68
圖 2-3-17 The isolation of the Roots of <i>Brasenia schreberi</i> Gmel. 蓴菜	pag 69

圖 2-3-18 The isolation of the Leafs of *Brasenia schreberi* Gmel. 蓴菜
pag 71

~@~ ~@~ ~@~ ~@~ ~@~ ~@~ ~@~ ~@~

表 2-1-2-1 脫水實驗流程	pag 15
表 2-1-3-1 崙埤湖近五年之氣候平均溫度 (°C)	pag 21
表 2-1-3-2 玉蘭氣象站近九年之氣候每月累積降雨量 (mm)	pag 21
表 2-1-3-3 崙埤湖水域植物種類	pag 22
表 2-1-3-4 崙埤湖週邊陸域植物類型	pag 23
表 2-1-3-5 崙埤湖東西向之植物線截優勢百分率	pag 24
表 2-1-3-6 崙埤湖南北向植物之線截優勢百分率	pag 24
表 2-1-3-7 長軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度	pag 29
表 2-1-3-8 短軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度	pag 30
表 2-1-3-9 崙埤湖之季節水質溶氧	pag 36
表 2-1-1 實驗菌株	pag 47
表 2-2-1 甲醇 (MEOH) 萃取物抑菌試驗結果分析	pag 57
表 2-2-2 丙酮 (Acetone) 萃取物抑菌試驗結果	pag 57
表 2-2-3 丙酮 (Acetone) 萃取物抑菌試驗結果分析表	pag 58
表 2-2-4 水萃取物抑菌試驗結果	pag 58
表 2-3-1 蓴菜植株成分化合物清單	pag 72
表 2-3-3 Cell line: C6 (Glioma) Test concentration: 50 mg/ml	pag 73
表 2-3-4 Tyrosinase 抗黑色素之美白抑制活性測定結果	pag 73

縮寫表

全 名	縮 寫
Ultraviolet	UV
Nuclear magnetic resonance	NMR
Heteronuclear mutiple quantum coherence	HMQC
Heteronuclear mutiple bond correlation	HMBC
Correlated spectroscopy	COSY
High performance liquid chromatography	HPLC
Formic acid	FA
Ethyl Acetate	EA
Octadecyl silane	ODS
Trichloroacetic Acid	TFA

中文摘要

本研究針對台灣產水生植物，蓴菜之構造與生長環境、蓴菜對腸胃道常見致病細菌之抑菌效果以及主要成分暨化合物分析。由本研究結果得知，崙埤湖內之稀有浮葉型水生植物蓴菜，其生長環境為無汙染之乾淨偏酸性水源，最適合生長之水深為 50-160 cm；水溫則為 22-25°C；而蓴菜之地下根莖對表皮金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 具有輕度之抑菌效果，經由分離純化得知為 BS-1：沒食子酸 (Gallic acid)；另外，由蓴菜之葉片分離出十種成分分別為 BS-2 (Kaempferol-7-*O*-Glucosids)、BS-3 (Quercetin-7-*O*-glucosids)、BS-4 (5,8,4'-Trihydroxyflavone-7-*O*-glucosids)、BS-5 (3,5,8,3',4'-Pentahydroxy flavone)、BS-6 (Vitamin E: *d*-Tocopherol)、BS-7 (Glyceride)、BS-8 (Phenolic A)、BS-9 (Quercetin)、BS-10 (Kaempferol)、BS-11 (Phenolic B)。其中發現 BS-8 對神經膠腫瘤細胞株有 18.42% 之抑癌效果，另外，BS-2、BS-3、BS-5、BS-10、BS-11 等成分，呈現良好之美白作用。

Abstract

This investigation is to analyze *Brasenia schreberi* Gmel., a native rare floating water plant in Taiwan, focusing on the plant's structure, its growth environment and, most importantly, the effect of chemical compounds it produces on restraining the common pathogenic bacteria in human stomach.

The result indicates that the most suitable growth environment for *Brasenia schreberi* Gmel. is in slightly acid, pollution-free water such as that in the lake Lung Pi in northern Taiwan. The ideal water depth for its growth is 50-160 cm, and the water temperature is 22-25°C. The **impractical** BS-1 (Gallic acid) extracted from the izome of *Brasenia schreberi* Gmel. by separation and purification has a light effect on restraining *Staphylococcus aureus*, a bacteria in the stomach. From the epidermis of the blade of *Brasenia schreberi* Gmel., ten other ingredients are also isolated, including BS-2 (Kaempferol-7-*O*-glucosids), BS-3 (Quercetin-7-*O*-glucosids), BS-4 (5,8,4'-Trihydroxyflavone-7-*O*-glucosids), BS-5 (3,5,8,3',4'-Pentahydroxyflavone), BS-6 (Vitamin E: *d*-Tocopherol), BS-7 (Glyceride), BS-8 (Phenolic A), BS-9 (Quercetin), BS-10 (Kaempferol), and BS-11 (Phenolic B). BS-8 is found to resist **cancer C6** (Glioma) by 18.42%, while BS-2, BS-3, BS-5, BS-10, and BS-11 show an outstanding effect on skin-**whitening**.

壹、緒論

一、研究背景與動機：

因為自小常接觸大自然，喜歡從事野外觀察與調查，在一次宜蘭縣大同鄉海拔 845 公尺的崙埤湖調查中，發現其有著豐富的原始生態環境，而生長於湖中的水生植物「蓴菜」更是臺灣較為特殊稀有的。但根據書面資料得知，蓴菜在中國大陸卻是為一種可農業栽培的著名植物食材，於是決定進行以崙埤湖蓴菜之調查，以探究崙埤湖蓴菜之構造與環境特性，建立崙埤湖蓴菜的基本資料。

「蓴菜」長久以來在中國大陸被視為類似「蔬菜」角色的水生植物食材，其療效亦在「本草綱目」中記載：蓴菜採摘其尚未露出水面的嫩葉食用，古人所謂苑鯨風味中的“蓴”為有效的抗菌消炎、清熱解毒藥，適用於感染性炎症發熱，如乳腺炎等，對於胃炎、胃及十二指腸潰瘍有卓效。蓴菜既是食材，又對於消化道疾病具有療效，眼見近年來許多研究對於以往西藥合成所難以解決的課題或是對於西藥之副作用產生質疑，紛紛轉而求助於自然界，也就是從植物、動物及礦物中開發能夠治療、改善疾病的藥物資源，再加上文化上所繼承的中國傳統固有的中草藥知識，相信有關蓴菜在中草藥物功效方面應具發展的潛力。由於在臺灣蓴菜研究的相關文獻探討並不多，因此本研究以本草綱目對於蓴菜功能的論述為參考，進一步驗證蓴菜針對一般院內常感染之腸胃道疾病的細菌。做抑菌活性之研究，並進行蓴菜有效活性成分化學層析法分離，以探討並鑑定其成分之化學結構，希望可探知蓴菜是否具預防或治療腸胃感染疾病的效果。

故本研究主要分為三大部份，第一部份為崙埤湖生長之蓴菜的構造與生長環境調查研究，第二部份則為蓴菜的抑菌效果試驗，第三部份為成份分離試驗。期望探討蓴菜於臺灣進行生態復育的可能性，以及導入做為休閒農業主題作物價值之參考。

二、研究目的：

本研究工作內容主要分成三個部分：

(一) 瞭解崙埤蓴菜之構造與生長環境：

1. 蓴菜構造與生理組織觀察。
2. 以植群調查及物候研究分析崙埤湖內植物之棲地氣候、季節水溫、以及周圍植群分佈變化。
3. 調查崙埤湖內蓴菜生長環境之水質以及有機質微生物之狀況。
4. 研究蓴菜之生長週期情形，並探討環境影響與其應變之機制。

(二) 瞭解蓴菜對腸胃道常見致病細菌之抑菌效果：

1. 蓴菜對大腸桿菌之抑菌效果。
2. 蓴菜對枯草桿菌之抑菌效果。
3. 蓴菜對金黃葡萄球菌之抑菌效果。

(三) 蓴菜之主要成分暨化合物分析：

1. 萃取並利用不同管柱層析分離純化蓴菜之成分
2. 將蓴菜之各種純化成分試藥，利用核磁共振儀（NMR）等儀器鑑定化合物之結構。
3. 評估蓴菜成分是否有抗菌、抗癌、抗黑色素之美白等生物活性。

三、文獻回顧

(一) 植物族群分佈調查：

在學術領域之中，有關植物的生態分佈，可分成兩大類分別基於分類學(區係)和生態學的觀點，前者，一般稱之為植物地理學，因著著眼在紀錄植物的分類和分佈；後者，除前所述之外，更明確的顯示植物群落的構造和組成，並有系統的表現植物與區域的關聯性，因此，要以科學的方法來瞭解植物生態分佈，就必須依照生態學的調查方法來進行，為了充分瞭解現況，以作為土地利用計畫的基本資料，所以我們必須充分瞭解植物生態。

植物在大地之間的分佈，不是雜亂無章的，而是有規律的同住結合，一定的立地條件分佈一定的植物種群，植物與環境是一個不可分割的有機整體，植物種群在一定立地條件下的分佈是長期自然的選擇的結果，植被是自然環境中最敏感的要害，植被研究為我們提供揭示自然環境規律的重要手段，是自然環境的最好標誌，從植物群落分佈，可以看出立地條件的特徵。

生態學為研究生物與環境之關係的科學，植群生態學之主要目標，則在探討植物社會分

不知法則，並尋求植群分佈與環境因數相關性(Correlation)。此種關係，乃瞭解自然界生態係之基本知識，系統生態學者所研究知生態係功能，亦以植群之本質為基礎，而動物社會之分佈、棲息及覓食與植物社會息息相關，故植群分析(Vegetation analysis)可說是一切生態學之理論根。

一個湖泊和池塘可視為一個生態系統，但其植物邊界生長非常清楚可區分之，且在其內之不同地點可能在物種組成合結構上表現出極大的差異，較普遍發生的情況是具帶狀的過渡區。一個特定的植被類型可以看作是一個較大系統的子系統，並可進一步區分為更小的子系統(李佛、鍾揚，1992)。這是因為水生植物具有特殊的擴散模式，常以母株為中心向四周成同心圓狀擴散，在一片優勢的水生植物中長混雜其他族群較小之特徵種，所以在水生植物分類上不能只注重優勢種的存在。

(二) 蓴菜為蓴科蓴屬之浮葉型水生植物：

根據 Correl (1975) 針對美國南部水生植物與濕生植物的研究指出，水生植物主要受到水深、水質、鹽度等因數所引響。Kobriger (1983) 比較八種濕地植物植群型 (Vegetation type) 則以土壤、水質(包刮 pH 值、鹽度)、水深以及氣溫因數做為植物分佈與容受力 (Occurrence or Tolerance) 的指標 (Willard 等人，1900)。Caduto (1985) 介紹池沼和溪流環境水生植被時指出光線、流速、水質、水深、土壤類型為水生植被生長之影響因素。

1. 水生植物的定義：

水生植物之定義有許多不同學者提出看法及解釋，本研究所採之定義為：廣義的水生植物為「生長在水分保持飽和狀態之植物，狹義的水生植物為植株必須長期生長於水中之植物」，以及「有潛力生活於水中並繁殖後代」，或是「其生活史至少有一半時間生長於水中」。再者「在水中生活期間佔全部生活史一半以上之植物，正常情況下可在水中生長且生長正常沉水葉者」(林煥堂，1998)。或是「泰半時期必須長在多水環境中才能完成生活史的維管束植物，此處所謂的多水環境及土壤上略有淺層或至深成層的水體。因此，舉凡長在沼澤濕地、池沼、溪流、水田或甚至是潮濕的滴水岩壁上的維管束植物即是水生植物。」(楊遠波等，2001)。

2. 浮葉型水生植物 (Floating-leaved type)：

台灣的水生植物社會中，浮葉性種類所佔的比例並不高，大約有23種，隸屬在蓴科 (Cabomaceae)、芡科 (Euryalaceae)、龍膽科 (Gentianaceae)、睡蓮科 (Nymphaeaceae)、菱科 (Trapaceae)、澤瀉科 (Alismataceae)、水蘚科 (Aponogetonaceae)、及眼子菜科 (Potamogetonaceae) 中。

浮葉型水生植物的根系需著生於泥土中，且會長出細長的莖以及葉柄，可隨水位漲淺而調整浮水葉漂浮在水面上形態，通常沉水葉生長和浮水葉的生長會有不同的生長構造，但到了秋冬期大多的浮水葉會凋萎，只剩下沉於水中的沉水葉即又稱為營養葉，來進行過冬的行為，等到春初的時候，又會長出新的浮水葉，而**蓴菜就屬於浮葉型的水生植物**。(林春吉、黃朝慶(民89)。浮葉性的湖沼植物—蓴菜。自然保育季刊，25，22)

3. 蓴菜的分類地位：

蓴菜 (*Brasenia schreberi* Gmel.) 屬於蓴科的成員，亦名葵或露葵，早期的分類將它歸屬在睡蓮科中，現則自成一科，屬於浮葉型水生植物。此科植物在台灣除了蓴菜一種外，在宜蘭員山鄉的雙連埤中也發現原產於北美洲的白花穗蓴 (*Cabomba caroliniana* A. Gray)，此族群可能並非由水族館溢出，而是藉由水鳥自日本攜帶而來。餘尚有 5 種穗蓴屬 (*Cabomba*) 植物，流通於水族市場上，目前大量栽培於全省各地之水草農場中。有關蓴菜於水面上所見之植株形態參閱圖 1-2-3。

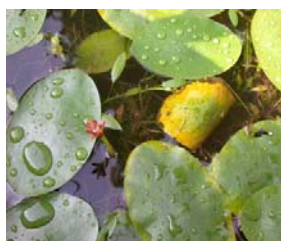


圖 1-2-3 蓴菜，採集自宜蘭縣大同鄉崙埤湖。

Angiospermae 被子植物亞門

Dicotyledons 雙子葉植物綱

Cabomaceae 蓴科

Brasenia 蓴屬

Brasenia schreberi Gmel. 蓴菜

(三) 金黃葡萄球菌之抗藥性：

自從 1961 年 methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)於英國被發現後，世界各地都陸續傳出 MRSA 與日俱增的消息⁽¹³⁾，由於抗生素敏感試驗以 oxacillin 較為穩定，因此目前在 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)中一般建議將 MRSA 的敏感性試驗一律以 oxacillin 來測試，因此若菌株對 oxacillin 若呈抗藥性，對 methicillin 而言也會呈抗藥性，因此一般稱其為 oxacillin resistant *Staphylococcus aureus*(ORSA)與 MRSA⁽⁴⁾。

根據 2000 年國家衛生研究院對醫院特性與細菌抗藥性型態所做的整合性報告指出，目前在台灣地區醫學院中心所分離出的金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)幾乎高達 60% 以上皆對 methicillin 據抗藥性，區域醫院為 52.3%(+19.2%)而地區醫院則為 47.6(+11.8%⁽²⁻³⁾)，此外由臺北醫學大學附設醫院感染管制委員會於 2002 年一月至七月對臨床分離菌種對抗生素感受性的試驗中也指出目前對 oxacillin 具有感受性的黃金葡萄球菌不到 50%，因此正視 MRAS 與 ORSA 所帶來的抗藥性問題與防止抗藥性擴散和尋找新的抗生物

質即成為當前首要注重的目標之一。

由於 MRSA 的臨床特性為極易造成院內感染，在美國 MRSA 院內感染率由 1975 年的 24% 上升至 1991 年的 29%，而近十年來 MRSA 更成為台灣地區院內感染之前三名之一⁽⁸⁾，在三軍總醫院 1995 至 1998 年的資料顯示，MRSA 佔院內感染比例高達 82,2%。臺大醫院在 2002 年發表由 1981 至 1999 年收集的資料也顯示造成院內感染主要病因仍為 MRSA，且其從 1981 至 1986 的 4,3% 已攀升至 1993 至 1998 的 58,9%⁽⁸⁾⁽³⁹⁻⁴⁰⁾，因此由許多 MRSA 感染的臨床觀察得知，最容易得到院內感染的幾乎以加護病房內的病人與兒童醫院內的病人為主⁽³⁹⁾，在長庚兒童醫院五年來的院內感染一直以 *S. aureus* 為首，其由 1995 年的 21,35% 上升至 1999 年的 33,23%，而其中 *S. aureus* 對 oxacillin 的抗藥性也由 1997 年的 80,4% 增至 1999 年的 91,86%，佔 *S. aureus* 總菌株 80% 以上⁽⁴¹⁾，而臺大醫院的兒童統計 ORSA 之比例於 1995 年時也近有 62,5%⁽⁴¹⁻⁴²⁾，另外在 2000 年 3 月至 2000 年 7 月也由台灣五大教學醫院加護病房中集中收集的病源菌中有 66% 為 ORSA⁽⁴³⁾。因此除了院內感染管控品質改善之外，謹慎選用抗生素來治療細菌性感染也成為一門重要的課題，因為抗生素的濫用與細菌本身抗藥的急速擴散早已在 1996 年時，首先在日本發現對臨床最後一線抗生素 vancomycin 有抗藥性的 *S. aureus* 時，掀開了序幕。因為陸續由美國、法國、韓國、南非、巴西等地，也都出現了 vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*(VRSA)⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾，因此不久的將來，我們終將面臨 vancomycin 失効的一日。

(四) 單寧類成分之效用：

單寧依結構與物理性質分為水解型單寧 (hydrolyzable tannins) 及縮合型 (condensed tannins) 兩大類⁽²⁶⁾，水解型單寧一般係指以 sugar 或 cyclitol 等 poly-alcohol 的化合物為核心分子與 gallic acid 或 gallic acid 的衍生物

近年來，單寧之研究所以受到重視，也是由於其具有多方面的生理活性，主要有 (一) 廣效性抗菌作用 (二) 抗肝毒性作用 (三) 抑制人類免疫不全病毒之複製 (四) 抑制脂質過氧化 (五) 清除自由基作用等活性⁽²⁹⁻³²⁾，因此進行分離含有單寧成分之藥材應可促使其生理活性得以有突破性發展，並可以科學數據的佐證來證明其活性價。

(黃惠曼；五倍子對 Methicillin 與 Penicillin 抗藥性金黃葡萄球菌與表皮金黃葡萄球菌之抗菌活性研究，2003)

貳、實驗研究

一. 崙埤湖蓴菜之構造與生長環境：

(一) 研究器材：

- 一、工程測量級 GPS 衛星定位儀 (Trimble Asset Surveyor v5.12 TSC1)
- 二、正立光學穿透顯微鏡 (LEICA DMR)
- 三、手攜式溶氧量儀 (YSI-550A)
- 四、手攜式酸鹼度儀 (YSI-60 pH & Temperature)
- 五、手攜式導電度儀 (YSI-30 Salinity Conductivity Temperature)
- 六、掌上型真空幫浦及不鏽鋼取水器
- 七、水溫記錄器 (HOBO Water Temp Pro Onset)
- 八、正立光學穿透顯微鏡 (LEICA DMR)
- 九、倒立解頗顯微鏡 (LEICA DMIL)
- 十、埋蠟機 (MICROM AP-280)
- 十一、石蠟切片機 (Reichert-Jung820)
- 十二、烘箱 (MEMMERT-DO6879)
- 十三、通風抽氣櫃 (POINT LABORATORY)
- 十四、加熱板 (信安儀器)

(二) 研究方法

1. 崙埤湖樣區之衛星定位測繪：

崙埤湖位於宜蘭縣大同鄉，棲蘭野生動物重要棲息環境範圍內 74 林班地，申請經由行政院農委會林務局羅東林管處核准進行調查研究及採集，利用工程測量 GPS 衛星定位系統做湖泊之精準位置，且將設定之樣區範圍做描繪，以利於長期湖泊演替及相關調查。

2. 崙埤湖周邊之氣候環境：

因崙埤當地並無氣象站，找最近之氣象站做參考，所以以交通部氣象局玉蘭氣象站提供之氣溫、雨量資料進行分析。

3. 崙埤植群環境調查方式：

因崙埤湖之水生、陸生及近水濱之植物，分佈情形由內向外是連續而且是漸進演替的，沿水濱呈同心圓狀分佈，各植物群落有明顯的區分，故採用直線排列樣區(line plots)，從湖

中心往長短軸方向拉兩條垂直樣帶，以橫跨植群及環境之梯度，所得資料變異最小(劉崇瑞、蘇鴻傑，1983)。樣線的兩端結束在草生植群及森林植群交會處，長軸與短軸長度分別為160m與68m，為了使樣區植群具代表性，故取4m×4m的正方形樣區大小，並排在樣線上，第一樣區的中心點為此樣線的2m處，以此類推，第n樣區的中心點為此樣線的(4n-2)m處。所以長軸與短軸有40個與17個樣區。以2005年的一月、四月、七月、十月代表四季，在這四個月份對每個樣區做植物種類、物種覆蓋度、遮陰度、中央水深、離岸距離做紀錄，以分析植群。本試驗採用Flora of Taiwan(第二版)，來鑑定植物種類。

4.植群與環境因數分析：

草地樣區植物IVI

覆蓋度(coverage) = 某種植物所佔面積÷所調查之總樣區數

相對覆蓋度(relative coverage%) = (某植物之覆蓋度÷所有植物覆蓋度之總和)×100%

頻度(frequency) = 某種植物出現之總樣區數÷所調查之總樣區數

相對頻度(relative frequency, %) = (某種植物之頻度÷所有植物頻度之總和)×100%

相對覆蓋度+相對頻度 = 草地樣區植物IVI。

5.崙埤水質基本資料之建立：

選取湖中央、湖緣、及其間的幾處，做為每個月測量水文因數及水體採樣的樣點(圖1-3-1)。而每個樣點看其水位高低取不同深度來做水文因數調查及水體採樣，於現場可以測得pH值、導電度、溶氧量，並放置溫度記錄器，每十分鐘記錄一次水溫，而將水體採樣回實驗室以進一步分析。調查以及採樣方式以手攜式溶氧量儀(YSI-550A)、手攜式酸鹼度儀(YSI-60 pH& Temperature)、手攜式導電度儀(YSI-30 Salinity Conductivity Temperature)帶至野外依表水0cm、水深30cm、100cm、150cm做垂直量測將探頭以捲尺深度伸入湖水中，等儀器數值穩定再讀值做紀錄，針對每個月份作測量。

將三台儀器帶至現場的當天測量前皆先進行標準液校正，並進行溫度校正。主要觀測項目有pH值、導電度(Electric conductivity)測量單位(μs/cm)、溶氧量(D.O.)測量單位(mg/L)、水溫(Watertemperature)測量單位(°C)

BOD值亦需要作實驗室反應工作，且從採樣到檢測中間，不可以間隔太久。利用600ml的寶特瓶採了五組樣本，分別裝入300ml的廣口瓶，所以每組樣本又可以分成兩個樣本，

經過編號紀錄後，即可將樣本一一進行測定，將樣本放置 Hot Player 上後，以磁石旋轉以助水體內之流動，再將容氧測定器伸入水體中，停頓 10 秒待值穩定，即為所測之容氧數值。每測過一個水體，就必須用試鏡紙將其測定器之接觸點擦拭過，而每測過一組水體就必須將其接觸點用蒸餾水清洗過做做下一組測定。本實驗必須要利用容氧測定器，分別測得前測與後測，中間的一個星期必須放置於 20 度中之不透光的衡溫箱，且每種水樣都需以塞子封起來，以免氧氣跑入樣品中，影響實驗的準確度，一個星期過後再將放置於衡溫箱內之水樣進行後測，之最後再將前測值減去後測值，即為 BOD 生化需氧量所得之值。

6. 萹菜構造觀察：

(1) 以拍照之方式記錄萹菜外表觀察結果，並進一步以徒手切片以及石蠟切片法進行組織構造觀察。

(2) 徒手切片法：

取一小段萹菜的莖，先以指甲油使其植株快速硬化，再以解剖刀輕輕的將莖之表皮組織以及縱切組織取下，但需要特別注意到取表皮組織時要盡量的薄，不要取到肉質之組織，以免影響到實驗的觀察；縱切組織也是要注意到不可以使其厚度太厚，不然也會影響到實驗的準確度。取下組織之後，就可以將組織置於玻片上，以滴管滴一滴水，再以蓋玻片斜 45 度蓋上，即完成標本的製作，也就可置於光學穿透顯微鏡下進行組織的觀察與研究。

(3) 石蠟切片法流程：

固定

以固定液完全固定

脫水 (>25°C)

以 t-butanol : ethanol : Water 之比例 1 : 4 : 5 ➡ 2 : 5 : 3 ➡
7 : 10 : 3 ➡ 11 : 9 : 0 ➡ 3 : 1 : 0 ➡ 1 : 0 : 0 (各兩小時)
1 : 0 : 0 (隔夜置於)

滲蠟 (60-65°C)

分 3 到 5 次加入蠟塊至液面高為原 t-butanol
之二倍每次間隔 (兩小時)
打開瓶蓋 (兩天)

包埋

將瓶內液態蠟並材料倒入模型中

將模型並蠟在冷水中快速凝固

切片

修整蠟塊，並將蠟塊黏於木塊上

以切片機切出約 10µm 厚之完整蠟片

張貼切片

在載玻片上塗上少許黏附劑
(蛋白 : 甘油 = 2 : 1, 再加 thymol)

將蠟帶黏貼於載玻片上

烘乾載玻片, (兩天)

染色

100% xylene 10mins

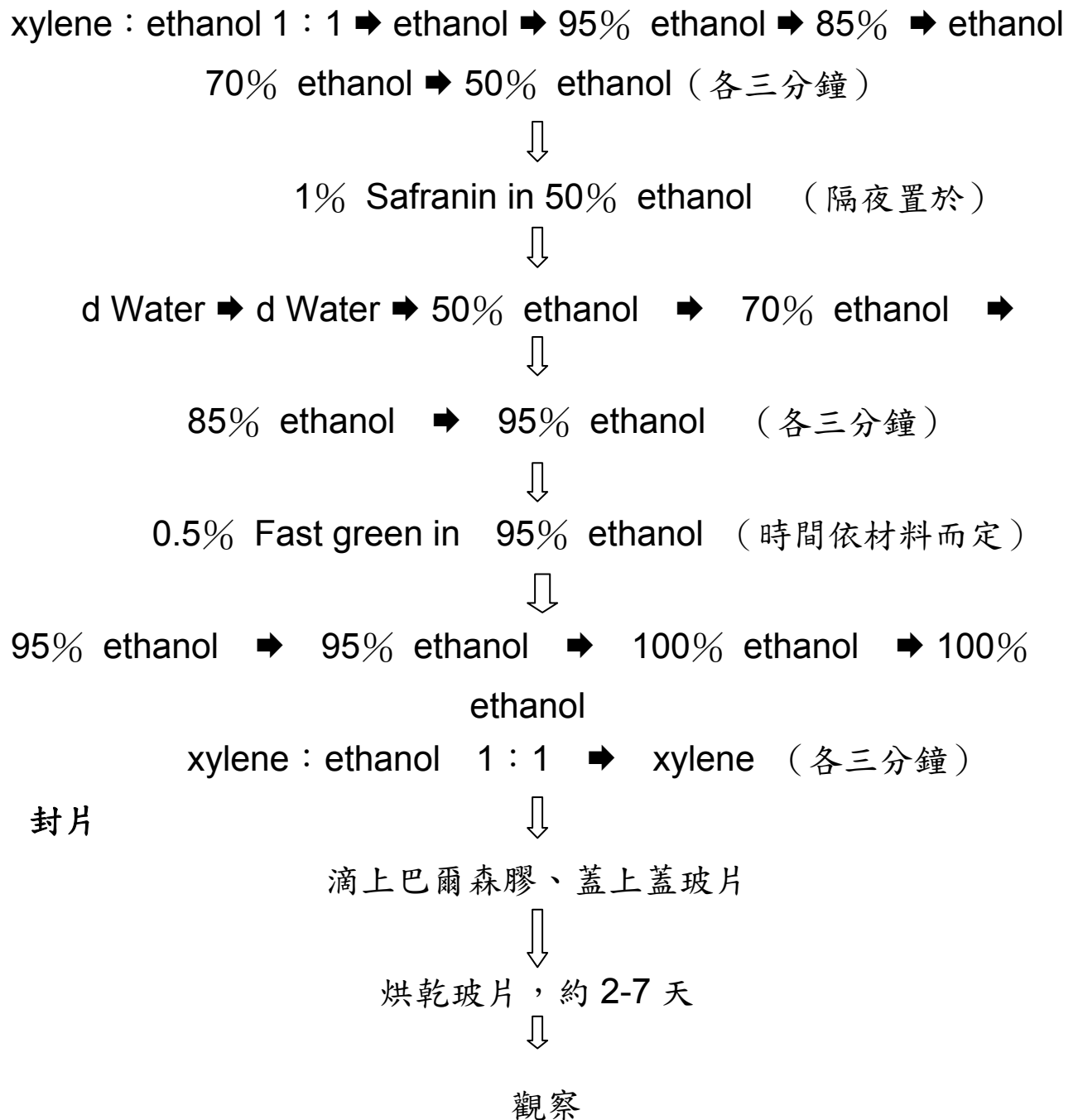


圖 2-1-2-1 石蠟切片實驗流程圖


A. 真空固定

活體組織分段後放置於固定液中，在脫水操做前必須將組織內之氣泡用抽氣器除氣

B. 脫水以不同濃度 (TAB-series) 依序由低濃度 (TAB-series) 換置至高濃度

脫水藥品有很多種，最常用的即是第三級丁醇(t-but-anol)和乙醇混和議(TBA-series)，將材料逐步換置於下列溶液中，至第六步就可開始滲臘

表 2-1-2-1 脫水實驗流程

	t-butanol	95% ethanol	H ₂ O
第一步	10	40	50
第二步	20	50	30
第三步	35	50	15
第四步	55	45	0
第五步	75	25(無水酒精)	0
第六步	100	0	0

蔡淑華. 2000. 植物組織切片技術綱要. 臺北茂昌圖書

每一步脫水所需時間一組織之大小而異，由一至數小時，約 0.5×0.3×0.3 cm³ 的不很堅硬材質，每步約兩小時即可，而第六步最好置八至十二小時又第三級丁醇的溶點(melting point)為 25°C，故冬天需至於溫箱附近操作。(如圖 2-1-2-2)



圖 2-1-2-2 脫水實驗過程操作

C. 滲蠟

滲蠟(infiltration of paraffin) :脫水乾淨後即加臘，逐漸將第三級丁醇取代而成為純臘，此步驟稱為滲臘，滲臘需再 60 C 之溫箱內操作。滲臘的方法不只一種，作者常將固體的小臘塊分三至五次，逐漸加於固定瓶內，每次以不超過瓶內液體的三分之一為佳。脫水不完全，則滲臘也不完全。如加臘過快，則組織容易萎縮，而所加入的小臘塊如果直接接觸到材料，便會引起加臘過快的結果，若依上述方法逐漸加入小臘塊就不至於加臘快了。未了避免小臘塊直接接觸到材料，讓濾紙上的臘塊慢慢溶化而流下瓶底，臘塊越大，溶化的速度也就越慢。

在此首先要注意的是，溫箱內的溫度越低越好(但須高於臘的溶點)，其次是滲臘時間不能過快，過快滲臘就不完全，但也不能過長，尤其是軟嫩的組織再熱臘中頗易遭受損害，不很堅硬的材料已十二至二十四小時為最適宜。

最後一次加臘，再二小時以後，就把固定瓶的瓶蓋打開，約八小時至十二小時之後瓶內的第三級丁醇就全部蒸發完畢，而至留下液狀的純臘。(如圖圖 2-1-2-3)

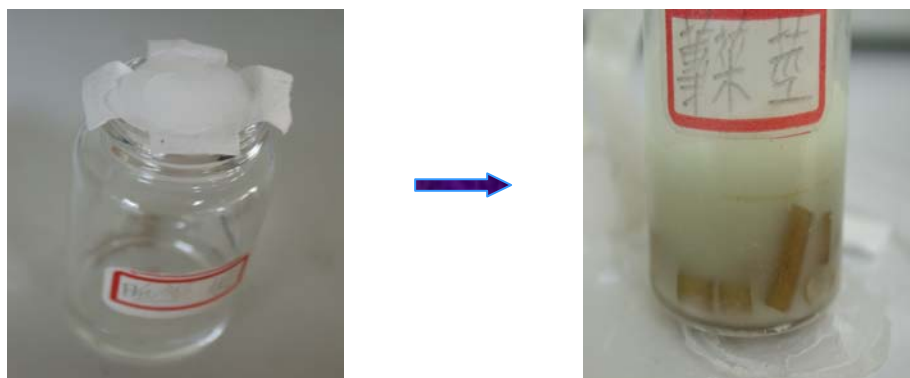


圖 2-1-2-3 滲臘實驗過程操作

D. 埋臘

埋臘(embedding) :將固定瓶內的材料和液狀臘倒入模型內，將其置於冷水中使其快速冷卻凝固，而成固體臘塊(paraffin cake 或 block)。所用模型中最經濟的是自製的紙盒(paraffin boat)(圖 3_2)。但用紙做的模型在冷卻過程中，若操作不熟練，便會改變其形狀而影響到材料，所以最好還是用磁質或不銹金屬造成的模型。埋臘時必須注意到材料在臘中的排列、方向、材料間的距離和標籤，因為埋在臘塊內的材料很難辨別。如果材料過分細小或透明，那就必須在脫水第六不時的液體內加入少許(safranin)粉末，這樣，這些材料就可以染上粉紅的顏色到切片時能然不會退色。(如圖 2-1-2-4)

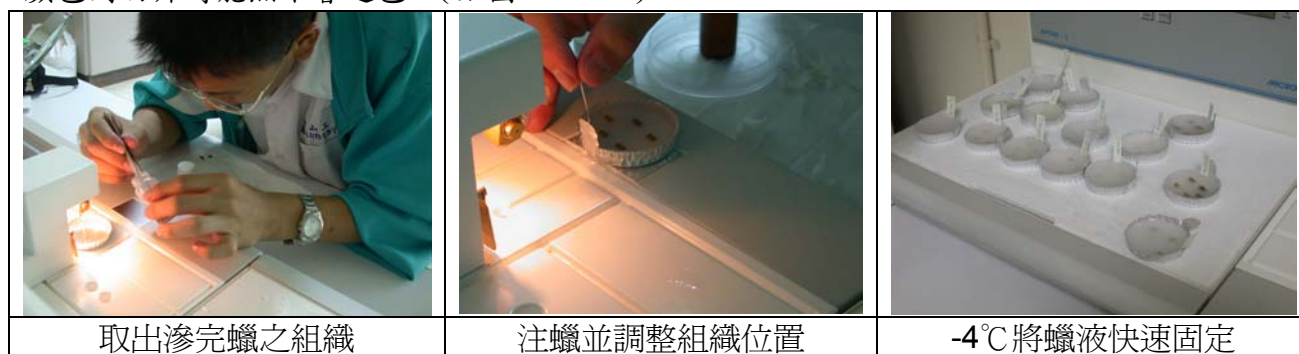


圖 2-1-2-4 埋臘實驗過程操作

E.切片

在用切片機進行切片以前，必須先把多餘的臘塊剔除，然後固定在小木塊或特製的支持物上，以便夾處在切片機上。此種埋臘材料也可以用於滑動式切片機上切片，但是為了避免前面所述及的缺點，大都盡量採用轉動式切片機切片(rotary microtome).此種切片機事切片刀固定著，再把材料壓在刀口上的切片法，所以比較堅硬的材料很不容易切，這種堅應材料經過特別處理以後，可望成功至某一程度，但過分堅硬者還適用滑動式切片機比較適宜。用轉動切片機時，轉動速度不能過快或過慢，以每秒 1 至 1.5 次為最適當所切出材料的最大特點是臘片可以前後相接，而成一連續的臘帶(paraffin ribbon)(圖 3_3)，不但可以得到連續切片(serielsection)而且每片也有一定的厚度。然而用此法說可以切得較薄的片子，但並不是說薄片就是好的片子，切片的厚薄，完全是依照研究的目的而定，研究一般細胞組織用的片子，約為 10μ ，所須的厚度，自己在切片機上可以自動調節，但切片機本身卻也常有誤差。(如圖 2-1-2-5)

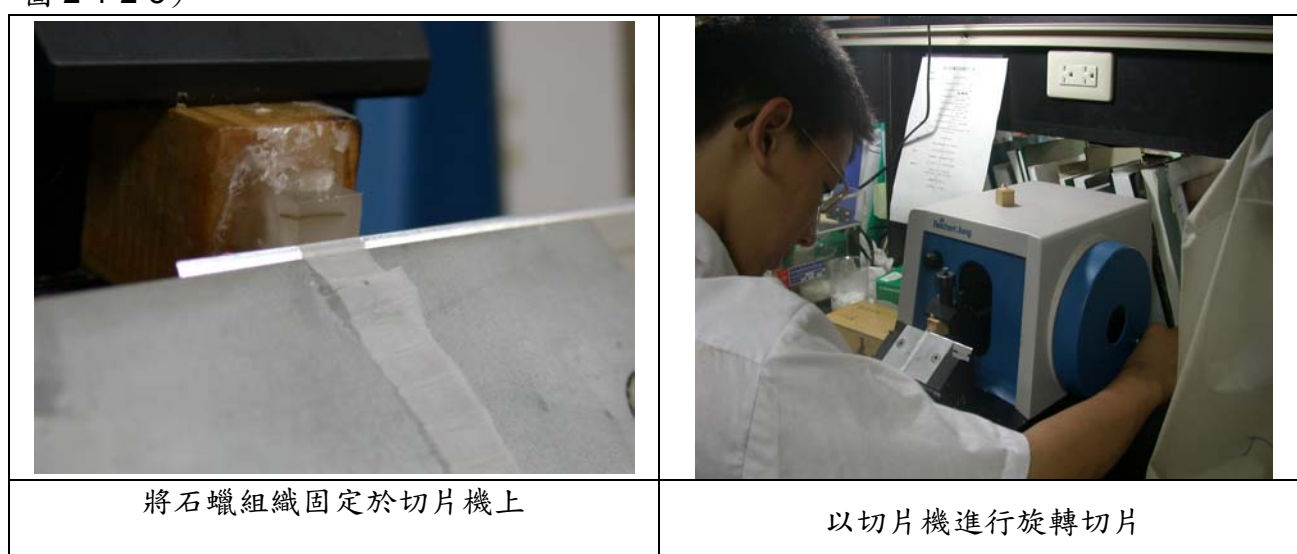


圖 2-1-2-5 切片實驗過程操作

F.展開

由於其蠟帶很薄，當我們在切下材料時，往往會受到一些擠壓而使組織變形受到壓迫，所以我們可以取一段標本置於蓋玻片上，再利用 4%的稀福馬林(展開用)、滴於事先上過粘著劑的玻片，最後在置於 $50\sim 62^{\circ}\text{C}$ 加熱箱中烘乾。

先用黏附劑(adhesive)張貼切片後，連同載玻片一併染色，不但可以獲得連續片，而且操作方便，效率又高，自製的黏附劑較為經濟，效果也不亞於供應廠所出品者。自製者以製美爾氏黏附劑(marer's adhesive)較為理想，其成分如下：蛋白(albumin)，甘油(glycerol)和少許的防腐劑(thymol, phenol)伊美爾氏(Mayer)的配法，是過濾後之蛋白(打碎)和甘油等量；甘油的主要功用在防乾，而台灣的濕度較高，所以二者的比例可為 2:1。

在把蠟帶張貼於載波片上之前，必須先在載波片上塗上少許的黏附劑，所塗的量在原則上是愈少愈好，因為過多的黏附劑會使蛋白在染色時染上色彩，可是如果塗得太少，又很容

易使較為堅硬或較厚切片在脫水染色過程脫落，所以用的量必須隨材料而改變。其次，先在塗有黏附劑的載玻片上滴上適量的 3~4% 的福美林，再將已被切成適當長度的蠟帶，用小型解剖刀沾上一點福馬林液，由蠟帶下方黏住蠟帶，小心地把它移到載玻片和蠟帶之間的福美林液可由水或其他液體代替，可是此液體的主要功用是在促使切片過程中壓縮的蠟帶或切片得以伸展，而稀福馬林不僅表面張力小，而且還有防腐的作用，所以以稀福馬林仍然比使用純水好的多。且經過切片過程，組織多少受擠壓，未避免變形在張貼蠟帶同時，我們會把盛有蠟帶及福馬林液的載玻片移至約 45°C 的溫板上，蠟帶在過熱之後就開始伸展，這時我們可以用針一方面將蠟帶排好，一方面輕輕的拉蠟帶，幫助切片伸展，然後把稀福美林液吸乾，將它放在 40~45°C 處約一至數天(依所塗黏附劑的多寡而定)就可開始染色。(如圖 2-1-2-6)

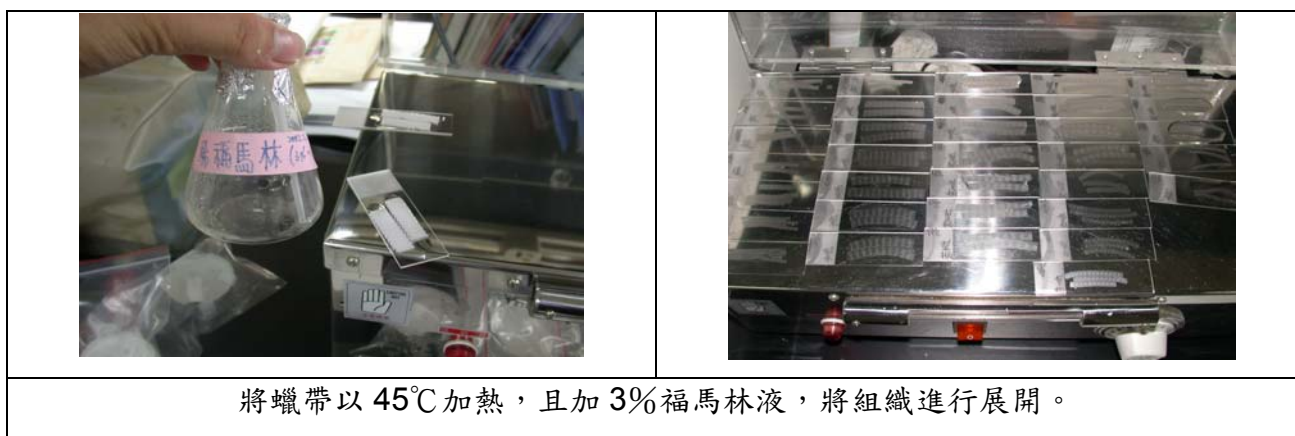


圖 2-1-2-6 切片展開實驗過程操作

G. 染色

染色、脫水，然後蓋上玻片的原理和前面述及的徒手切片法和木材製片法完全相同，所要注意的是，在此必須先把蠟帶用二甲苯溶解後，才由高濃度的酒精逐漸移至所採用的染料溶液進行染色。如上節所述，這一切步驟都是連同載玻片一併放置在染色瓶中操作，例如：用簡化的 Safranin-fast green 染色時的步驟如下：

溶解蠟帶：(如圖 2-1-2-7)

將染色瓶裝妥下列藥品，依次移動附有蠟帶的載玻片：

- (a) 二甲苯..... 10 分鐘
- (b) 二甲苯—無水酒精 (1:1) 3 分鐘
- (c) 無水酒精..... 3 分鐘
- (d) 95%酒精..... 3 分鐘
- (e) 85%酒精..... 3 分鐘
- (f) 70%酒精..... 3 分鐘
- (g) 50%酒精..... 3 分鐘
- (h) 1%safranin 的 50%酒精溶液..... 3 至 24 小時
- (i) 用蒸餾洗淨多餘的染料
- (j) 50%酒精..... 3 分鐘
- (k) 70%酒精..... 3 分鐘
- (l) 85%酒精..... 3 分鐘
- (m) 95%酒精..... 3 分鐘
- (n) 0.5%fast green 的 95%酒精溶液..... 依材料而異
- (o) 用 95%的酒精洗多餘的 fast green 二次
- (p) 無水酒精二次..... 每次各 3 分鐘
- (q) 無水酒精—二甲苯 (1:1) 3 分鐘
- (r) 二甲苯..... 5 分鐘
- (x) 滴巴爾森，蓋上蓋玻片



以各種染劑調配於染缸中進行染色



以巴爾森膠封片在放置於烘箱

圖 2-1-2-7 染色及封片實驗過程操作

(三) 研究結果：

1. 崙埤湖之衛星定位及樣區標定：

崙埤湖位於雪山山脈主要稜線南側，海拔高度 845 公尺，地質上處於崙埤的橫移斷層帶上；土壤結構是硬頁岩與變質砂岩之薄互層。穀口朝西北，此斷層漏洞調節水位，亦有「水伐作用」現象，是演替末期前的池沼型態湖泊，目前為台灣野生蕁菜種源生育最穩定的地區（如圖 2-1-3-1）。

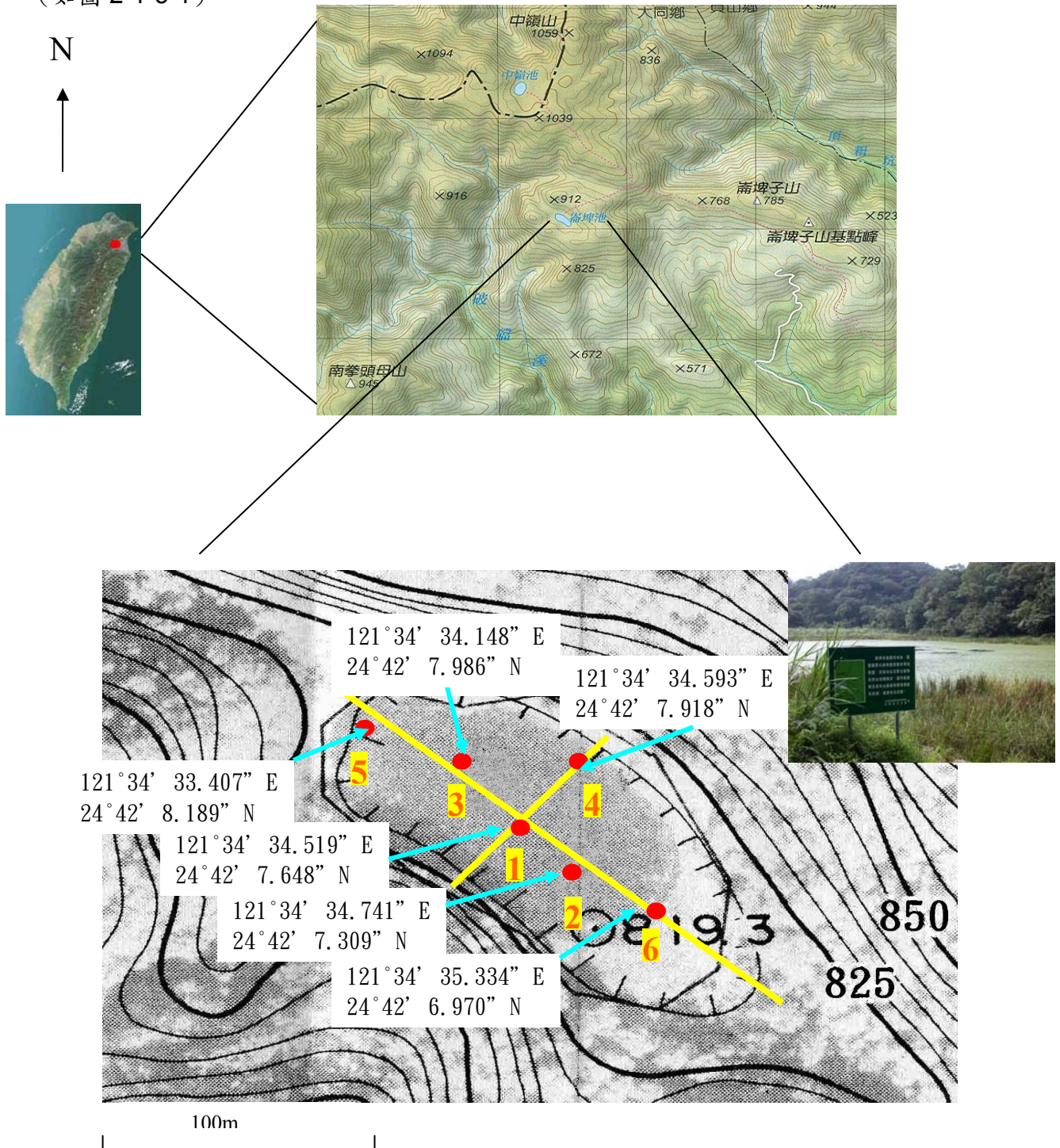


圖 2-1-3-1 崙埤位置圖和樣帶及樣點的配置

2.崙埤地區玉蘭氣象站氣候資料：

(1) 氣溫：

由 1998 至 2002 年間氣溫資料顯示，年均溫在 19.8°C~20.8°C 之間。一年當中最低溫出現在 1、2 月間，約在 13.3°C~15.2°C 之間；而最高溫月份則為 7、8 月間的 25.2°C~27.0°C（如表 2-1-3-1）。

年/月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	平均
1998	14.1	14.8	17.1	21.4	23.0	24.8	27.0	26.5	23.7	21.9	19.1	16.1	20.8
1999	14.2	14.0	17.7	18.9	20.3	24.8	25.6	25.4	24.1	21.1	17.6	13.8	19.8
2000	14.3	13.3	16.3	19.8	21.5	24.7	25.5	25.2	23.5	22.1	18.7	16.2	20.0
2001	14.7	15.2	16.4	19.1	22.0	24.9	25.7	25.8	23.9	20.5	16.9	15.0	20.0
2002	13.6	14.5	18.0	20.7	22.5	24.6	25.8	25.3	23.2	20.8	17.1	15.7	20.2
2003	12.8	15.0	15.0	20.1	21.6	23.8	27.1	26.4	24.3	20.4	18.8	14.1	20.0
2004	12.7	14.8	15.3	18.9	22.8	23.4	25.6	25.9	24.0	19.5	18.2	15.7	19.7
平均	14.18	14.36	17.1	19.98	21.86	24.76	25.92	25.64	23.68	21.28	17.88	15.36	20.16

表 2-1-3-1 崙埤湖近五年之氣候平均溫度 (°C)

【註】GPS 衛星定位於：經度：121°35'24"E、緯度：24°40'53"N。

資料來源：交通部中央氣象局

(2) 雨量：

由 1996 至 2004 年間的降雨情形，(如表 2-1-3-2)其年累積雨量最高為 1998 年的 5613.5 公釐，最低為 2002 年的 2459 公釐，兩者相距超過一倍。

年	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	平均
累積降雨量(mm)	3746.0	2796.0*	5613.5	4005.5	3670.5*	4543.0*	2463.5*	2273.0	3368.0	3608.8*

表 2-1-3-2 玉蘭氣象站近九年之氣候每月累積降雨量 (mm)

【註 1】*表示當月資料有缺漏為蒸發量表示當月有降雨。

【註 2】GPS 衛星定位於：經度：121°35'24"E、緯度：24°40'3"N。

資料來源：交通部中央氣象局

3. 崙埤湖內及週邊植群調查：

與林業試驗所協同進行野外之採樣調查中，經探勘後決定於 2005 年一月開始對崙埤湖進行相關水生、陸域植物社會組成結構與環境因數對蓴菜生長之影響關係所進行植群調查分析並做季節的持續性調查，希望得到較完整之湖泊基本資料得以瞭解蓴菜之生活習性，建立稀有種蓴菜得以在台灣生長之條件。

(1) 水域植物分佈：

針對湖面上所見植物種類紀錄如表 2-1-3-3，並將所有崙埤湖內之草種分佈區塊繪製成圖（如圖 2-1-3-1）。

依分佈之多元性來說，崙埤湖水域內週邊的濕地沼澤生態中的物種較多樣化，約有 25 種；而湖中深度較深之處的物種，則較單一。就分佈區塊來說，則以編號 7 的蓴菜面積大且集中，其餘之物種則較為零星分佈並不集中。

名稱 類型	1 桴蓋	2 燈心草	3 七星 斑囊果 莖	4 東亞黑 三稜	5 水毛 花	6 卵葉水 丁香	7 蓴菜	8 半邊蓮	9 圓葉山 梗菜	10 戟菜蓼	11 南方狸 藻	12 柳葉蒭	13 連萼穀 精草	14 針蘭	15 眼子菜	16 泥花草	17 如意草	18 野菱	19 春蓼	20 八字蓼	21 小箭葉 蓼	22 心葉母 草	23 水竹葉	24 鴨舌草	25 錢蒲
沉水植物										*				*											
濕生物	*	*		*		*		*	*	*		*	*	*		*	*		*	*	*	*	*		*
挺水植物			*		*																			*	
浮葉植物							*											*							

表 2-1-3-3 崙埤湖水域植物種類

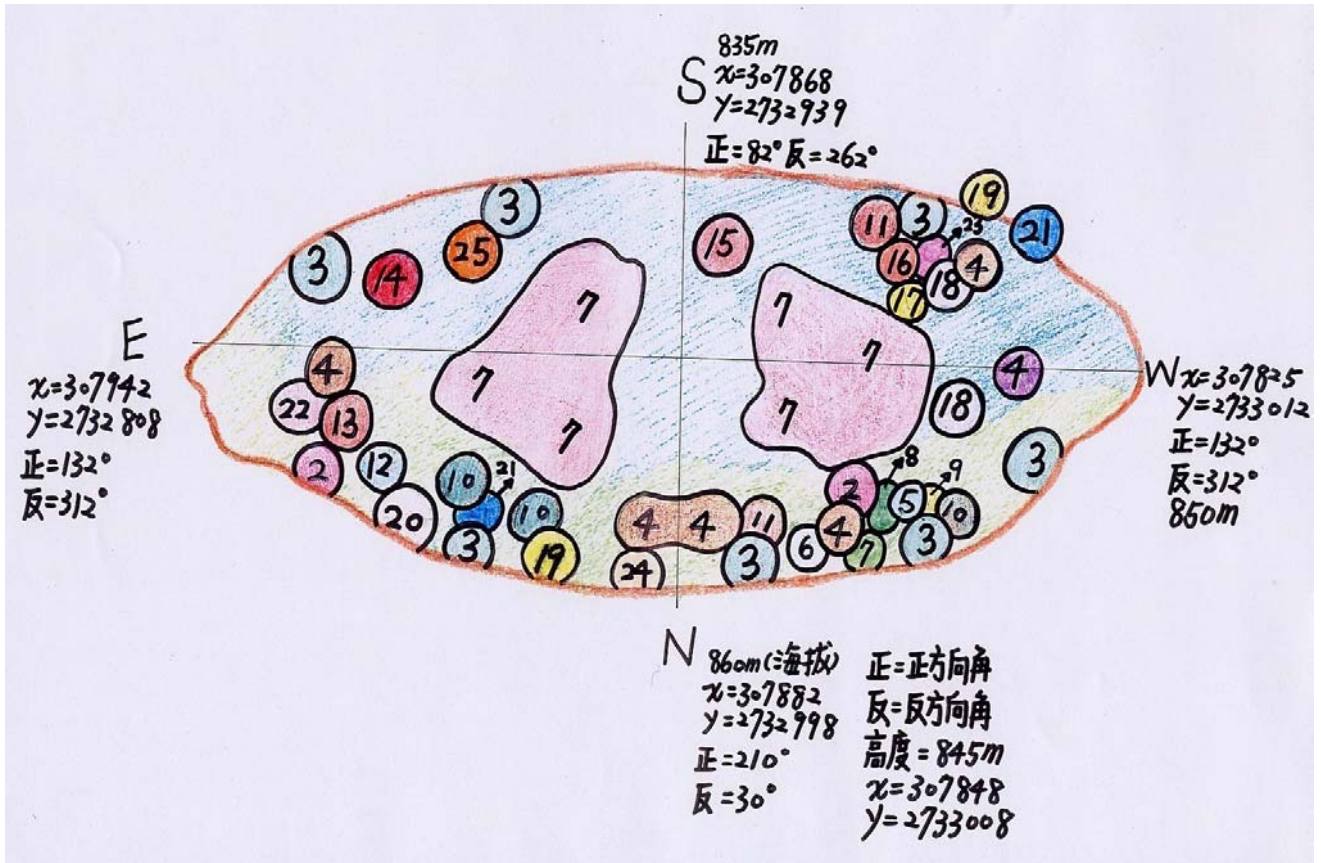


圖 2-1-3-1 崙埤湖內水生植物分佈示意圖

(2) 陸域植物：

分佈調查中所得，崙埤湖週邊十公尺陸域植物共計六種，其中以小型灌木最多，草本植物比較少，植物型態如表 2-1-3-4 所示。

類型/名稱	1 山龍眼	2 紅楠	3 華八仙	4 琉球雞屎樹	5 赤車使者	6 冷清草
喬木	*	*				
灌木			*	*		*
草本					*	

表 2-1-3-4 崙埤湖週邊陸域植物類型

(3) 崙埤湖內及週邊所有物種之優勢物種調查

崙埤湖內水域植物做優勢族群線截百分比之調查，以五尺為一個單位，計算崙埤湖內之優勢族群，以族群之分佈總長度除以線截總度，再乘上百分之百，即為優勢族群線截百分率。調查結果可得，在崙埤湖內之東西向線測中，最優勢族群為蓴菜，優勢百分率為 36.4404%(如表

2-1-3-5、圖 2-1-3-2)；在崙埤湖內之南北向線測中，最優勢之族群依然為蓴菜，其優勢百分率為 14.8339%(如表 2-1-3-6、圖 2-1-3-3)。崙埤湖水域及週邊植物社會現況如手繪示意圖 1-3-5、1-3-6 所示。

91.12.8崙埤湖棲地調查表 【東西】				91.12.8崙埤湖棲地調查表 【南北】			
編號	植物名稱	分佈 總長度	優勢百分率	編號	植物名稱	分佈 總長度	優勢百分率
17	蓴菜	95.00	36.4404%	32	蓴菜	750	14.8339%
21	七星班囊果薑	25.50	9.7814%	17	東亞黑三稜	510	10.0870%
23	如意草	22.50	8.6306%	7	桴蓋	425	8.4059%
19	水毛花	21.80	8.3621%	13	水毛花	410	8.1092%
25	五節芒	19.50	7.4799%	42	紅楠	330	6.5269%
22	燈心草	12.00	4.6030%	23	薯豆	290	5.7358%
30	長葉木薑子	10.00	3.8358%	1	山龍眼	270	5.3402%
9	灰木	9.40	3.6057%	16	卵葉水丁香	255	5.0435%
10	竹葉草	5.70	2.1864%	30	吊鍾花	250	4.9446%
18	東亞黑三稜	5.50	2.1097%	5	冷清草	240	4.7468%
16	柳葉蒟	5.50	2.1097%	15	戟葉蓼	220	4.3513%
14	半邊蓮	4.00	1.5343%	22	灰木	170	3.3623%
5	肉穗野牡丹	3.00	1.1507%	3	短柱山茶	145	2.8679%
20	桴蓋	3.00	1.1507%	12	半邊蓮	110	2.1756%
26	戟葉蓼	3.00	1.1507%	28	蓴菜	100	1.9778%
15	卵葉水丁香	2.90	1.1124%	37	琉球雞屎樹	90	1.7801%
3	赤車使者	2.50	0.9590%	4	火炭母草	80	1.5823%
2	柚葉藤	2.00	0.7672%	2	野牡丹	60	1.1867%
1	山龍眼	1.90	0.7288%	29	肉穗野牡丹	55	1.0878%
7	寒莓	1.80	0.6904%	9	七星班囊果薑	50	0.9889%
27	冷水麻	1.40	0.5370%	33	寒莓	50	0.9889%
28	菝契	1.00	0.3836%	39	複葉耳蕨	40	0.7911%
29	懸鉤子	1.00	0.3836%	10	如意草	31	0.6131%
4	中國穿鞘花	0.80	0.3069%	11	仙草	30	0.5934%
		260.70	100.0000%	41	長葉八仙花	30	0.5934%
				43	頷垂豆	30	0.5934%
				25	黑珍珠夢草	20	0.3956%
				26	牛膝	10	0.1978%
				6	廣葉鋸齒雙蓋	5	0.0989%
						5056	100.00%

表 2-1-3-5 崙埤湖東西向之植物線截優勢百分率 表 2-1-3-6 崙埤湖南北向植物之線截優勢百分率

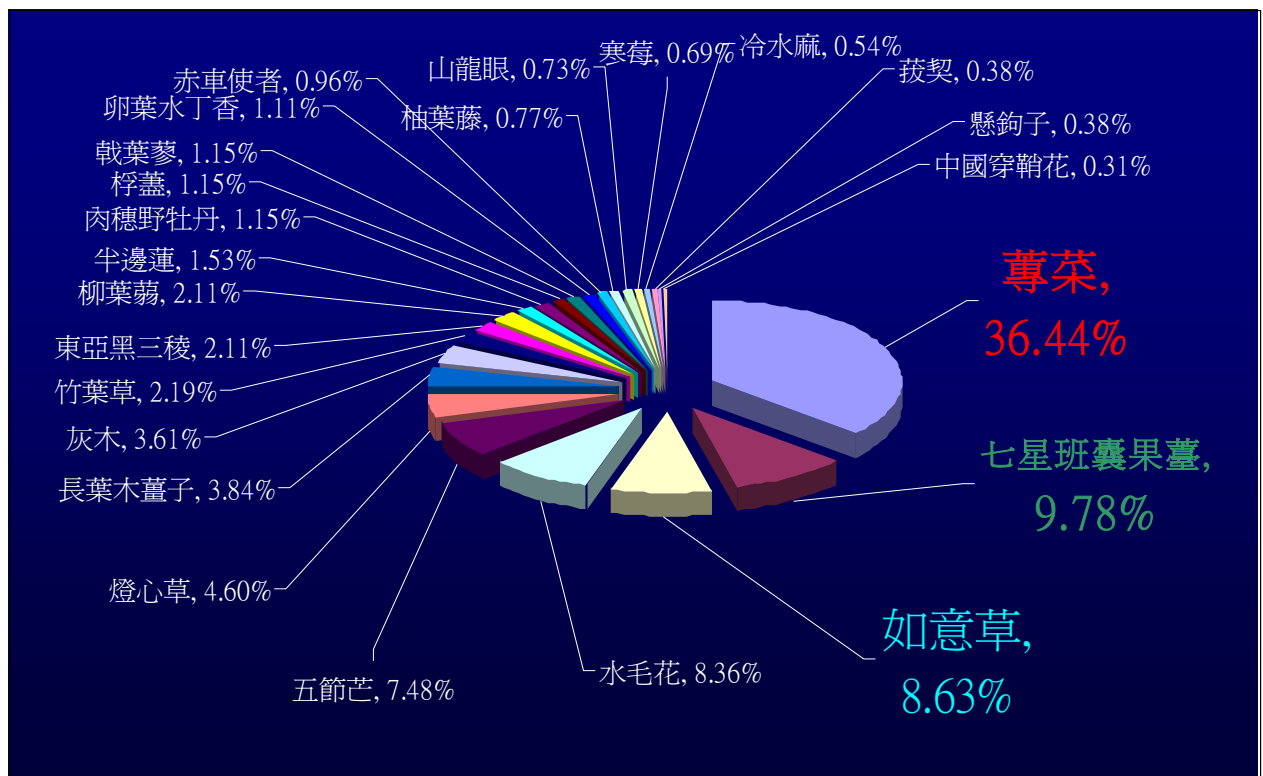


圖 2-1-3-2、91.12.8 崙埤湖棲地調查表之線截優勢百分比(東西向)

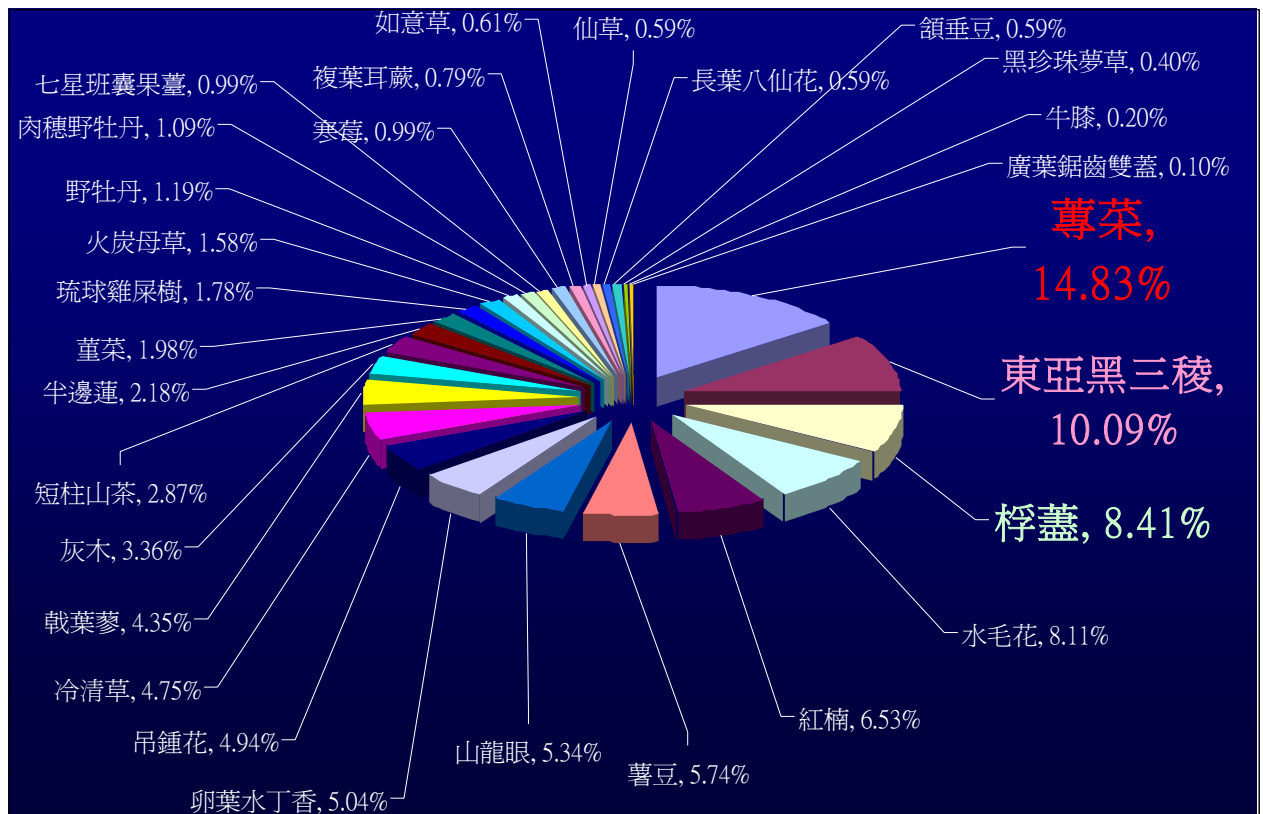


圖 2-1-3-3、91.12.8 崙埤湖棲地調查表之線截優勢百分比(南北向)

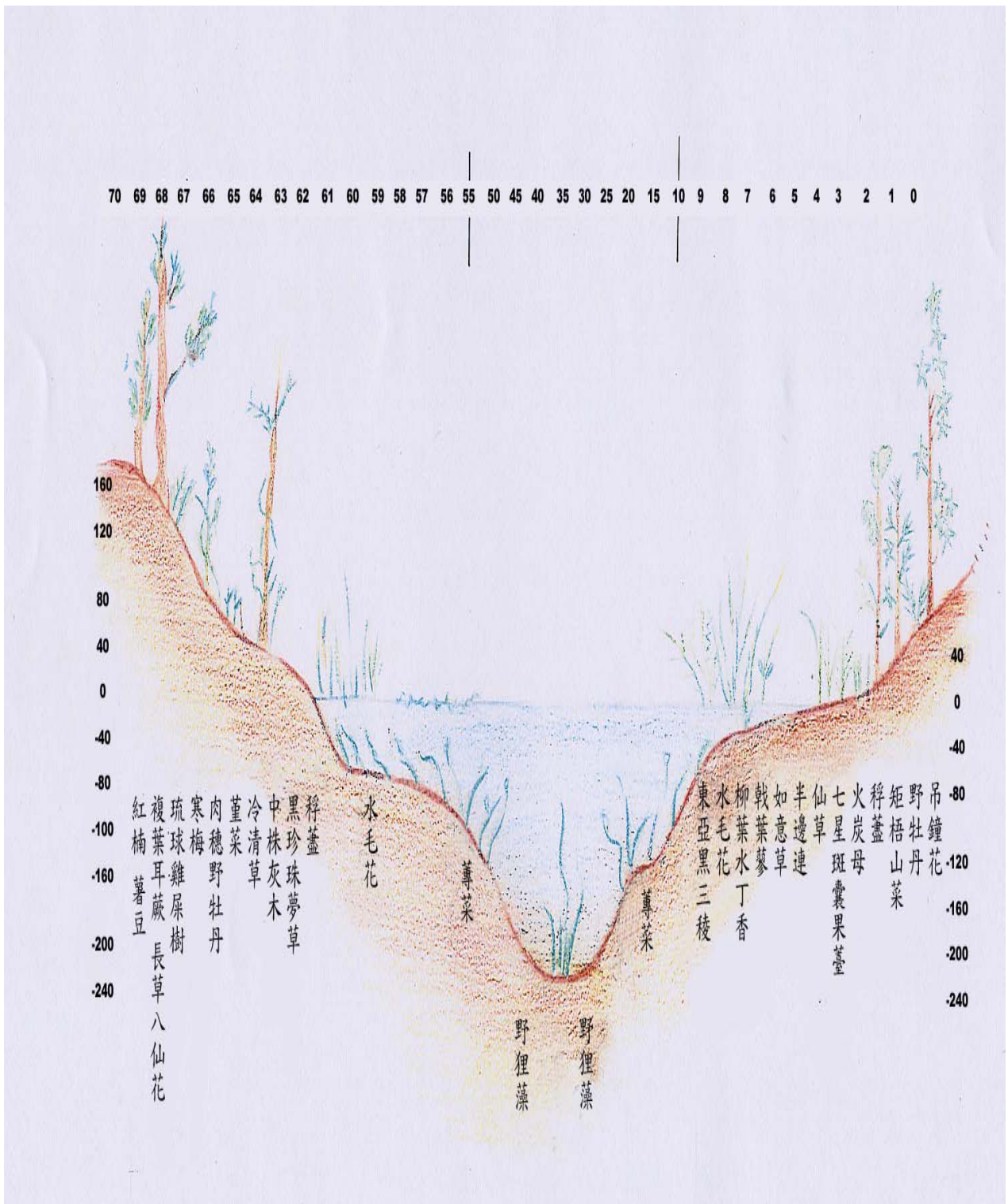


圖 2-1-3-4 崙埤湖水域及週邊植物社會示意圖 (東-西)

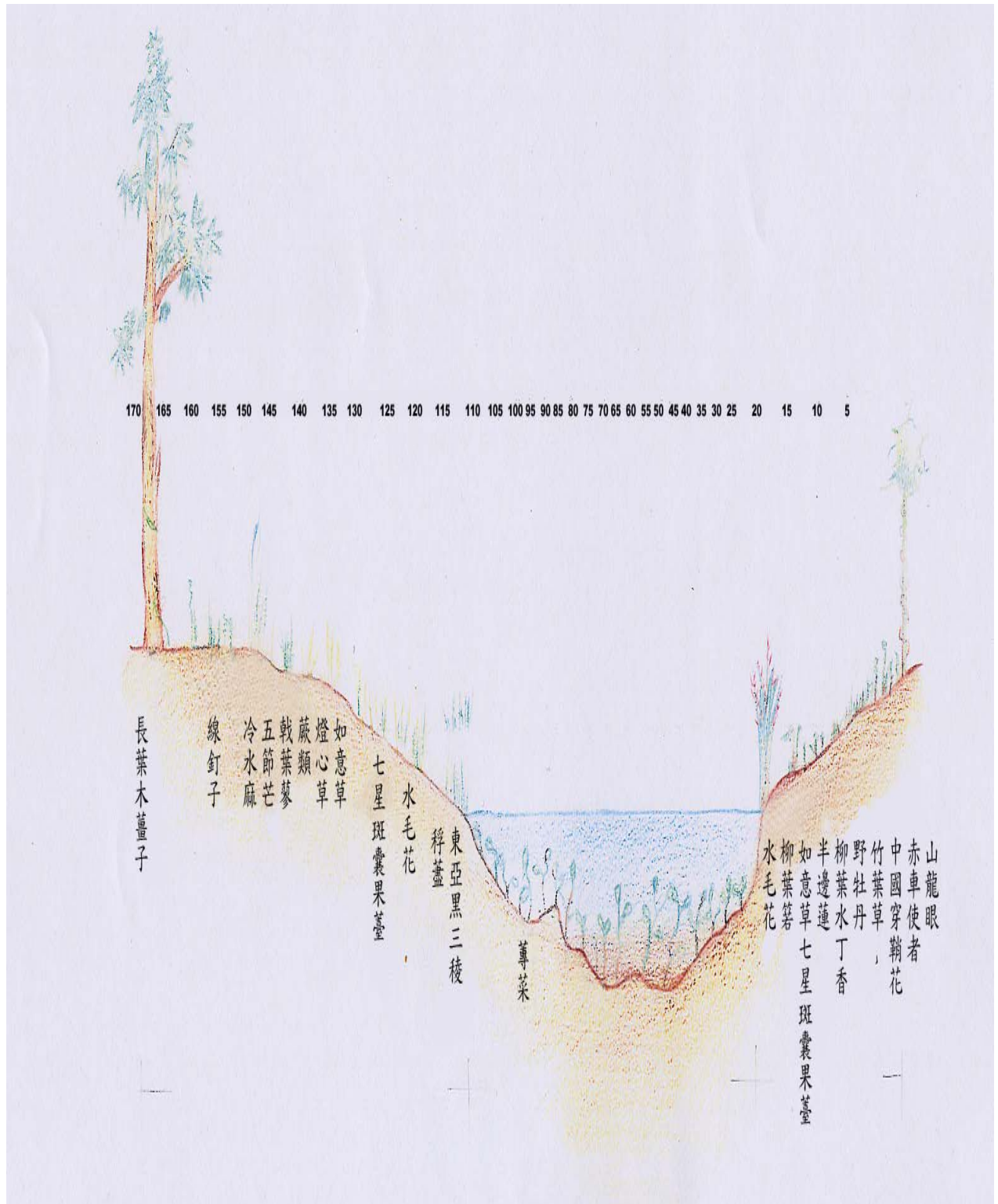


圖 2-1-3-5 崙埠湖剖面圖水生植物棲地社會示意圖 (南-北)

(4) 崙埤湖蓴菜之季節生長變化及物候調查：

1. 蓴菜之季節植群調查研究

蓴菜在一年中有特殊之休眠行為，而目前在台灣針對蓴菜生長週期之研究的文獻很少，更沒有持續性之田野研究，而針對物候我們以每月做調查時記錄並以照片之方式呈現蓴菜之季節生長變化。並以在崙埤湖中設定之樣區水域範圍內蓴菜生長之相對覆蓋度（relative coverage, %）做出季節生長變化之基礎生長資料。（如表 2-1-3-7；圖 2-1-3-6；表 2-1-3-8；圖 2-1-3-7；）

2. 崙埤湖蓴菜物候調查：

從 2002 年開始進行物候之調查研究根據四年之蓴菜季節生長變化瞭解蓴菜之季節生長史並於 2004 年開始對崙埤湖進行植物族群季節調查。蓴菜屬於多年生草本水生植物，生長旺期為春末夏初 5-7 月而此時之幼葉亦是生長最旺盛之時期，且因為幼葉含有充分之膠質，於大陸亦是採收蓴菜之幼葉食用，而在秋季至冬季時蓴菜之老葉會開始萎凋，準備進行休眠，但此時湖面上依然還是有蓴菜之葉，等到四月初時進行植群調查崙埤湖上有蓴菜新葉長出，所以此時做植群時為蓴菜之休眠期最明顯觀察之記錄，到了四月底五月初開始蓴菜之地下走莖又會開始進行分化長出莖葉柄以及葉，而穩定的進行繁衍（如圖 2-1-3-8、如圖 2-1-3-9）。

長軸樣帶	160m			%	%	%	%
編號	距離(m)	水深(cm)	物種	春	夏	秋	冬
4	12 到 16	15 cm	蓴	5	20	15	10
5	16-20m	35 cm	蓴	80	100	100	80
6	20-24m	40 cm	蓴	50	100	100	60
7	24-28m	45 cm	蓴	85	100	100	90
8	28-32m	55 cm	蓴	70	100	99	85
9	32-36m	55 cm	蓴	80	100	100	100
10	36-40m	65 cm	蓴	80	100	100	100
11	40-44m	75 cm	蓴	85	100	100	100
12	44-48m	85 cm	蓴	80	100	99	70
13	48-52m	90 cm	蓴	50	100	90	65
14	52-56m	95 cm	蓴	30	100	98	65
15	56-60m	100 cm	蓴	30	80	50	35
16	60-64m	125 cm	蓴	20	70	35	35
17	64-68m	125 cm	蓴	50	60	25	10
18	68-72m	130 cm	蓴	30	75	55	40
19	72-76m	145 cm	蓴	80	100	90	75
20	76-80m	145 cm	蓴	85	100	98	95
21	80-84m	150 cm	蓴	65	100	99	85
22	84-88m	160 cm	蓴	95	100	100	99
23	88-92m	160 cm	蓴	100	100	100	99
24	92-96m	165 cm	蓴	100	100	100	100
25	96-100m	165 cm	蓴	100	100	100	100
26	100-104m	165 cm	蓴	85	100	98	90
27	104-108m	15 cm	蓴	60	75	100	35

表 2-1-3-7 長軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度

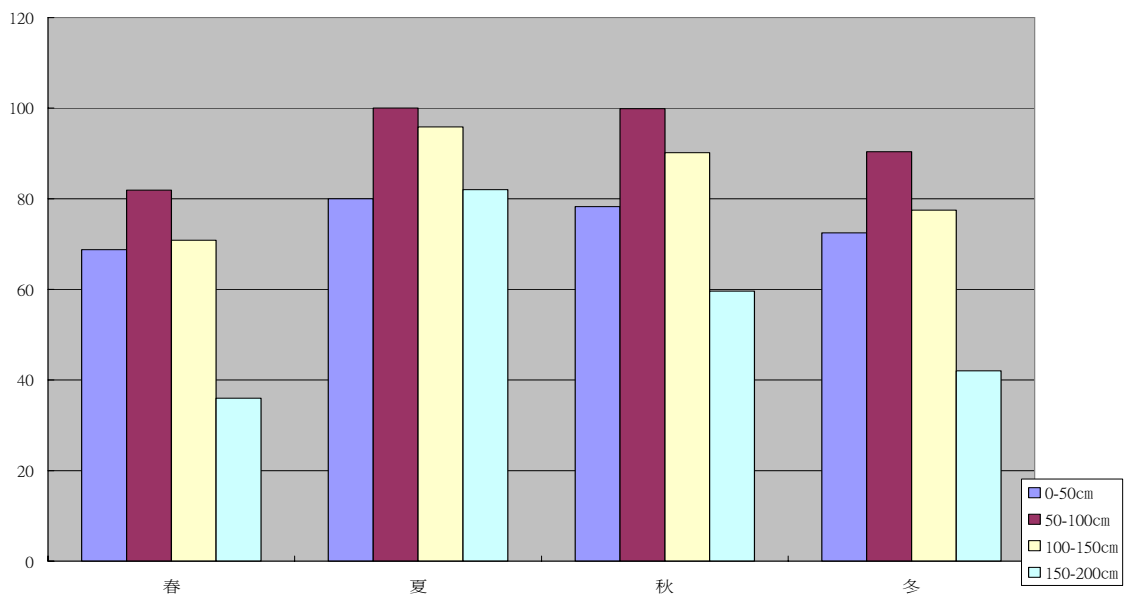


圖 2-1-3-6 長軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度

短軸樣帶 68m		%					
編號	距離(m)	水深(cm)	物種	春	夏	秋	冬
4	12-16m	25	蓴	70	100	95	85
5	16-20m	65	蓴	100	100	100	100
6	20-24m	105	蓴	100	100	100	100
7	24-28m	160	蓴	60	100	99	90
8	28-32m	160	蓴	45	80	70	60
9	32-36m	165	蓴	30	80	75	55
10	36-40m	155	蓴	60	95	90	75
11	40-44m	140	蓴	95	100	100	99
12	44-48m	105	蓴	100	100	100	100
13	48-52m	75	蓴	100	100	100	100
14	52-56m	35	蓴	35	90	50	45

表 2-1-3-8 短軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度

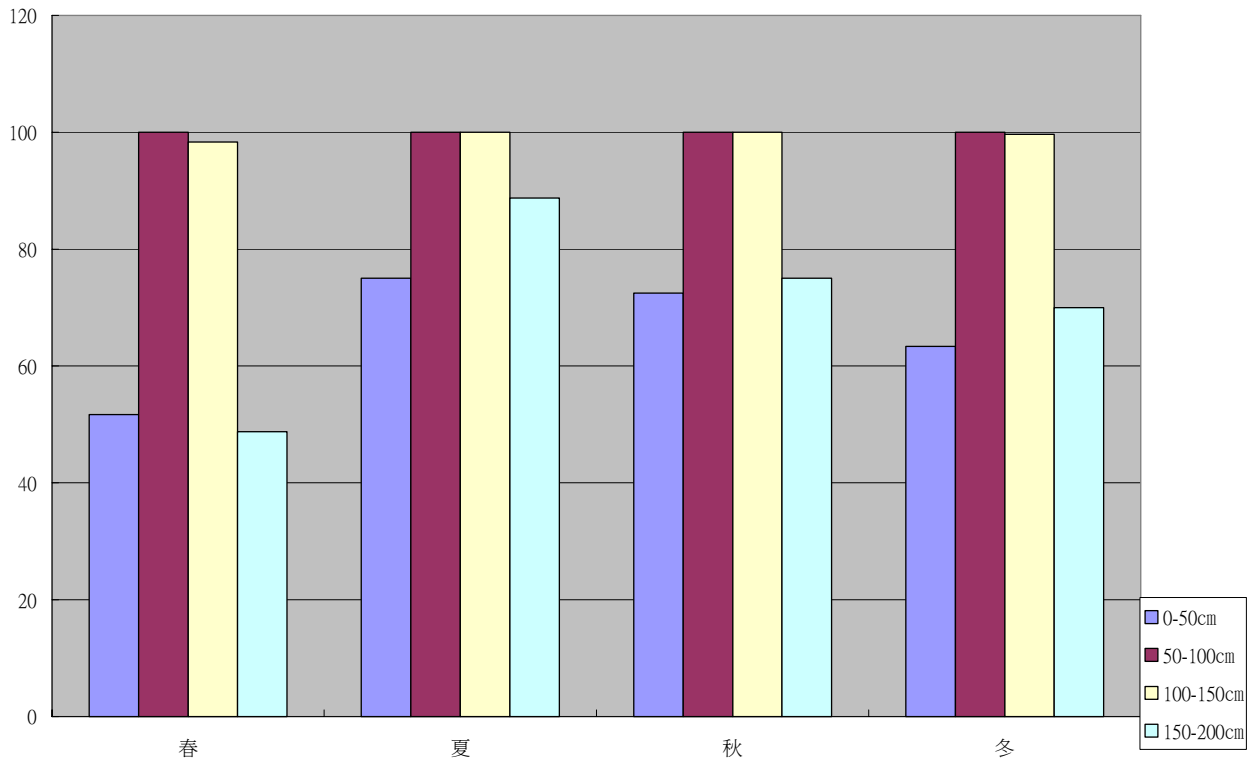









圖 2-1-3-7 短軸樣區蓴菜季節生長相對覆蓋度

一月		二月	
蓴菜休眠期			
三月		四月	
地下走莖開始分化，湖泊邊緣已有部份葉以長幼葉		長新葉，且幼葉及葉柄上均有豐富之膠質	
五月		六月	
	蓴菜抽花梗開花		
快速生長新葉亦屬花期			







七月		八月	
	 花開始萎凋		盾葉成熟結種子，且不再長新葉
九月		十月	
	部分老葉開始萎凋		葉柄以及莖部開始萎凋進入休眠
十一月		十二月	
	持續進行萎凋，僅剩下湖泊邊緣一部份葉片尚未萎凋		進入休眠僅剩下沉水葉

圖 2-1-3-9 崙埤湖蓴菜 7-12 月份生長物候觀測紀錄

(5) 崙埤水質基本資料之建立：

除了水深之外，「水質」對於水生植物生長亦具有重要的影響。一般而言，對於水質的採樣分析包括 pH 值、溶氧量 (DO)、生化需氧量 (BOD)、懸浮固體 (SS)、氨氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝酸鹽 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、亞硝酸鹽 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) 等營養鹽含量，以及鐵、鉛、銅、鎘、鉻、鋅、汞等重金屬含量等。為瞭解崙埤湖水之基本化學組成與水質之季節變化，自 2004 年 1 月起我們定期至崙埤採取湖水樣品進行分析，並以水溫自動記錄器監測不同水深位置水溫之季節變化，結果如下。

1. 崙埤湖水溫觀測：

崙埤屬於靜水生態系，其自然條件和生物類群都有獨特的特徵。崙埤湖由盆狀窪地積水而成，湖水的橫向流動和垂直循環都較弱，使湖泊的水溫有明顯垂直分佈層次。根據水溫資料調查之資料得知在六月至八月溫較高，其中八月份平均溫為 22.47°C 而最低溫是一月其平均溫度只有 10.61°C 。遂季節的變化使湖泊的季節溫差差異性很大 (如圖 2-1-3-10)。(其中三月、五月、九月之資料由於天氣之關係無法執行調查，所以此三月之資料有遺漏。)

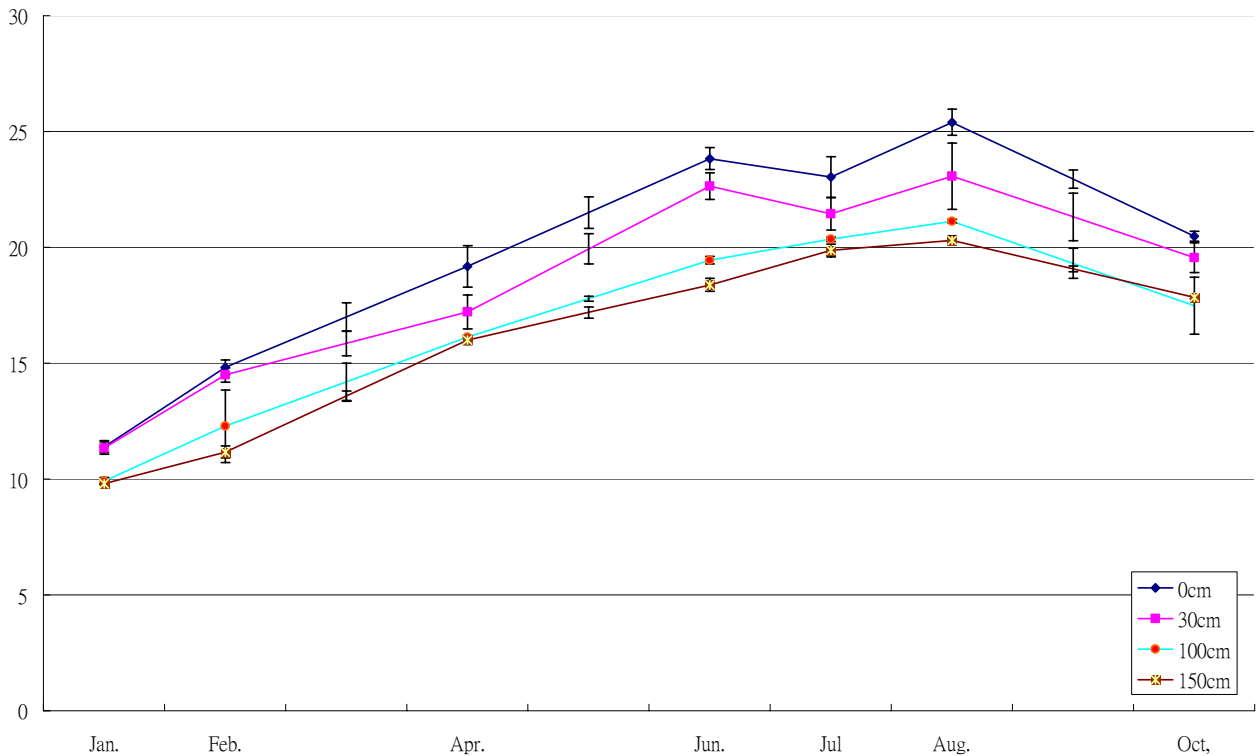


圖 2-1-3-10 崙埤湖水體季節溫度變化觀測

2.溶氧量 (D.O.) 與生物需氧量(B.O.D)

水中需氧量(D.O.)往往會直接影響到水中植物的光合作用與呼吸作用。且我們可以利用溶氧量的監測去瞭解湖泊的優養程度。生化需氧量(B.O.D)則為水中有機物污染的重要指標之一，宜蘭地區的大多呈現丁級，高於省政府公告的標準甲級(B.O.D 值超過 0.6mg/l)，顯示可能受到家庭污水和畜牧養殖污水的污染(於幼華，1992)。可能因此影響水生植物生長。

此實驗的研究目標是要測定崙埤湖水質中微生物的多寡對湖泊中之 BOD、容氧量的影響，以得到適於蓴菜生長的湖泊水質資料。

D.O.檢測結果：

在季節的監測下，可以觀察到崙埤湖為一個典行之貧養環境之湖泊，以表水之溶養量最高，但隨深度之下降，有垂直之變化，且在季節的觀測下我們可以很明顯的發現在七月份時表水之溶養量也只有 1.08 mg/L，而對照季節為蓴菜生長最旺盛之月份，整個湖泊幾乎被蓴菜之葉覆蓋住，所以我們初步推測在七月份時，蓴菜生長會需要耗用較多之養，而導致有此特殊之變化。相對之在二月份時因湖面上之蓴菜都以凋萎，只剩下過冬之沉水葉，所以在二月份時 D.O.溶氧量亦為全年最高之時。但因為湖水之流動性較小，相對就有較多天然之藻類進行光合作用之行為，可能影響水質 BOD 之變化。(如圖 2-1-3-11)

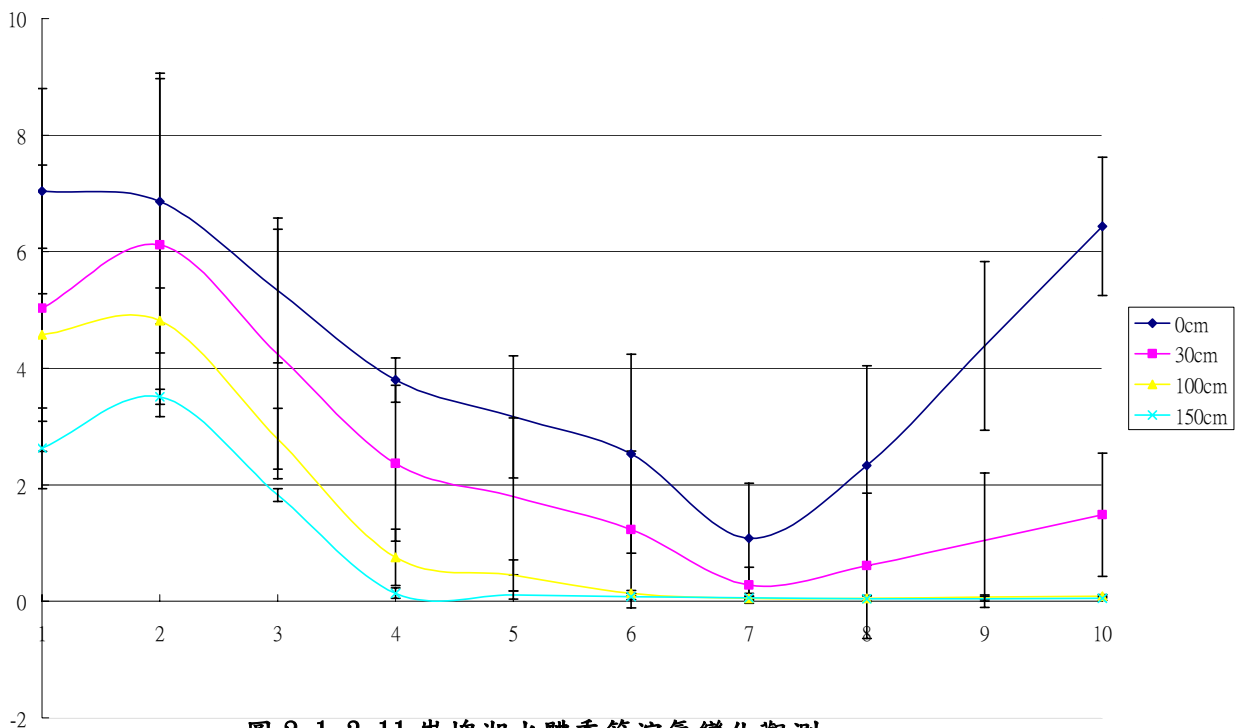


圖 2-1-3-11 崙埤湖水體季節溶氧變化觀測

BOD 檢測結果：

湖內採樣點	前測 Sample 1	前測 Sample 2	後測 Sample 1	後測 Sample 2	平均 BOD 值
湖中	9.04ppm	8.63ppm	4.51ppm	4.42ppm	4.37
湖邊（東）	6.40ppm	6.13ppm	5.37ppm	4.50ppm	1.33
湖邊（西）	7.36ppm	7.45ppm	4.78ppm	5.29ppm	2.37
湖邊（南）	8.40ppm	8.50ppm	1.65ppm	1.99ppm	6.63
湖邊（北）	7.50ppm	7.22ppm	3.06ppm	2.93ppm	4.365
崙埤湖 BOD					4.61

平均值：

表 2-1-3-9 崙埤湖之季節水質溶氧

在下列數據中我們可以根據環保署地面水體分類水質標準中，生化需氧量中甲級、乙級，丙級水體的數值分別為 1ppm、2ppm、4ppm 以下，而崙埤湖之 BOD 數值為 4.61ppm 其操作流程如圖 2-1-3-12；結果如下表 2-1-3-9 所示。而測值剛好介於乙級與丙級水體之間，水質普通，並無任何人工污染。

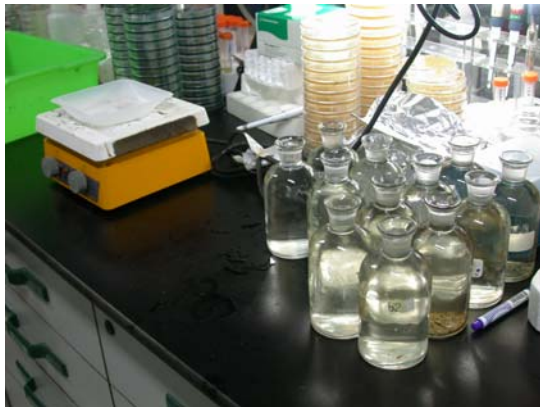


圖 2-1-3-12 崙埤湖 BOD 生化需氧量檢測過程

3. 崙埤湖水質 pH 值觀測：

經由紀錄觀察發現在崙埤湖各季節酸鹼值並沒有巨變之數據，pH 之季節平均值為 4.0 皆是屬偏酸性的水質，而針對垂直深度做測量也沒有太大之變化，均非常穩定，只有在十月份之值稍高一些，但 pH 值也都在 5.0 上下，會導致湖泊偏酸之原因我們可以得知因為崙埤屬靜水水域，而所有養份均靠枯枝落葉之腐敗生成，應為發酵之過程以致湖泊偏酸(如圖 2-1-3-13)，因此我們可以推測蘓菜是適合生長並且著根於弱酸性之水質環境。

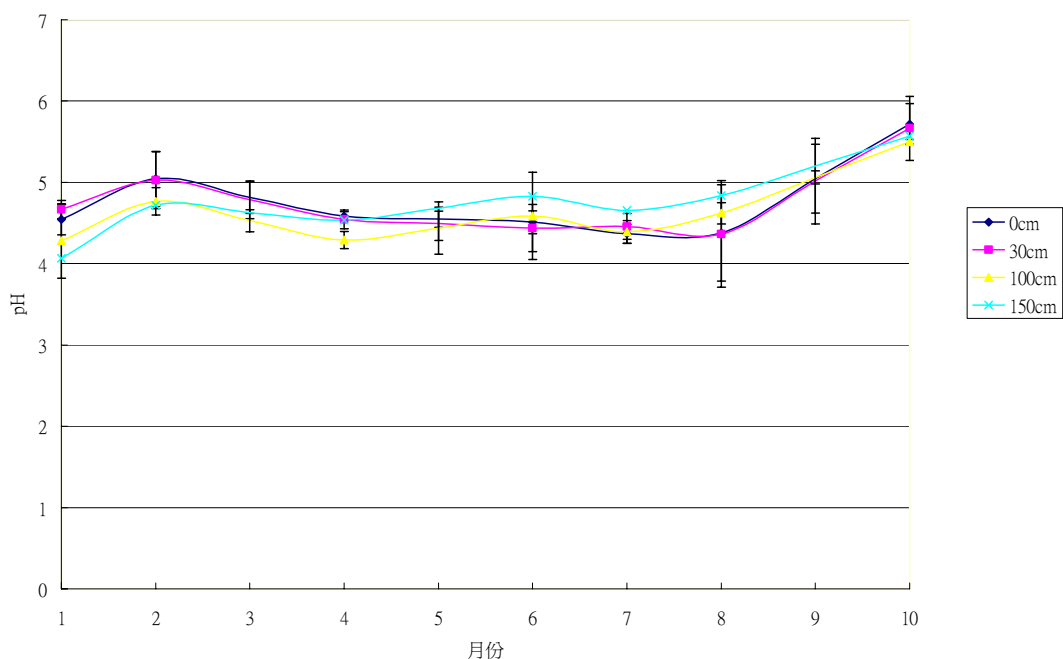


圖 2-1-3-13 崙埤湖內湖水酸鹼值季節觀測調查

4. 崙埤湖水質導電度值觀測：

導電度在垂直的觀測中從 0 cm-100 cm 都保持一個穩定值，正副偏差值也很穩定，但在水深 150 cm 的水深下最高測量到的平均值為 $46.3\mu s$ 而其他深度之平均值則在 $16\mu s$ ，且維持一穩定值，此導電度值顯示崙埤池屬於離子濃度不高，無污染之水質。(如圖 2-1-3-14)

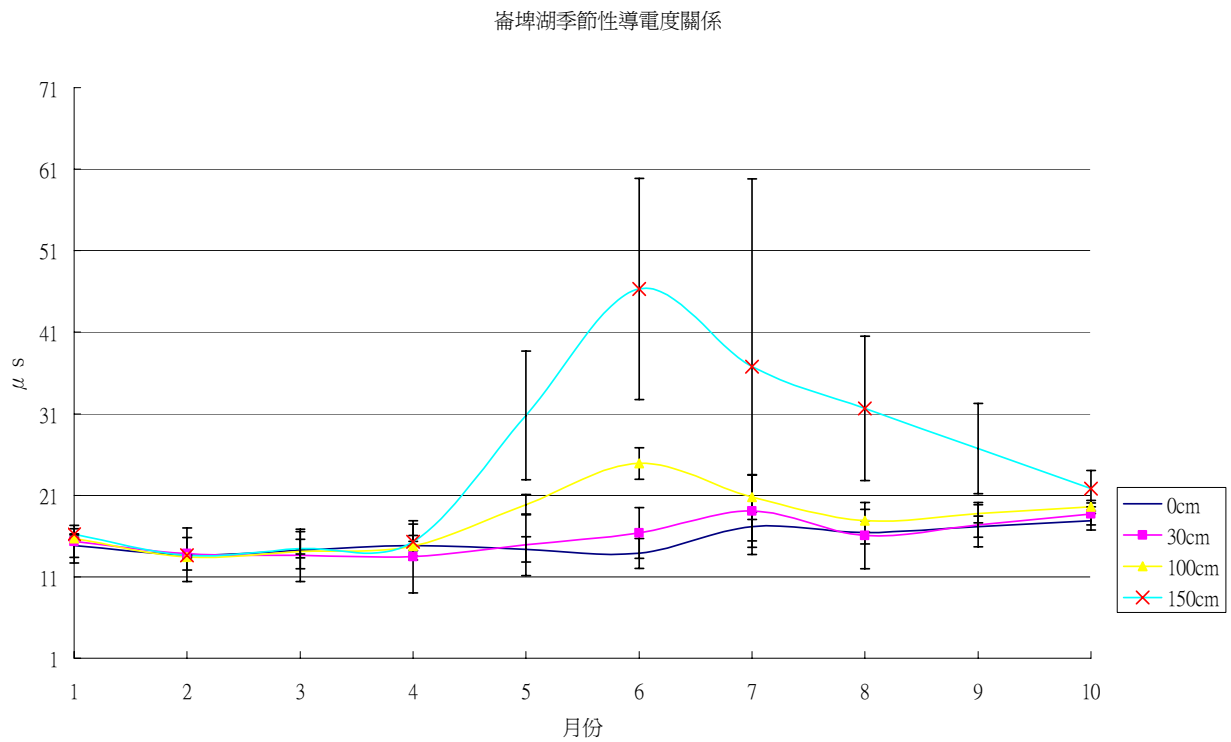


圖 2-1-3-14 崙埤湖內湖水導電度季節觀測調查

5. 崙埤湖水質微生物觀測：

微生物以：草履蟲、變形蟲、眼蟲、矽藻、以及多種水中浮游藻類，也是一般水質中常見之微生物種類（圖 2-1-3-15）。



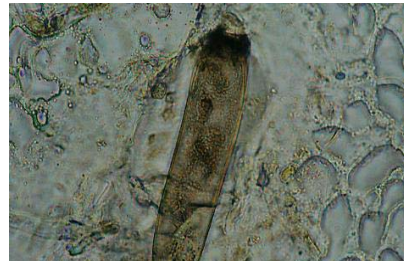
步驟一取出欲觀察水樣置於蓋玻



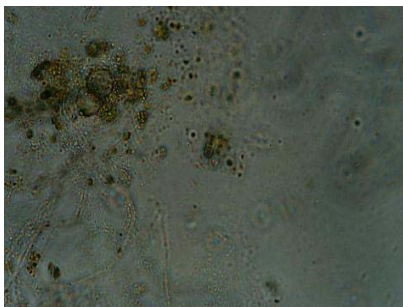
步驟二水樣觀察操作



矽藻（放大倍率：400 X）



草履蟲（放大倍率：400 X）



變形蟲（放大倍率：400 X）



藻類（放大倍率：400 X）



圖 2-1-3-15 水質微生物觀察

(6) 蓴菜的型態構造觀察：

A. 黏液構造

蓴菜之植株上有著豐富的黏液，其分佈主要位於沉水部份之幼葉、莖以及葉柄。此構造的主要功能在於防禦自體植株，不被外來之天敵影響。



圖 2-1-3-16
蓴菜葉背及葉柄被覆透明黏液構造。

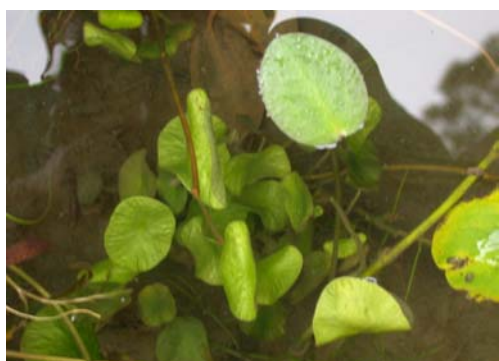


圖 2-1-3-17
水面下之蓴菜莖葉分佈狀態。

B. 地下莖之構造

蓴菜的莖可分為地上莖與地下莖，地下莖具有無性繁殖的作用，藉由走莖的方式，有多數生長點可繁衍出另一新的植株個體。

C. 花之構造

蓴菜的花會挺出水面開花，花色上為紫紅色，在構造上花蕊為多數成雙雌雄蕊，花瓣三枚，且具有多數活性高的花粉粒，存在於花藥中，可行有性繁殖。



圖 2-1-3-18
蓴菜地下走莖分佈



圖 2-1-3-19
蓴菜花之雌雄蕊構造

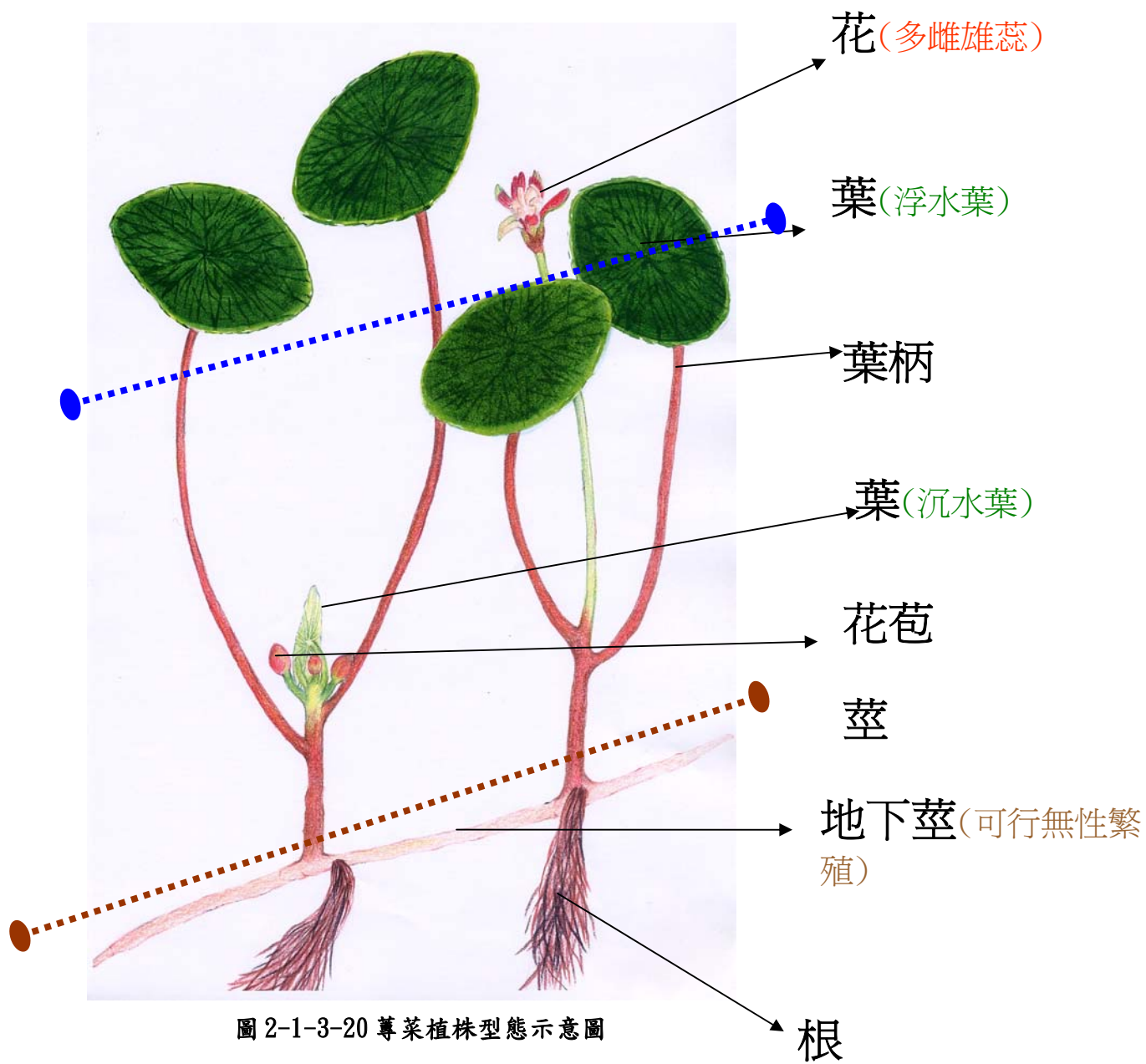
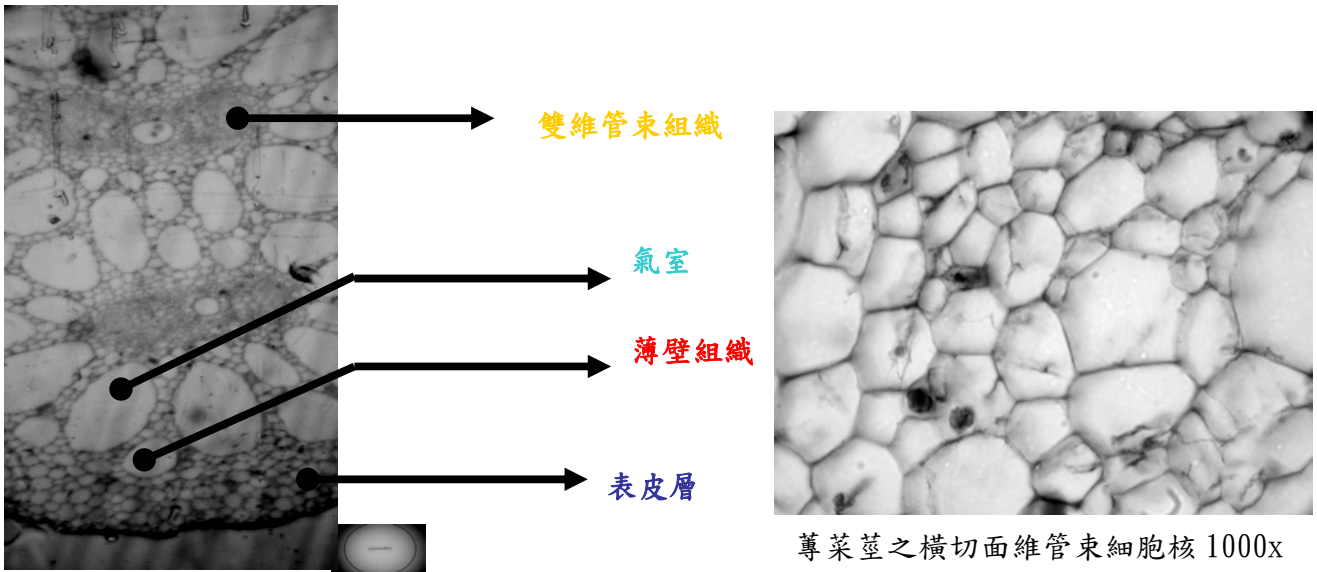


圖 2-1-3-20 蓴菜植株型態示意圖

(7) 蓴菜之組織觀察：

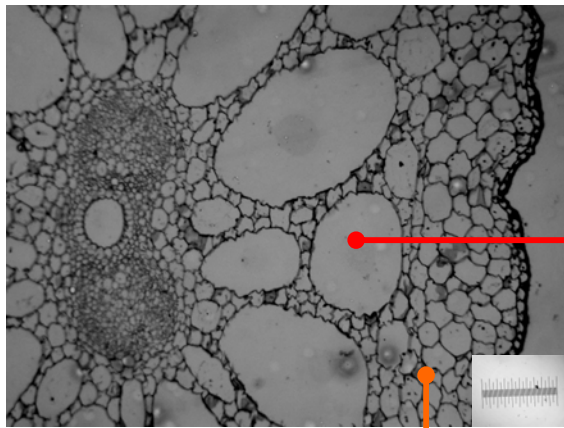
A. 蓴菜莖橫切面構造：

蓴菜莖部從最外層往內層觀察，最外層之構造，屬於植株之肉質細胞，具有行光合作用之葉綠體與紅色圓點之色素，蓴菜於莖的部位，有許多空心的氣室。蓴菜的莖組織在水生植物中不算大，但卻有八成以上是氣室的面積。(如圖 2-1-3-21、圖 2-1-3-22)

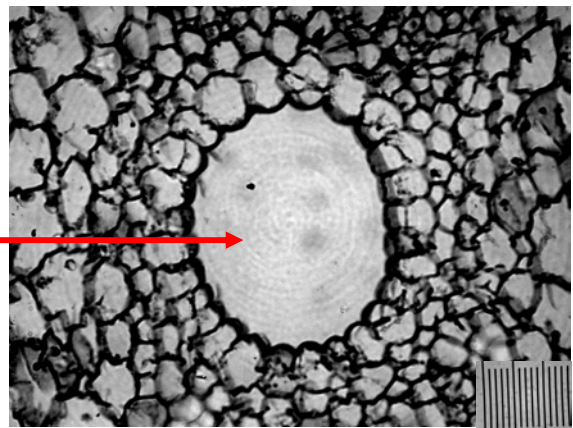


萵菜莖部切片整體構造 放大倍率：10.5X

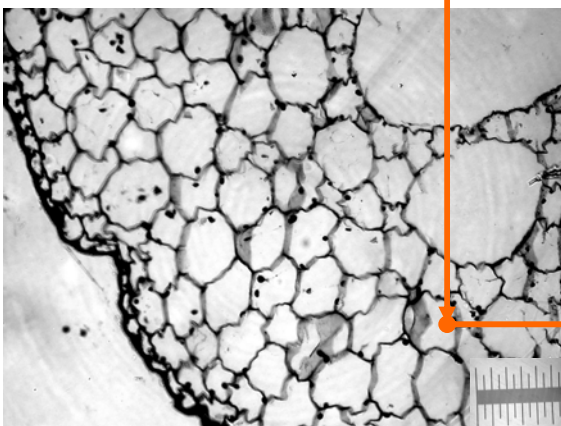
萵菜莖之橫切面維管束細胞核 1000x



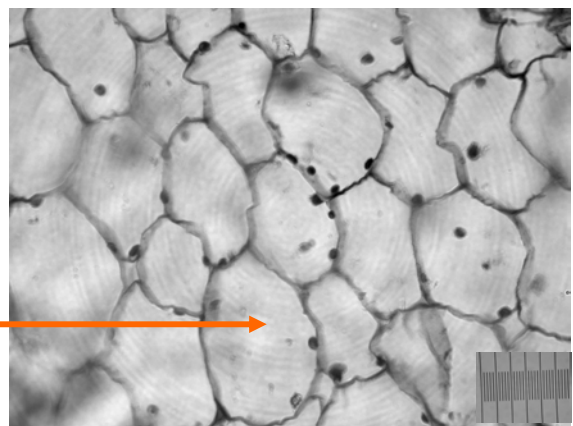
萵菜莖部橫切面 放大倍率：5x



萵菜莖之氣室 放大倍率：400X



萵菜莖部表皮薄壁組織構造 放大倍率：100X



萵菜莖之薄壁細胞放大倍率：200X

圖 2-1-3-21 萵菜之莖部切片觀察

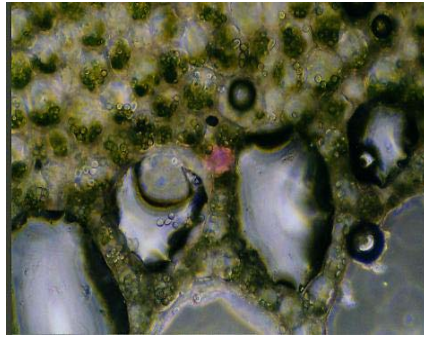


圖 2-1-3-22 蓴菜橫切面之最外層組織
放大倍率：100X

B. 蓴菜葉部組織觀察：

葉表皮細胞，都有很明顯的葉綠體組織，所以我們可以確定其蓴菜之葉表皮組織，有行光合作用的功能。(如圖 2-1-3-23)

蓴菜葉表皮之保衛細胞組織，較不同於一般植物之構造在於，蓴菜葉表皮細胞之中的保衛細胞數量很少，且本身細胞之體積也很小，必須用到 400 倍才有辦法較清楚的觀察，蓴菜之保衛細胞中，我們並沒有辦法很清楚的觀察到半圓形氣孔。(如圖 2-1-3-24)

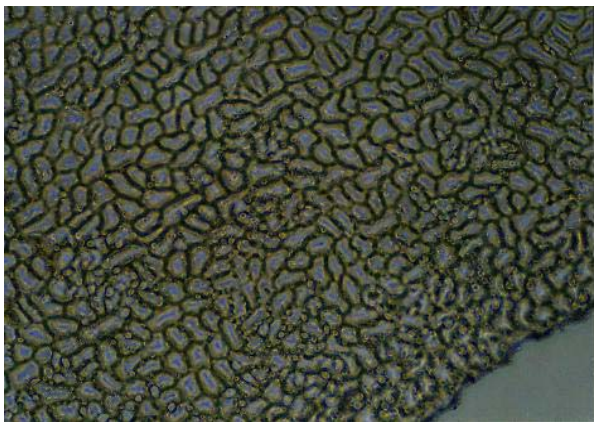


圖 2-1-3-23 蓴菜葉表皮之保衛細胞
放大倍率：40X

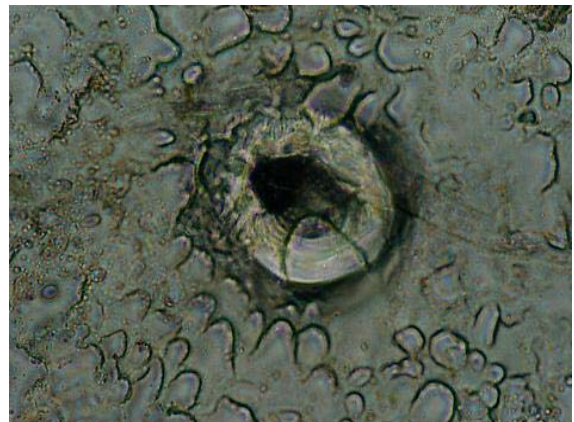
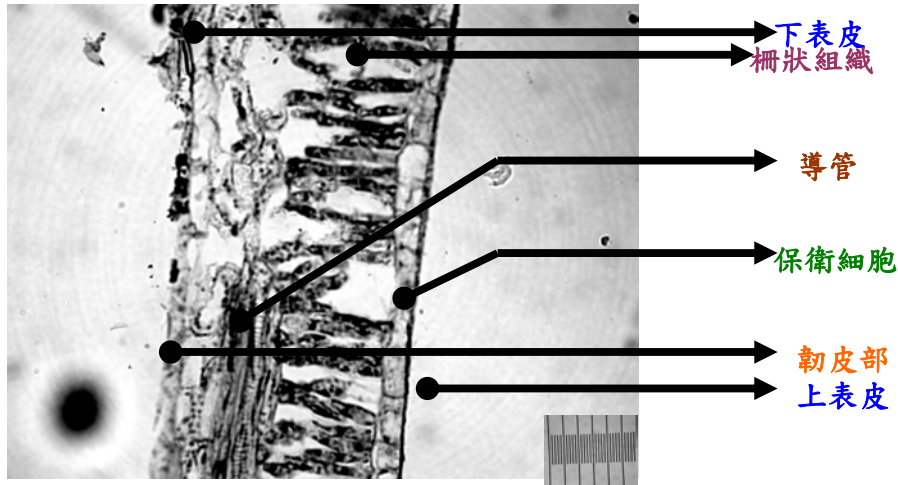
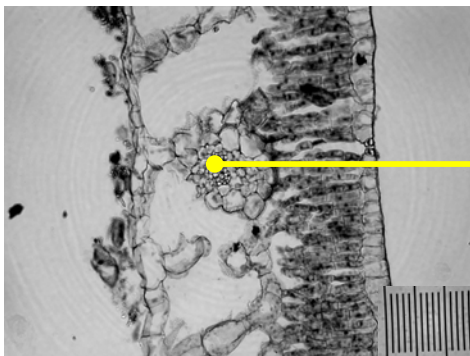


圖 2-1-3-24 蓴菜葉表皮氣孔
放大倍率：400X

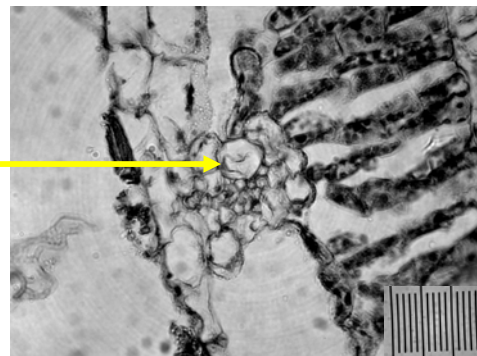
蓴菜之葉柄部位，因為為莖部之分枝，所以在構造上很相似，菜之葉部盾狀葉而且大小都在 7-8 cm 左右，經由切片觀察後，在導管的部分為螺紋導管，導管形式為一個很重要的分類依據，這是蓴菜過去會被歸納在睡蓮科之很重要的因素。(如圖 2-1-3-25、圖 2-1-3-26)，



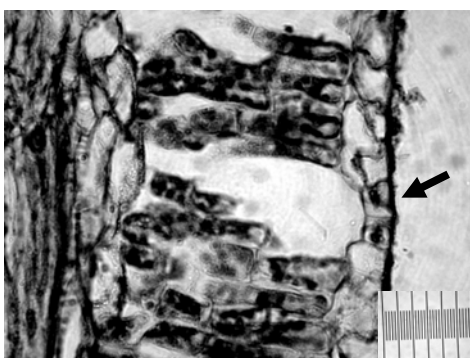
蓴菜葉片橫切面 放大倍率：200X



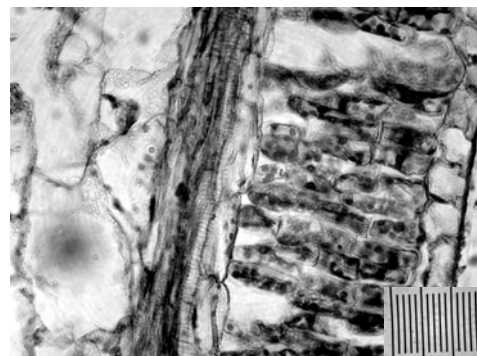
蓴菜葉片維管束組織 放大倍率：400X



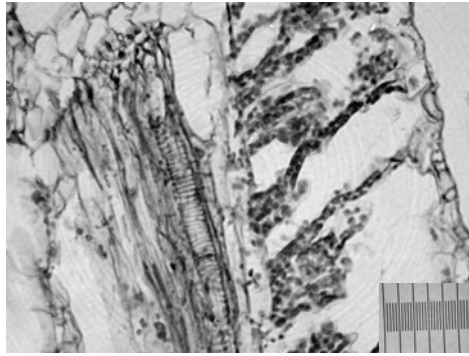
蓴菜葉片維管束組織構造 放大倍率：400X



蓴菜葉片上表皮保衛細胞 放大倍率：200X

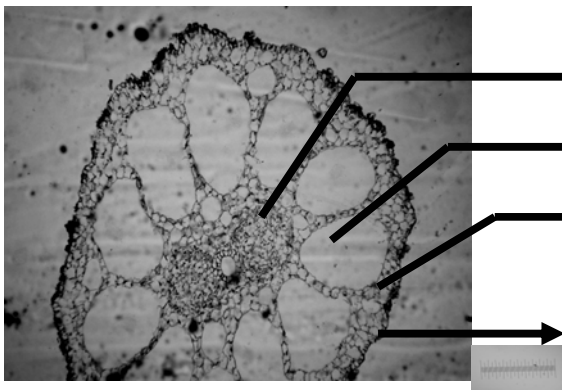


蓴菜葉片導管組織構造 放大倍率：400X



睡蓮葉片增厚導管組織 放大倍率：200X

圖 2-1-3-25 蓴菜之葉部切片觀察



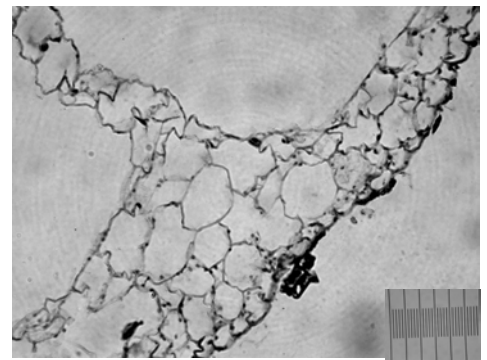
蓴菜葉柄橫切面 放大倍率：5X

維管束組織

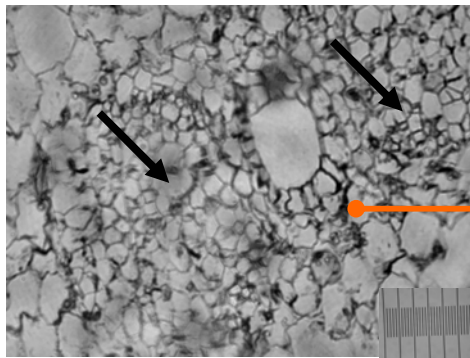
氣室

薄壁組織

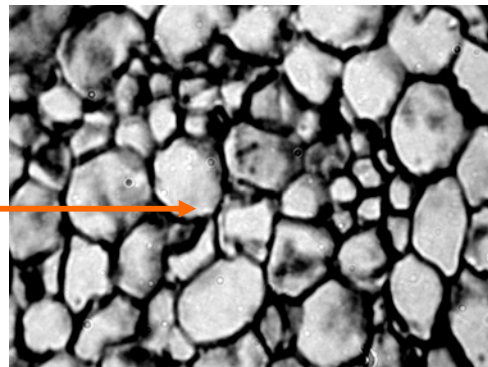
表皮層



蓴菜葉柄表皮組織 放大倍率：200X



蓴菜葉柄木質部雙維管束 放大倍率：200X

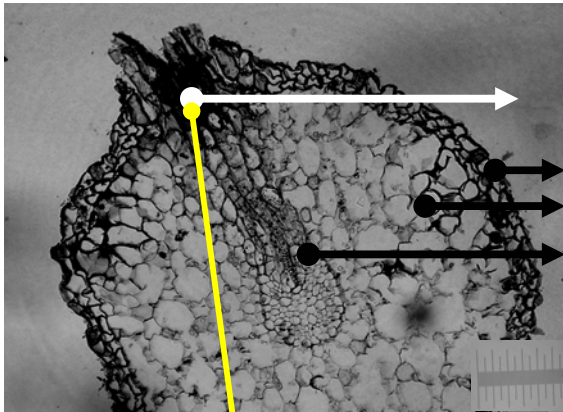


蓴菜葉柄橫切面維管束組織

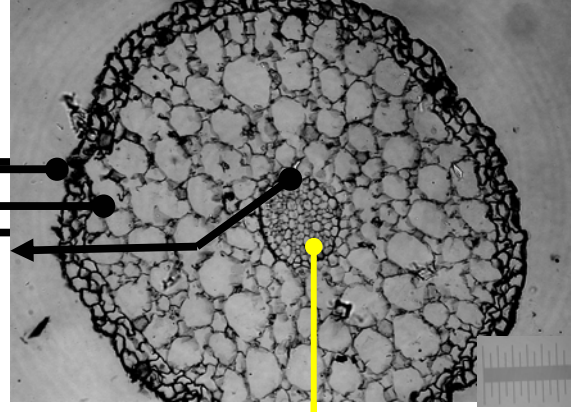
圖 2-1-3-26 蓴菜之葉柄部位切片觀察

C. 萼菜根之觀察：

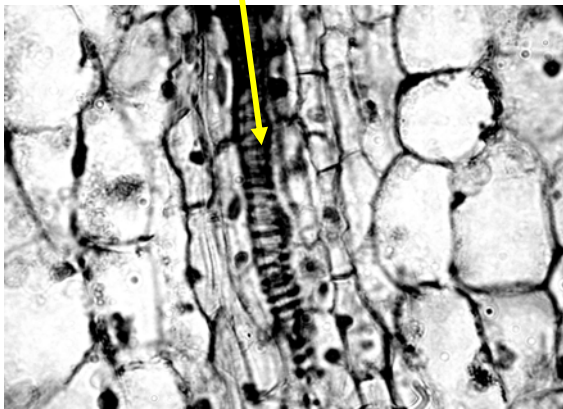
在石蠟切片之觀察下，萼菜的根部有許多側枝，氣室上萼菜之氣室也很大，中心為維管束。(如圖 2-1-3-27)



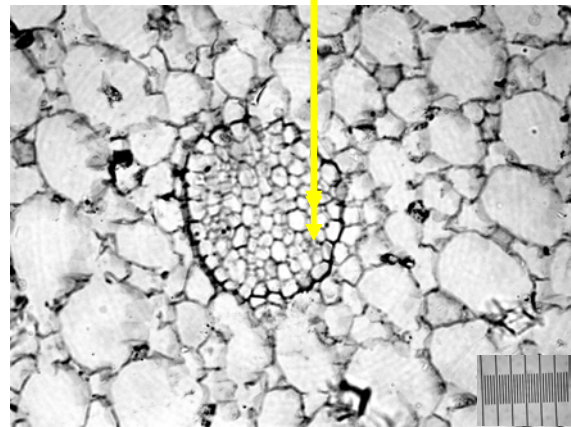
萼菜根部橫切面 放大倍率：100X



萼菜根部橫切面 放大倍率：100X



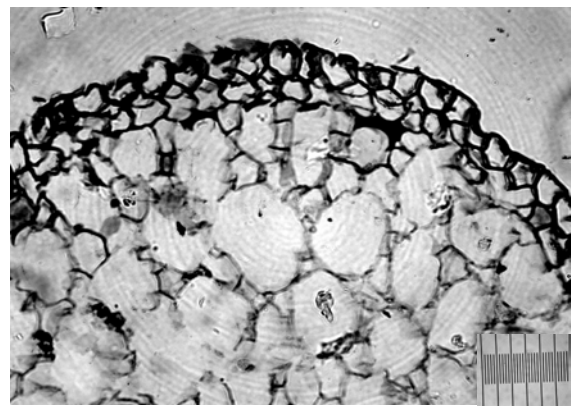
萼菜根之導管組織 1000x



萼菜根部中心維管束組織 放大倍率：200x



萼菜根部維管束切片構造 放大倍率：200X



萼菜根部表皮層切片組織 放大倍率：200X

圖 2-1-3-27 萼菜之根部位切片觀察

(四) 分析與討論

1. 氣溫資料分析：

在近五年中氣溫環境並無顯著的劇烈變化，由此推測蓴菜應可適於在 13.3°C~27.0°C 的溫度範圍內生存。

2. 雨量分析：

崙埤池地區自 1996 年至今，並未有因缺水使湖泊乾旱，導致蓴菜無法生長之現象。

3. 季節性水溫變化分析：

崙埤池之水溫分析值中，得知蓴菜最適合生長於水溫 22~25°C 之間，但水溫在 17~26°C 間的水溫蓴菜依然可以生存，只是較不旺盛。

4. 生物需氧量(B.O.D)及導電度值水質檢測

崙埤湖之 BOD 數值為 4.61ppm 結果介於乙級與丙級水體之間，水質普通，並無任何人工污染。而導電度平均值則在 16 μ s，且維持一穩定值，此導電度值顯示崙埤池屬於離子濃度不高，遂亦證實崙埤池之水體為無污染之水質。

5. 崙埤湖水質 pH 值觀測：

崙埤池之 pH 值之季節平均值為 4.0 皆是屬偏酸性的水質，而針對垂直深度做測量也沒有太大之變化，均非常穩定，所以我們可以得知蓴菜適合生長於偏酸性水體的環境下生長。

6. 蓴菜莖之觀察：

氣室構造與雙維管束之組織有助於生長深度之調節，就浮葉型水生植物中是非常特殊之特性，我們推測其蓴菜之氣室構造所佔面積大以及雙維管束之組織，在湖水深度較高時，氣室可幫助植株增加非常大之浮力，且維管束組織亦能支撐莖之組織，使其組織不至於斷裂，並且可以將養份以及水分利用中心之雙維管束組織充分做輸送，使得蓴菜得以在崙埤池 15~160 cm 的水深變化下成為優勢族群。但湖水中我們也測得水深在 160 cm 為蓴菜生長高度之極限，水深更深即無法生長。

7. 崙埤湖內蓴菜的分佈與湖水深度之關係：

崙埤湖內蓴菜分佈大多位於水深 50 cm 到 160 cm 處；而水深高於 160 cm，也就是湖泊中央的地方，沒有發現蓴菜的蹤跡。蓴菜生長最適合水深應於水深 50~160 公分處。(如表 2-1-3-7、表 2-1-3-8 所示)

二. 萼菜植株各部位之抗菌活性研究

基於本草綱目對萼菜有益腸胃消炎等功能之記載、及萼菜可食用之特性，固設計本實驗以驗證萼菜對於消化道常見致病菌種是否具抑菌活性。

(一) 實驗器材與儀器

1. 菌種：

由新竹食品工業發展研究所購入五株由皮膚、外傷及膿腫所分離出之金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)，其中 ATCC14990、ATCC11632 和 ATCC14154、ATCC6341 為 Penicillin-resistant 另外 ATCC33591 為 methicillin-resistant。另外亦有一株大腸桿菌 *E.coli* (CCRC 10316) 以及一株枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*) 如表 2-1-1

表 2-1-1 實驗菌株

NO.	Strains
S1	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC6341)
S2	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC14990)
S3	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC14154)
S4	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC11632)
E1	<i>Escherichia coli</i> (CCRC 10316)
B1	<i>Bacillus subtilis</i>

2. 儀器：

迴轉式減壓濃縮機 (EYELA)

冷凍乾燥機 (Cool Ace CA-105)

恆溫培養箱 (中光儀器)

高壓蒸氣滅菌機 (Tomin)

無菌操作箱 (海天科學)

光學顯微鏡 (OLYMPUS)

加熱板 (EYELA)

混合機 (YIH)

3. 試藥：

Kanamycin 1 μ g/disc (BBL,U.S.A)

Nutrient agar (DIFCO,U.S.A. No.213000)

Nutrient broth (DIFCO,U.S.A. No.234000)

(二) 實驗方法：

1. 實驗流程：

以瓊紙紙錠擴散法進行，萹菜之地下根莖、莖與葉柄三個部份之抗菌活性試驗

- (1) 準備滴液(9種.經冷凍乾縮成粉末)
- (2) 準備培養基(一種 NB15 盤)
- (3) 抑菌環實驗操作
- (4) 定溫 37 $^{\circ}$ C 培養 16~18 小時
- (5) 觀察量測抑菌環做成觀察記錄並拍照

(詳見圖 2-2-1、圖 2-2-2、圖 2-2-3)



圖 2-2-1 冷凍乾縮之萹菜藥粉

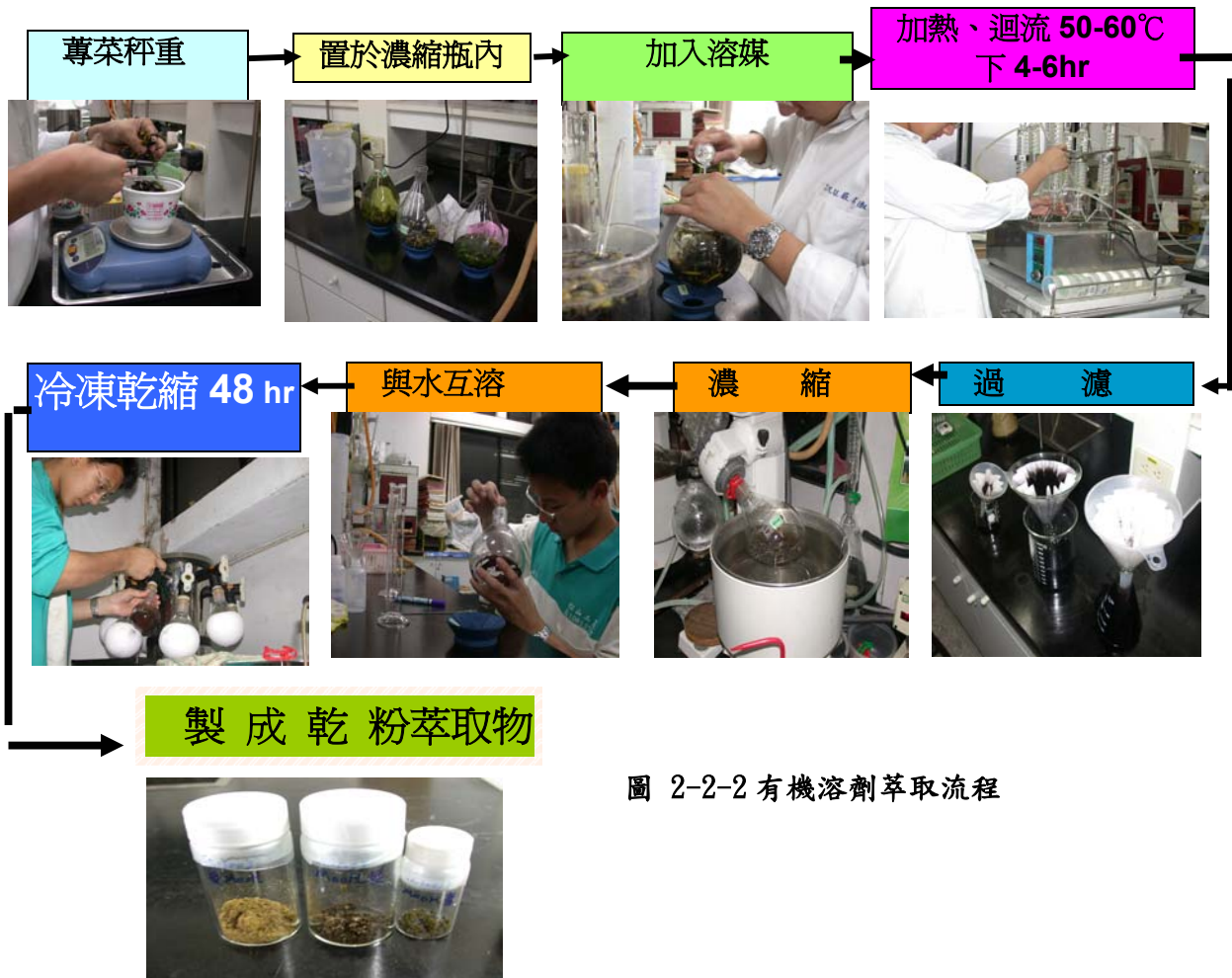


圖 2-2-2 有機溶劑萃取流程

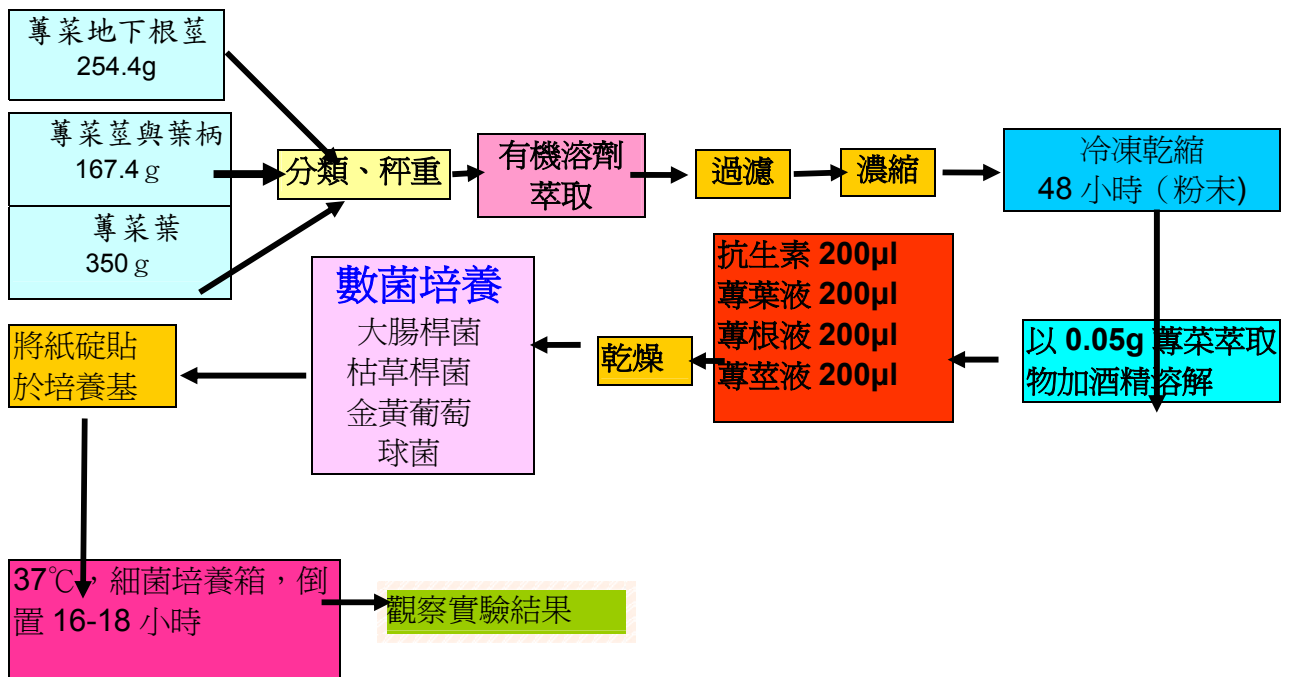


圖 2-2-3 萵菜各部位抗菌活性實驗

2. 萵菜溶液製備

本實驗分別以地下根莖、葉柄及莖、葉三部份試驗部位，其每部位均分成三等份，分別以甲醇萃取（MEOH）、丙酮萃取法（Acetone）、以及水萃取法之三組不同之溶媒進行萃取實驗，以測試不同之溶媒所萃出之萵菜成分之抑菌效果，每組重量分別為根 254.4g，莖 167.4g，葉 41.3g，而均分三等份後，則為根 84.8g，莖 55.8g，葉 13.7g。

(1) 植株處理:

- A. 清洗: 植株 以二次水浸泡 3 分鐘 3 次去除雜質，懸掛滴水。
- B. 萃取: 將 A、B、C 組分類後，分別以三組溶媒迴流萃取。
- C. 濃縮: 將 A、B、C 組之萃取物以濃縮機濃縮，再以冷凍乾縮機濃縮乾燥試驗用之。

(2) 溶液製備:

- A. 有機溶劑萃取法
- B. 水萃取法

(3) 配製溶媒:

本次實驗利用有機溶劑及二次水作為萃取溶媒，分別以 70% 甲醇（MEOH）、70% 丙酮萃取法（Acetone）以及二次水萃取，而溶媒之量則以萵菜三等份植株重量之 10X~20X 為準，依實際濃縮瓶大小稍做調整。

(詳見圖 2-2-4)



圖 2-2-4 將溶媒倒入萵菜萃取瓶

(4)加熱迴流萃取、過濾：

步驟；首先將溶媒依照數量倒入萃取瓶後，即將迴流萃取機之電源打開，並且將溫度調至 60°C，益於溶媒之揮發，再將入水之開關打開，注意水管都需接好，出水與入水之水管勿接反，接著即可將萃取瓶接上萃接管，而萃取之時間一般為 4-6hr。

水萃取則以一樣的量加入做為溶媒，但會以加熱板直接加熱以達萃取之效果，時間上一樣以 4-6 hr 為一個標準，並依萃取之情形稍作調整。

所有萃取之步驟完成後，將萃取物進行濾紙過濾，準備 1 號濾紙及漏斗，直接將過濾所得濃縮萃取液裝入濃縮瓶備用。(詳見圖 2-2-5、圖 2-2-6)



迴流萃取操作過程



加熱迴流萃取機



進行溶液過濾



溶液萃取完成

圖 2-2-5 有機溶媒萃取流程



以水加熱萃取之過程



水萃取液

圖 2-2-6 以水萃取溶液流程

(5)濃縮機濃縮、與水互溶：

利用加溫加壓與旋轉的方式，將溶液濃縮。首先將濃縮瓶接上濃縮機，關上氣壓閥且扣上安全鈕後，將總電源打開，水浴鍋一樣調整在 40℃，再將旋轉開關打開，並且將轉速調整在 4 的位置需在旁觀察濃縮瓶是否有鬆脫，或旋轉不均勻之現象。

(詳見圖 2-2-7)



圖 2-2-7 濃縮流程

確認溶媒已完全揮發時，即可將濃縮機關閉。由於濃縮完之溶液再做冷凍乾縮，(如圖 2-2-8 圖 2-2-9、圖 2-2-10)



圖 2-2-8 濃縮後之情形



圖 2-2-9 配置水溶液



圖 2-2-10 與水互溶完成之樣本

(6) 冷凍乾燥 (freezen dry) :

冷凍乾縮是利用真空低溫之原理，將溶液中之水分完全吸除。將萃取瓶上機，先將裝於冷凍乾縮瓶中之萃取液接於酒精槽中，利用酒精在 4°C 之溫度下不會結冰之性質，將酒精之溫度調於 4°C 以下，之後再將溶於水之藥品放進酒精槽中旋轉，大約 15 分鐘後均勻結冰，即馬上將藥品接上冷凍乾縮機，開始在真空且低溫之環境下，藉由抽氣馬達，將水分完全蒸散，24hr 後完全抽乾形成粉狀。(詳見圖 2-2-11、圖 2-2-12)



圖 2-2-11 酒精槽 Colding 冷凍



圖 2-2-12 接上冷凍乾縮機之操作過程

避免下機後乾粉樣品又受潮，須快速將瓶口用封口膜將瓶口包起來，接著快速在將冷凍乾縮瓶中之藥粉裝至樣品瓶用封口膜封起來後，秤重於乾燥之地方存放。(詳見圖 2-2-13、圖 2-2-14)



圖 2-2-13 冷凍乾縮 24hr 後之情形



圖 2-2-14 裝置於樣品瓶中以防受潮

(7) 試劑稀釋、溶解：

為求精準，每片紙錠上之溶液之濃度設定在 $1\text{mg}/200\mu\text{l}$ ，預計做 10 片紙錠，固需配置 $10\text{mg}/2\text{ml}$ ，每種蕁菜萃取粉 0.01g 加入 20ml 之 70% 酒精(EtOH)，利用震盪器均勻溶解，還有未溶解則利用超音波助溶，最後再放置於 U.V. 燈下殺菌 30mins 即完成藥劑配置。(詳見圖 2-2-15、圖 2-2-16)

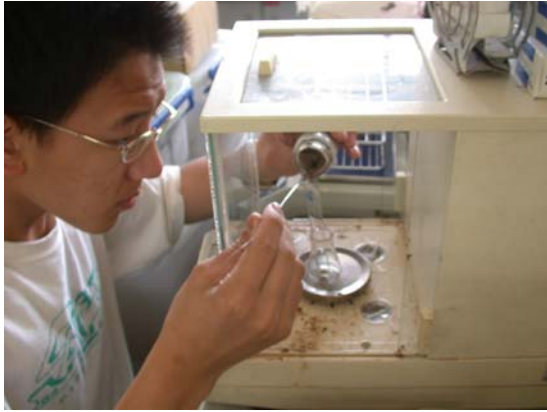


圖 2-2-15 量秤藥粉



圖 2-2-16 加入酒精並均勻稀釋

(8) 檢測藥錠製作：

將配製好之蕁菜藥劑，準備好後，則先將加熱版加熱，再鋪上鋁箔將直徑 8 mm 紙錠放於鋁箔上，之後再以自動微量吸管調整在 $50\mu\text{l}$ ，直接滴於紙錠上，再將紙錠反面加 $50\mu\text{l}$ ，反覆兩次剛好為 $200\mu\text{l}$ 。(加熱之原因是之前利用酒精來溶解藥劑，要再讓酒精揮發後才不會影響抑菌之試驗。) 在所有紙錠都滴定好後，一樣要置於 U.V. 燈下殺菌 30mins，確保無菌。(詳見圖 2-2-17、圖 2-2-18)



圖 2-2-17 藥劑滴定過程

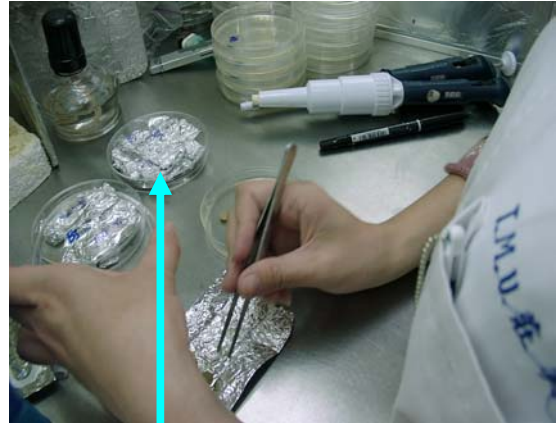


圖 2-2-18 準備置於 U.V. 燈下殺菌 30mins

3. 培養基接菌與瓊脂紙錠擴散實驗

本實驗分為共三組五盤，計十五盤以數菌法接菌。

金黃葡萄球菌 *S.aureus* (CCRC 10266)

大腸桿菌 *E.coli* (CCRC 10316)

枯草桿菌 *B.subtilis*

(2) 菌種定量數菌：

將前一天培養好之菌種準備好後，再利用滴管隨機取一滴菌液於數菌器上，再滴一滴碘液後，置顯微鏡下，利用九格中，五格內之菌數，分別以記數器紀錄下來，其五格則分別位於九格中之四個角落及正中央，分別記數後，帶入數菌之公式如下： $\text{菌量} \times 5 \times 10^4 = 5 \times 10^6 \text{CFU/ml}$ 以這公式為標準。(詳見圖 2-2-19、圖 2-2-20)



圖 2-2-19 將菌液滴於數菌器



圖 2-2-20 置於顯微鏡下數菌

(1) 培養液與培養基之配製：

A. 液態培養液：

Nutrient broth 之配製：取 8g 的 nutrient broth 粉末置於血清瓶中並加入 1000 ml 的蒸餾水，加熱攪拌至完全溶解，分裝於 pyrex 試管，置於高壓蒸氣滅菌機中於 1.2 atm, 121°C 下滅菌 15 分鐘。

B. 固態培養液：

Nutrient agar 之配製：取 23g 的 nutrient arga 粉末置於血清瓶中並加入 1000 ml 的蒸餾水，加熱攪拌至完全溶解，置於高壓蒸氣滅菌機中於 1.2 atm, 121°C 下滅菌 15 分鐘後，分裝於培養皿中。

(3) 瓊脂紙錠擴散法 (disc agar diffusion method)：

A. 在無菌操作箱中取滅菌過的 nutrient agar 9 ml，待冷卻至 45°C 時，加入菌液並以混合器混合均勻後倒入無菌培養皿，使每一個培養皿含有 10^5 CFU/毫升，待冷卻凝固後貼上含藥物的紙錠並以 10 IU 之 penicillin 紙錠或 1 μ g 之 oxacillin 為正對照組，培養在 37°C 的培養箱中。

. 經過 24 小時後測量其抑制圈之直徑大小，每種藥物至少檢測三次，以求其平均值；抗菌活性抑制圈之判讀是依測量抑制圈直徑大小所得之平均值，直徑大小於 10mm 是具有拮菌活性；10mm 為輕度活性，11 到 15mm 為中度活性，16 到 20mm 為高度活性。

由於本次實驗之紙錠數量也較多，一個培養基連同抗生素為七個紙錠，所以更須注意到每個紙錠之間距勿太密，紙錠在放置時，要注意當紙錠接觸到培養基後即不能在移動，避免藥效的接觸影響。倒置培養於 37°C 之細菌培養箱中 16-18hr 進行抑菌環之結果觀察與紀錄拍照。

(詳見圖 2-2-21、圖 2-2-22、圖 2-2-23、2-2-24)

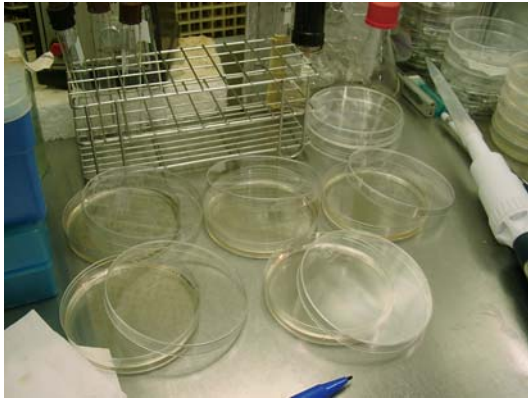


圖 2-2-21 培養基製作



圖 2-2-22 紙碟貼置



圖 2-2-23 紙碟標示、紀錄



圖 2-2-24 放置培養箱 37°C 16-18hr

(三) 研究結果與討論：

1. 蓴菜甲醇萃取液對大腸桿菌、枯草桿菌及金黃葡萄球菌無抑菌活性。

由甲醇自蓴菜的地下根莖、葉柄與莖以及葉片萃取出之成分對大腸桿菌、枯草桿菌、及金黃葡萄球菌之抑菌實驗結果顯示，抑菌環皆為 8 mm，小於 10 mm 之抑菌活性標準。甲醇萃取液成分並無抑菌效果。(如表 2-2-1；圖 2-2-26、圖 2-2-27、圖 2-2-28)

)

紙錠	抑菌環直徑 (mm)	大腸桿菌	枯草桿菌	金黃葡萄球菌
抗生素 (Kanamycin) 藥錠 1mg	25.3	25.3	21.0	22.3
蓴菜地下根莖萃取液 1mg/200µl	8	8	8	8
蓴菜葉柄與莖部萃取液 1mg/200µl	8	8	8	8
蓴菜葉片萃取液 1mg/200µl	8	8	8	8

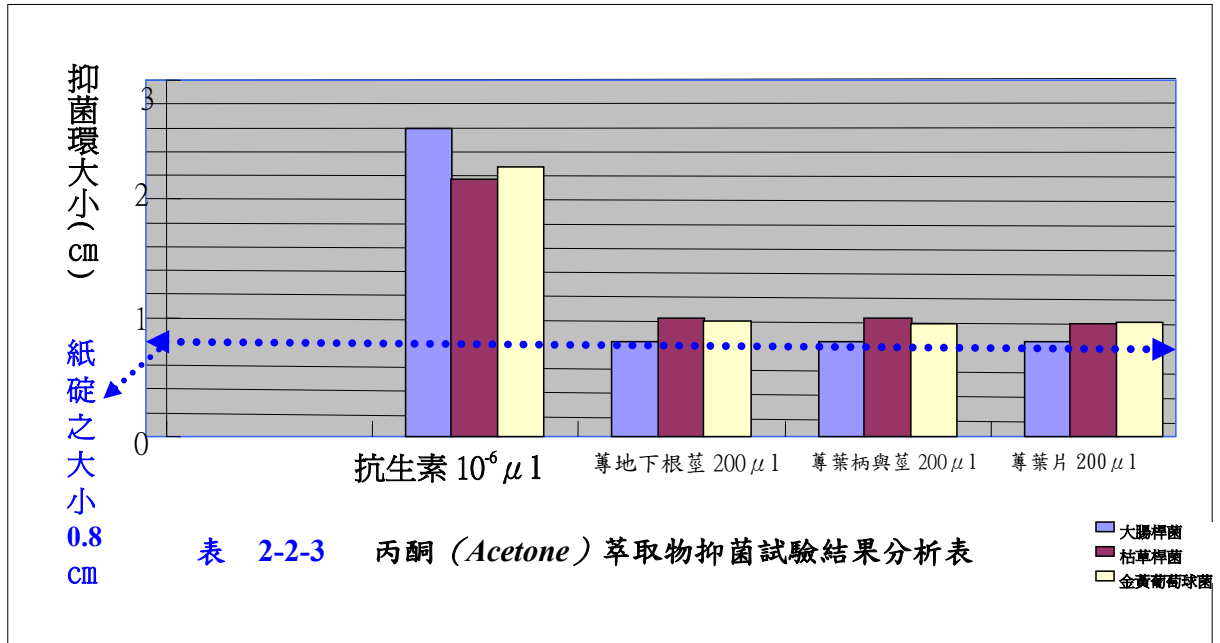
表 2-2-1 甲醇 (MEOH) 萃取物抑菌試驗結果分析

2. 蓴菜丙酮萃取液對於枯草桿菌及金黃葡萄球菌有輕度活性。

對大腸桿菌不具抑菌活性。由丙酮自蓴菜地下根莖、葉柄、與葉片部分萃取出之成分，對於枯草桿菌及金黃葡萄球菌皆有輕度活性。(抑菌環 10 mm)，或稍弱之輕度抑菌活性 (抑菌環 9.5~9.7 mm)。此類萃取成分對於大腸桿菌則不具抑菌活性。(如表 2-2-2、表 2-2-3；圖 2-2-26、圖 2-2-27、圖 2-2-28、圖 2-2-29、圖 2-2-30、圖 2-2-31)

紙錠	抑菌環直徑 (mm)	大腸桿菌	枯草桿菌	金黃葡萄球菌
抗生素 (Kanamycin) 藥錠 1mg	26	26	21.7	22.7
蓴菜地下根莖萃取液 1mg/200µl	8	8	10	97
蓴菜葉柄與莖部萃取液 1mg/200µl	8	8	10	95
蓴菜葉片萃取液 1mg/200µl	8	8	95	96

表 2-2-2 丙酮 (Acetone) 萃取物抑菌試驗結果



3. 蓴菜水萃取液對於大腸桿菌、枯草桿菌及金黃葡萄球菌皆無抑菌活性，由水自蓴菜地下根莖、葉柄、與葉片部分萃取出之成分，經由瓊脂紙錠擴散實驗所得之抑菌環直徑皆為 8 mm (< 10 mm 輕度抑菌活性標準)。水萃取液之成分不具抑菌活性。(如表 2-2-4; 圖 2-2-26、圖 2-2-27、圖 2-2-28)

紙錠	抑菌環直徑 (mm)	大腸桿菌	枯草桿菌	金黃葡萄球菌
抗生素 (Kanamycin) 藥錠 1mg	26.5	20.7	23.7	
蓴菜地下根莖萃取液 1mg/200 μ l	8	8	8	
蓴菜葉柄與莖部萃取液 1mg/200 μ l	8	8	8	
蓴菜葉片萃取液 2001mg/200 μ l	8	8	8	

表 2-2-4 水萃取物抑菌試驗結果

4. 蓴菜的地下根莖含有較多之抑菌物質針對丙酮所萃取之蓴菜個別部位以 TLC 分析，可見蓴菜之地下根莖部所含有之成分層次較多，可能含有較多之抑菌成分在其萃取液中。對照地下根莖部萃取液在此次抑菌實驗中，都為抑菌效果較好之反應，能抑制枯草桿菌以及金黃色葡萄球菌，且產生的抑菌環範圍為:9.7~1.0 mm，推測蓴菜地下根莖部是含有較多的抑菌物質。(詳見圖 2-2-25)



圖 2-2-25 丙酮萃取之蓴菜葉片液對金黃葡萄球菌之抑菌現象

5. 蓴菜萃取液抑菌試驗用量換算實際植株體重量蓴菜莖與葉柄部分的丙酮萃取液，相當於蓴菜植株實際使用量 0.78 g。蓴菜葉片部分的丙酮萃取液，使用 200ul 時，相當於蓴菜植株實際之 0.294 g。

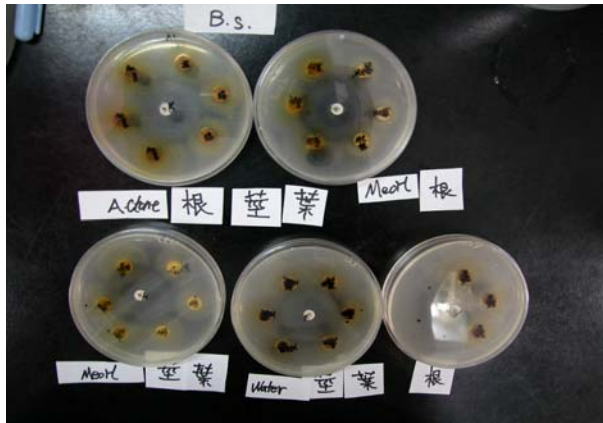


圖 2-2-26 枯草桿菌抑菌試驗

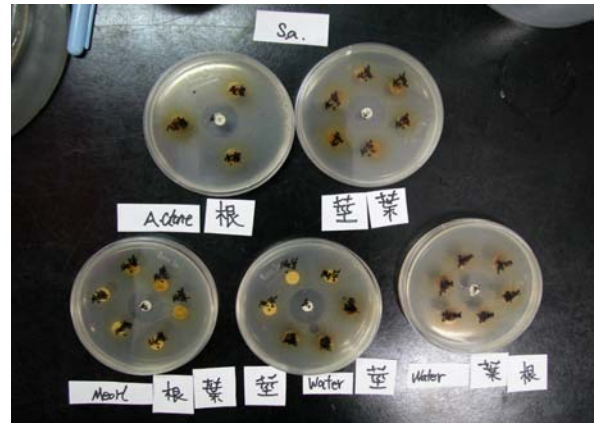


圖 2-2-27 金黃葡萄球菌抑菌試驗

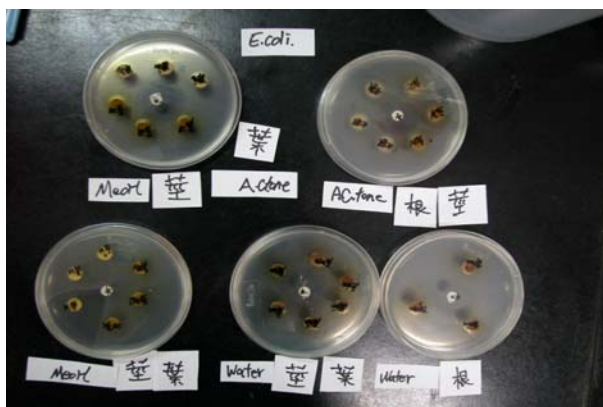


圖 2-2-28 大腸桿菌抑菌試驗

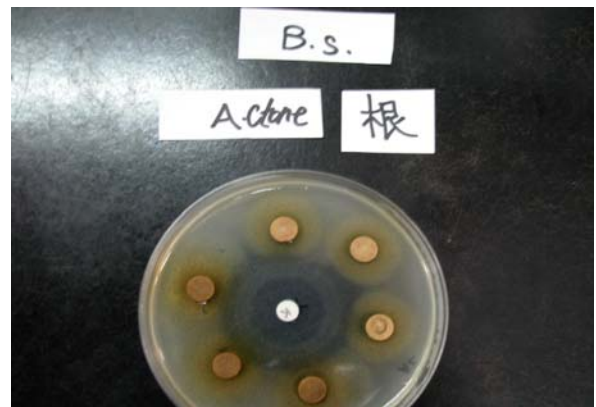


圖 2-2-29 丙酮萃取蕁菜地下根莖對枯草桿菌抑



圖 2-2-30 丙酮萃取之蕁菜地下根莖對枯草桿菌之抑菌現象



圖 2-2-31 丙酮萃取之蕁菜莖與葉柄對金黃葡萄球菌之抑菌現象

三. 蕁菜之各種成分分析及化合物純化分離鑑定研究：

經實驗證實蕁菜對枯草桿菌及金黃葡萄球菌具清度抑菌活性，遂進一步進行成分分析，以驗證其食用之應用價值。並針對蕁菜之葉片部分做成分之分離以尋找其他之成分，並將分離出之成分進一步做抗癌以及酪胺酸酶（Tyrosinase）抗黑色素之美白抑制活性做探討。

（一）實驗材料與儀器：

1. 植物材料：

自宜蘭縣大同鄉崙埤湖，分別採集蕁菜地下根莖部濕重 25 kg，葉片含葉柄 13.5 kg，作為本次實驗材料。

2. 儀器：

- (1) 減壓濃縮機：Waterbath SB-450 (Eyela)
- (2) 冷卻循環機：ACH-8000 (CS)
- (3) 冷凍乾燥機：FD-1, FD-5 (Eyela)
- (4) 純水製造器：Milli-Q (Millipore)
- (5) 超音波震盪器：Ultrasonic Cleaner D2000 (Delta)
- (6) 高效率液相層析儀紫外光-可見光偵測器：UV-VIS Detector L7420 (Hitachi)
- (7) 高效率液相層析儀幫浦：Pump L-7100 (Hitachi)

3. 試藥及溶媒：

- (1) Methanol (GR/ACS 及 LC Grade, Merck)
- (2) Methanol-d₄ (Deuteration, Merck)
- (3) Acetone (GR/ACS, Merck)
- (4) Ethyl acetate (ACS Grade, Merck)
- (5) Ethyl formate (ACS Grade, Merck)
- (6) Formic acid (ACS Grade, Merck)
- (7) Ferric chloride (FeCl₃ · 6H₂O, ACS Grade, Merck)

4. 色層分析法器材：

- (1) ODS (octadecyl silane, Merck)
- (2) Diaion HP20 (100-200 mesh, Mitsubishi Chemical Industries)
- (3) Sephadex LH-20 (18-111 μm , Pharmacia Biotech)
- (4) MCI Gel CHP20P (Supelco)
- (5) Fractogel (Tsk HW-405)
- (6) Sellulose (Merck)
- (7) 玻璃分離管柱
- (8) 薄層色層分析板：25 TLC aluminium sheets 20 X 20 cm silica gel 60 F₂₅₄ (Merck)
- (9) 高效率液相層析儀逆相層析管柱：Biosil 5 ODS-W 4.6 mm I.D. X 250 mm (Biotic Chemical)
- (10) 高效率液相層析儀逆相層析管柱：Biosil 5 ODS-W 10 mm I.D. X 250 mm (Biotic Chemical)
- (11) 高效率液相層析儀逆相層析管柱：Biosil 5 ODS-W 20 mm I.D. X 250 mm (Biotic Chemical)

5. 薄層層析材料：

Kiesel gel 60 F₂₅₄ (0.25mm, E. Merck)
RP-18 W/UV₂₅₄ (0.15mm, Macherey-Nagel)

6. 薄層層析之檢驗法：

紫外光燈：254 nm, 366nm.

呈色：10% v/v Sulfuric acid spray reagent (10% v/v in Disc.water, 噴霧後加熱)
10% v/v Ferric chloride spray reagent (10% v/v in Disc.water, 噴霧後加熱)

(二) 研究方法

1. 實驗流程：

先自蓴菜萃取出萃取液，經極性分配、TLC 薄層分析、管柱層析分離後，將取得之成分以

核磁共振儀進行結構鑑定，以分析蓴菜之主要成分，流程圖如圖 2-3-1 所示

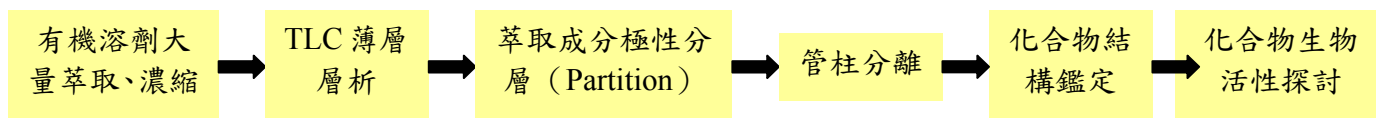


圖 2-3-1 蓴菜各部位成份分離實驗流程

2. 蓴菜萃取：

採集 20 kg 之蓴菜地下部以及 13.5 kg 葉子部位分別進行萃取。先將植株切細，地下部以有機溶媒 70% Acetone (丙酮) 冷浸萃取四次；地上部葉以 100% (MeOH) 甲醇冷浸萃取四次，經由過濾後再減壓濃縮，將所有溶媒以及水抽乾，秤重紀錄其萃取率產量。



圖 2-3-2 有機溶劑大量冷浸萃取

3. TLC 植株組成成分分析：

(1) TLC：

TLC 物質成分分析為探討層析所含物質成分種類之試驗，其原理為利用萃取出，取出少許之量後，利用酒精均勻溶解，之後將 TLC 板裁剪到樣品瓶可容納之大小，再依照順序以毛細管將微量之樣品吸起滴於 TLC 板，並以吹風機吹乾，將各組織 TLC 板放進溶媒之中，並利用溶媒，將樣品分別展開，再以 U.V. 燈觀察展開之情形，並作記號。(詳見圖 2-3-3、圖 2-3-4、圖 2-3-5)



圖 2-3-3 以酒精溶解藥劑



圖 2-3-4 以毛細管將藥劑滴於 TLC 板

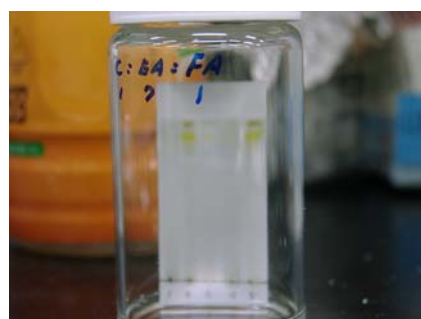


圖 2-3-5 以溶媒展開之情形

(2) TLC 板呈色：

確認展開後接著將 TLC 板以溶液噴霧，並以加熱板 Hot Play 烤乾，並盡快拍照，防止顏色退掉。(詳見圖 2-3-6、圖 2-3-7)



圖 2-3-6 將展開之藥劑浸硫酸



圖 2-3-7 以 Hot Play 調至 70-80°C 烤乾成

(3) 極性分層：

由於葉子部份之成分有些屬高極性，有些極性則較低，因此利用分液漏斗將萃取物進行分配，製備成水層、正丁醇層，再分別濃縮，以達到初步的分離效果。

又因地下部成份利用 TLC 薄層層析檢測，在成分上較多屬於高極性之成分，再加上萃取量較多，所以就直接進行 Diaion HP-20 column (100% H₂O~100% MeOH~70% Acetone) 管注層析劃分出不同的 fraction，並配合活性追蹤。



圖 2-3-8 極性分層實驗

(如圖 2-3-8)

5. 薄層層析(thin layer chromatography) 之展開系統條件找尋：

利用薄層層析配合不同之溶媒並配合溶媒極性的高低，尋找出最適合之展開比例，才得以呈現出混合物中有幾種成分，且針對萹菜植株中，可能有些成分極性高，亦有些成分則極性較低，所以可能要針對各種成分的極性去做調整，並多找幾種展開條件之系統進行分離之實驗。(詳見圖 2-3-9)

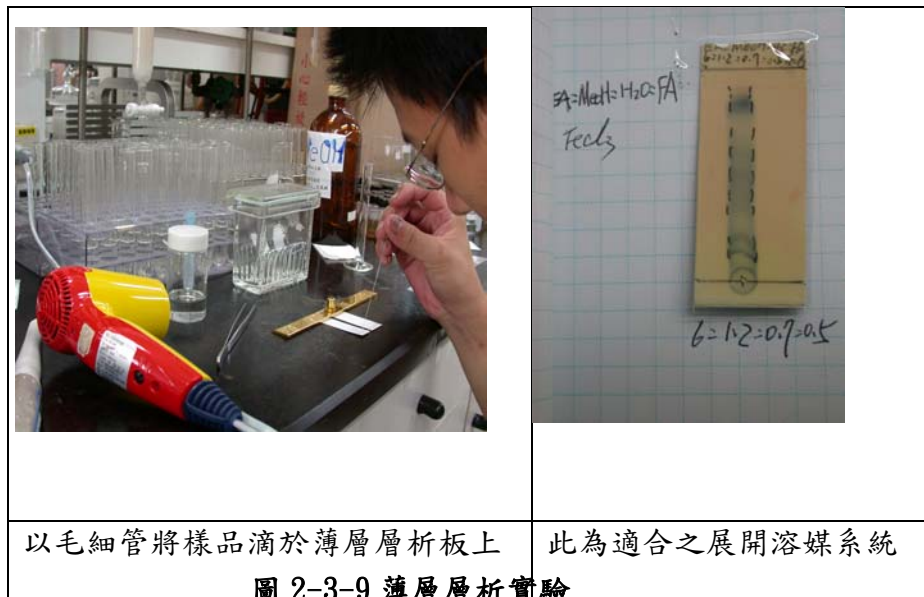


圖 2-3-9 薄層層析實驗

薄層層析之展開溶媒系統：

Ethyl acetate : Methanol : H₂O: Formic acid (6: 1.2 : 0.7:0.5)

Ethyl acetate : Methanol : H₂O: Formic acid (7: 1 : 0.7:0.5)

Ethyl acetate : Methanol : H₂O: Formic acid (7: 1.2 : 0.7:0.7)

Benzene : Ethyl formate : Formic acid (1 : 7: 1)

Chloroform: Ethyl acetate: : Formic acid (1 : 7: 1)

6. 萹菜管柱分離：

(1)管柱分離:

管柱分離為藉由各種不同之固定相介質置於分離管柱中，以各種不同比例、種類之移動相進行沖提以達到分離之效果，並以自動收集器以試管做定量之收集。經薄層色層分析板做成分之監測，並利用 UV 紫外線之 Rf 值大小並將薄層層析板以 10% 硫酸或 10% 氯化鐵呈色確認後，再分割成數分離物進行純化。(詳見圖 2-3-10)

本次實驗使用之固定相介質：

1	ODS	(Merck)
2	Diaion -HP20	100-200 mesh, Mitsubishi Chemical Industries
3	Sephadex LH-20	Pharmacia Biotech
4	MCI Gel	CHP20P
5	Fractogel	Tsk HW-405
6	Sellulose	Merck
7	Silica Gel	Merck

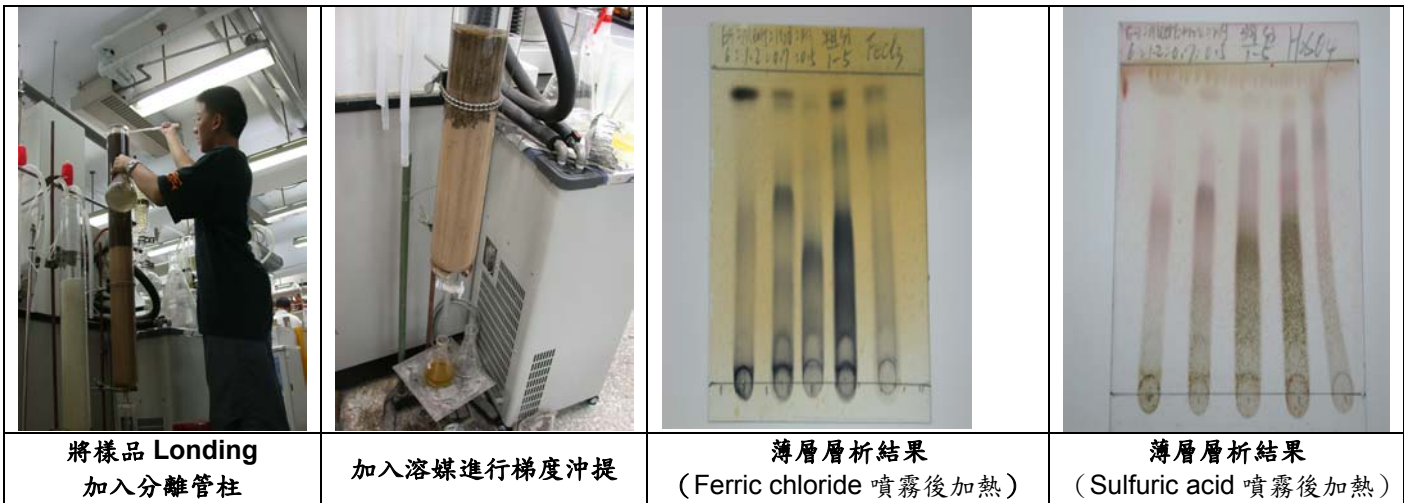


圖 2-3-10 管柱層析實驗流程

(2) 低壓管柱分離：

一般低壓管柱分離之固定相以 ODS、Silica Gel 為主，因為此兩種材質，在進行加壓分離時亦不會引響到分離之效果，且分離之時間快，能將混合物分的較細，所將混合物先以一般管柱分離，到最後有兩三種化合物無法於開放式管柱分離時，使用此種方法做分離實驗。(詳見圖 2-3-11)

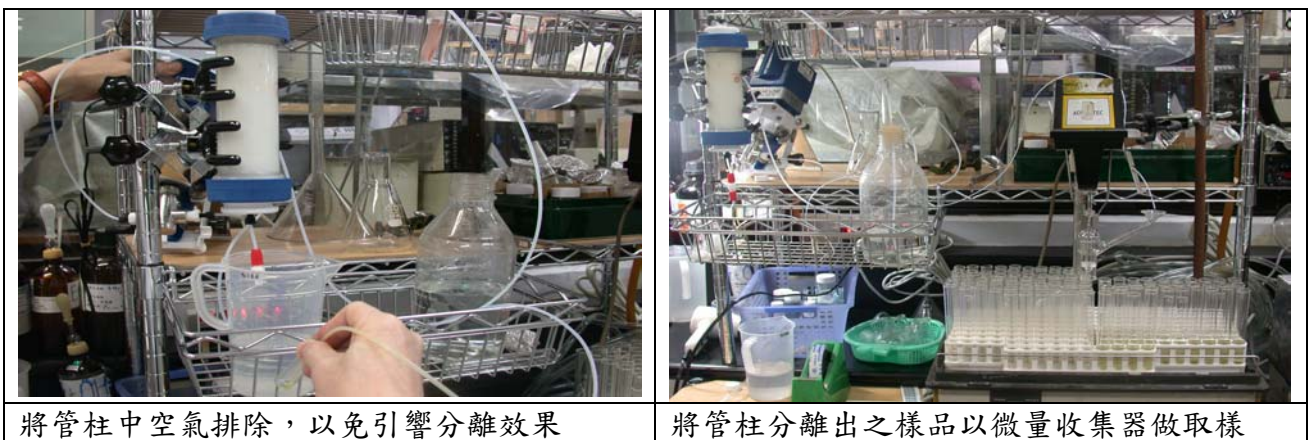
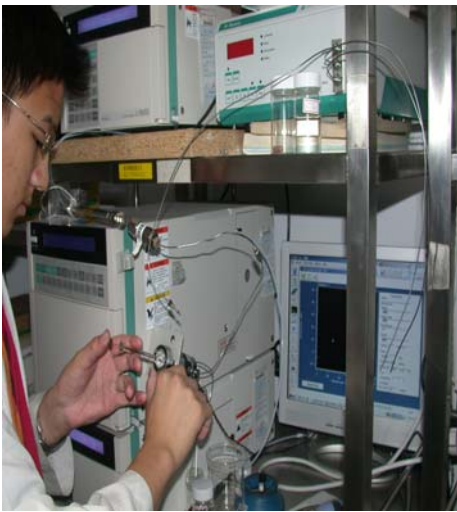


圖 2-3-11 低壓管柱分離實驗

(3) 高效能液相層析 (High performance liquid chromatography) 管柱分離:

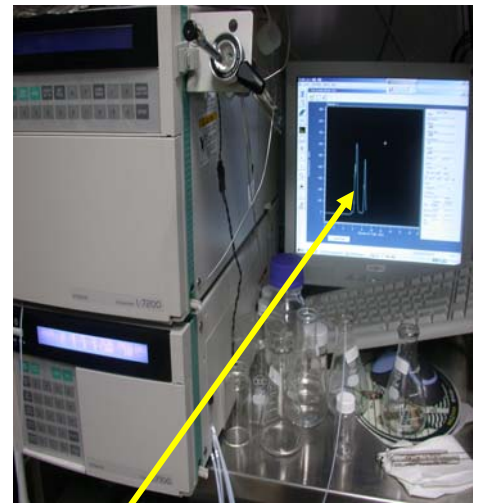
高效能液相分析簡稱 **HPLC**，此分離方式則是在前兩種分離方式皆無法將混合物分離時使用。HPLC 之分離原理大致上也與低壓管柱分離相同，但前兩項之樣品自管柱分離出後皆須以 TLC 做成分之確認後始可以進行成分切割，做分別收集成為單一化合物，HPLC 則是利以 UV 偵測器直接做液相之分離，所以相對的試藥要進行偵測分離前，必須先確認試藥在 UV 偵測下之最佳吸收波長，又因 HPLC 之金屬分離管柱之固定相介質顆粒非常細，所以必須將樣品以 0.45μ 濾膜過濾，去除雜質，以避免管柱壓力過大而影響分離之效果，最後以適當的移動相溶媒條件做分離。萹菜之部分以高極性成分居多所以以甲醇、二次水再加 0.1% 三氯醋酸 **Trichloroacetic Acid** 做調配，將樣品注入 HPLC 後即針對 UV 偵測器所偵測到的波長訊號做收集及濃縮。(詳見圖 2-3-12)



↑ 將樣品 Loading 進入 HPLC 進行分離



↑ 將製備級分離管柱串連於 HPLC 以提高分離效果



↑ UV 偵測之波長訊號

圖 2-3-12 高效能液相層析實驗流程

(三) 研究結果與討論

1. TLC 萹菜地下根莖、葉柄及葉片之組成成分分析：

經由 TLC 之藥劑展開，並且烤乾呈色後，可以很明顯觀察到在三種溶媒之萃取上，丙酮所萃取出之萃取液之成份種類較多，為三組溶液中最多者。而在萹菜組成成分分析當中，莖、葉柄以及葉片之組成成分較為相似，且有重複出現之物質，而地下根莖部在三組藥劑中，所分析出之物質有莖、葉之組成成分中之物質，也有較不一樣的組成與成分。而如果要再將抑菌之物質查出來，則需要進一步實驗。(詳見圖 2-3-13、圖 2-3-14、圖 2-3-15)

TLC 編號	1	2	3	4	5	6	7	8	9
萃取溶媒	甲醇	甲醇	甲醇	丙酮	丙酮	丙酮	水	水	水
萹菜部位	根	莖	葉	根	莖	葉	根	莖	葉

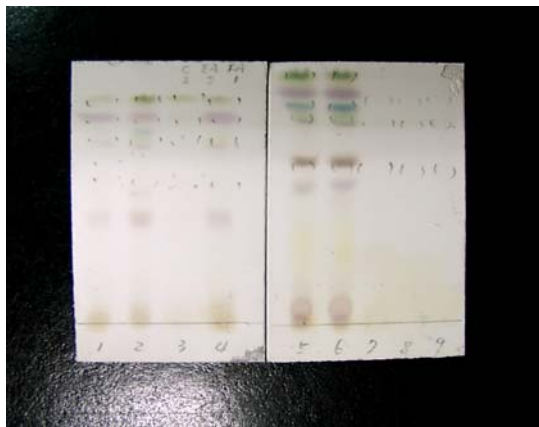


圖 2-3-13 以 1:7:1 之比例展開溶媒之組成成分分析



圖 2-3-14 以 2:7:1 之比例展開溶媒之組成成分分析

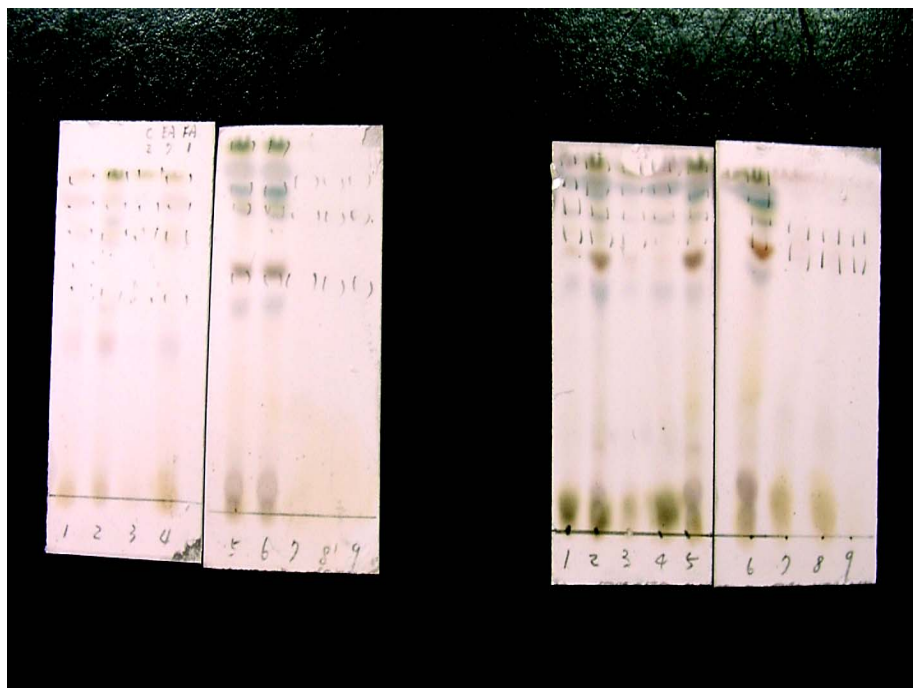


圖 2-3-15 TLC 所有萹菜萃取物之成份分析

2. 蓴菜之地下根莖萃取物抑制金黃葡萄球菌之成分分離：

(1) 蓴菜之地下根莖萃取及成分分離

蓴菜(*Brasenia schreberi Gmel.*)新鮮之地下莖 19 公斤，以刀切碎，浸泡於 60 公升的 70% 丙酮溶液，以紗布、濾紙過濾，重複萃取三次後，合併濾液經減壓濃縮，其 70% 丙酮抽提物以得到水(H₂O)層萃取物。

水層萃取物溶於水，以 Diaion HP20 層析管柱進行分離，利用 100% 水到 100% 甲醇梯度沖提，每 250ml 收集一瓶經過薄層層析片(TLC plate)分析，得到 Fr H₂O 1~Fr H₂O5 五個部分，其中 Fr H4 再經由抑菌活性之檢測後，對金黃葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC6341) 有抑菌之活性，再以 Sephadex LH-20 層析管柱，以 100% 水到 100% 甲醇梯度沖提，並自動收集器進行分離，劃分為 Fr H4-1~Fr H4-7 共七個部分，Fr H2-2 利用 Sephadex LH-20 層析管柱，以 100% 水到 100% 甲醇梯度沖提，劃分為五個部分。另因 Fr H4-6-1-5 與 Fr H4-6-2-5 在 TLC 薄層層析上屬同一種混合物，故混合一起再以 Fractogel TSKHW-40.5 進行分離，分為三個部份，最後以高效能液相層析儀進行分離，(條件為—逆相層析管柱 Biosil 5 ODS-W 10mm I.D. X 250mm，移動相 2%(MeOH in 100% H₂O) 並加入 0.1% 三氟乙酸 Trichloroacetic Acid，流速 3ml/min，偵測器 UV280nm 分離純化)，得到化合物 BS-1 (9mg)。

分離流程圖及化合物名稱如圖 2-3-16、圖 2-3-17 所示。

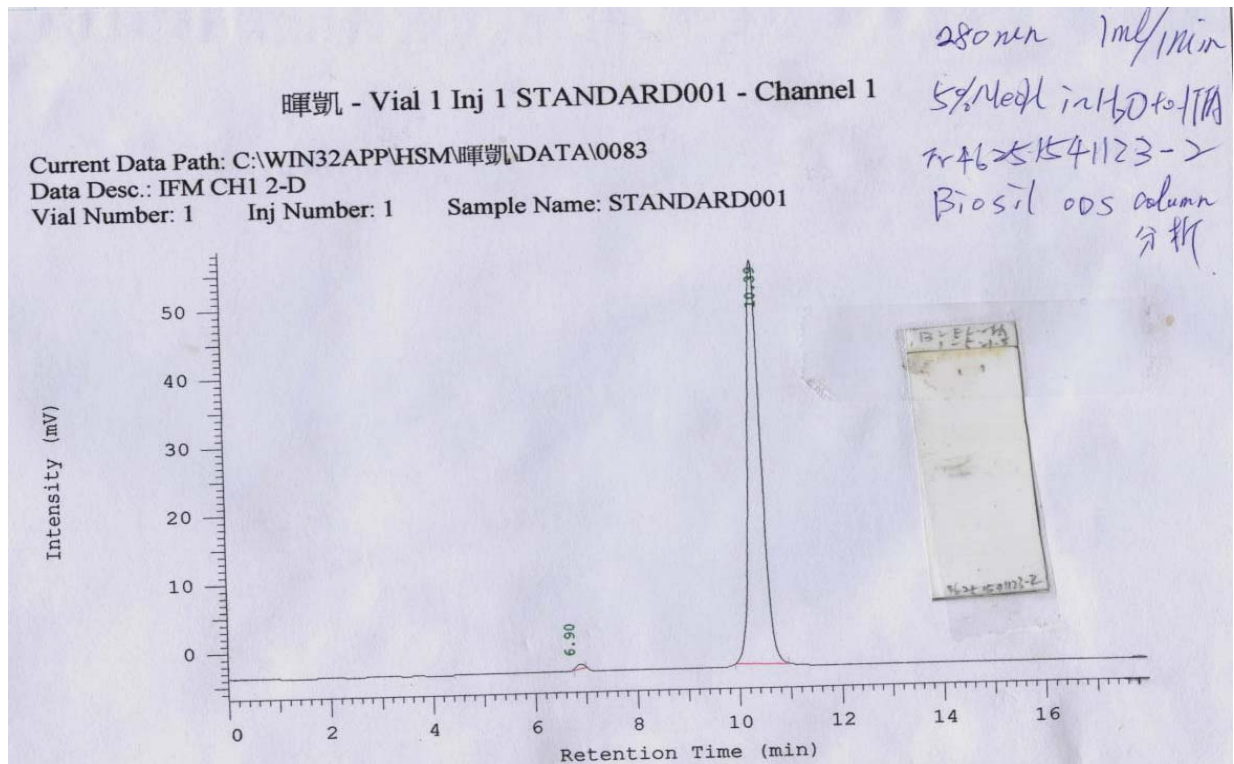


圖 2-3-16 高效能液相層析圖

The fresh Roots of *Brasenia schreberi* Gmel. 蕁菜
(20kg)

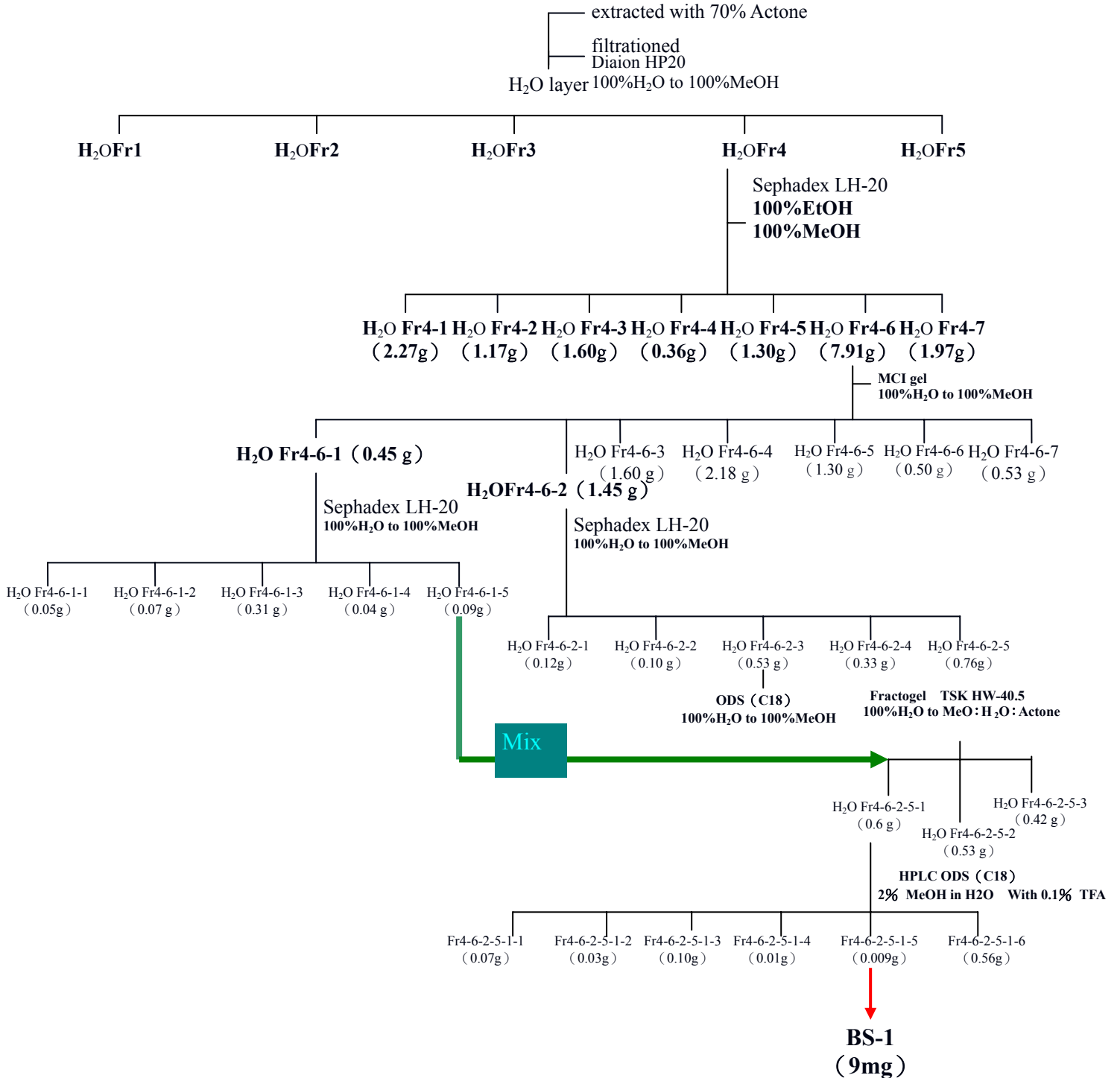


圖 2-3-17 The isolation of the Roots of *Brasenia schreberi* Gmel. 蕁菜

3. 蓴菜之莖與葉片萃取物成分分析

(1) 成分萃取蓴菜(*Brasenia schreberi Gmel.*)新鮮之莖、葉部 13.5 公斤，浸泡於 60 公升的 100% 甲醇溶液，以紗布、濾紙過濾，重複萃取四次後，合併濾液經減壓濃縮，其 100% 甲醇萃取物進行分層，得到(BuOH)層萃取物共 62.85g。

正丁醇層萃取物溶於酒精，以Sephadex LH-20層析管柱進行分離，利用100%酒精，每 250ml收集一瓶經過薄層分析，得到Fr B1~Fr B6六個部分，其中Fr B2、Fr B5、Fr B6皆以 Sephadex LH-20 層析管柱，梯度沖提自動收集器進行收集之方式相同於根部之方式，分別分離出BS-2 (297mg)、BS-3 (26.8mg)、BS-4 (78.8mg)、BS-5 (8mg)、BS-6 (92.4mg)、BS-8 (442.1mg)、BS-10 (48.8mg)、BS-11 (19.5mg) 八種化合物。另外因Fr B-1經由薄層層析確認，屬於較非極性之成分，所以先以Sephadex LH-20層析管柱進行分離，由100% Acetone 沖提至 85%H₂O劃分為Fr B11~Fr B14四個部分，其中Fr11之成分以Silica gel 進行正相之分離並以100% Benzen to 40% EtoH進行沖提，劃分為Fr B11-1~Fr B11-6六個部分，其中B11-3為化合物BS-7 (33.3mg)。而B116一樣以Silica gel 進行正相之分離，但此次沖提之溶媒由100% Benzen to 50% Acetone進行純化，分離得到BS-9 (420.9mg)。經葉部成份分離總共萃取分離出十種化合物，並進行核磁共振以鑑定出化學結構，最後再將純化合物進行抗癌、抗氧化之活性檢測。

分離流程圖及化合物名稱如圖2-3-18、表2-3-1所示。

The fresh Leaves of *Brasenia schreberi* Gmel. 蕹菜
(13.5kg)

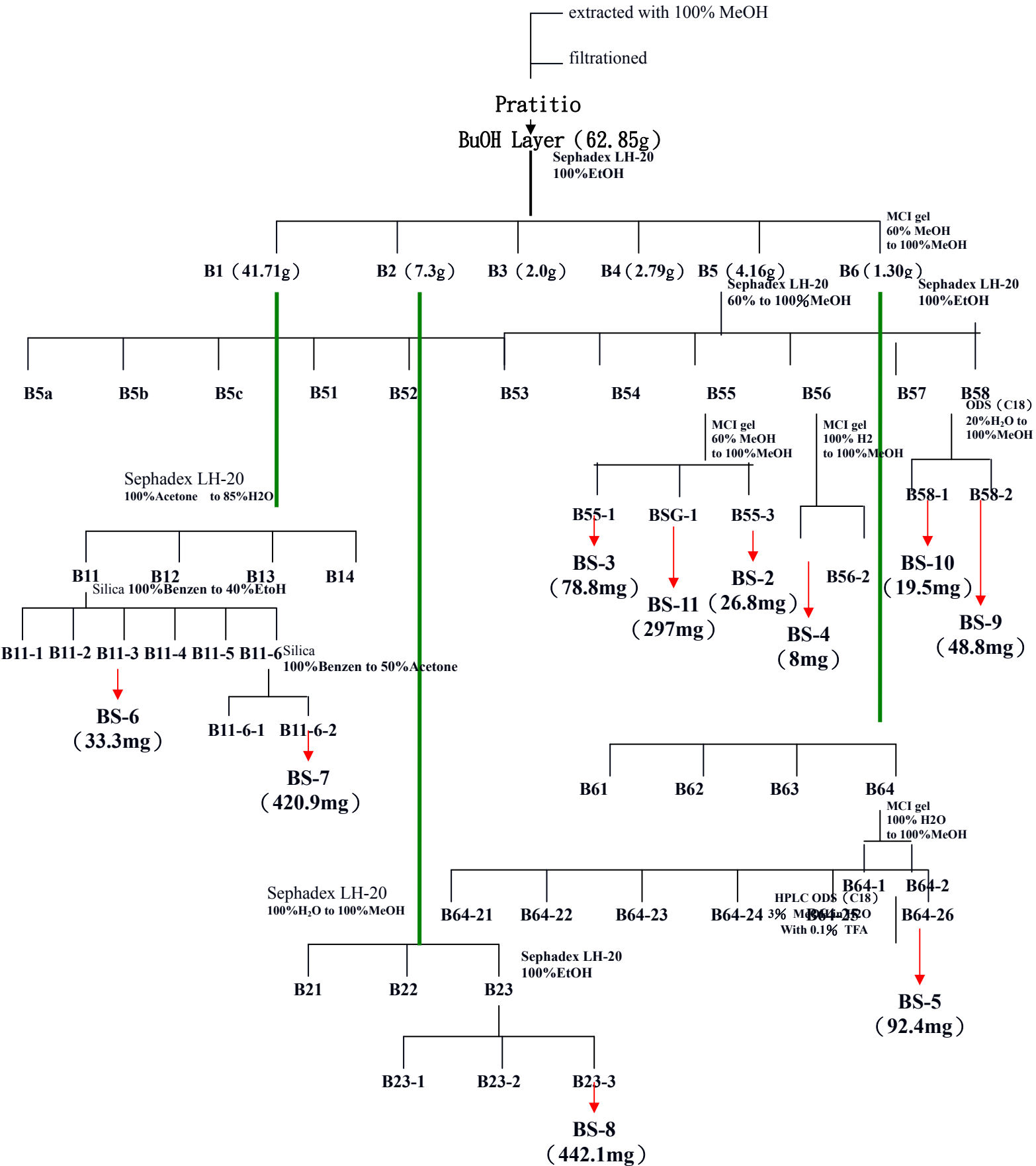


圖 2-3-18 The isolation of the Leafs of *Brasenia schreberi* Gmel. 蕹菜

(2) 成分分離結果

本次由莖部以及葉部純化分離出之化合物共計 10 種，為 BS-2~BS-10，於萹菜之地下根莖部位，經由抑菌活性追蹤分離出化合物 1 種 BS-1，經由 MNR 核磁共振儀之光譜檢測，其結構得知分別為下表化合物清單。如表 2-3-1

Compound	重量	學名
BS-1	9mg	Gallic acid
BS-2	26.8mg	Kaempferol-7-O-Glucosids
BS-3	76.8mg	Quercetin-7-O- Glucosids
BS-4	8mg	5, 8, 4' Trihydroxy-7-O- Glucosids
BS-5	92.4mg	3, 5, 8, 3' 4' - Pentahydroxy flavone
BS-6	33.3mg	VitaminE (d-Tocopherol)
BS-7	420.9mg	Glyceride
BS-8	442.1mg	1-O- (4-hydroxy bengoyl) - β -glucose
BS-9	48.8mg	Cuercetin
BS-10	19.5mg	Kaempferol
BS-11	297mg	Luteolin-8-c- β -glucospyranoside

表 2-3-1 萹菜植株成分化合物清單

(3) 抗癌活性篩選結果：

因實驗過程中抗癌的活性篩選技術需更專門精密之操作，因此委由臺北醫學大學生藥學研究所進行實驗之協助，分離出 11 個化合物中，經由 C6 (Glioma)神經膠腫瘤細胞株做活性篩選，發現 BS-8 在 50 µg/ml 之濃度下對神經膠腫瘤細胞株有 **18.42%**之抑制效果。如表 2-3-3

NO.	OD value	Survival
Control	1.90	100.00 %
BS-1	0.78	41.05%
BS-2	1.02	53.68%
BS-3	1.63	85.79%
BS-4	1.46	76.84%
BS-5	1.25	65.79%
BS-6	2.34	123.16%
BS-7	1.89	99.47%
BS-8	0.35	18.42%
BS-9	0.88	46.32%
BS-10	1.83	96.32%
BS-11	1.12	58.95%

表 2-3-3 Cell line: C6 (Glioma)Test concentration: 50 g/ml

(4) 酪胺酸酶 (Tyrosinase) 抗黑色素之美白抑制活性測定結果：

於 96 格微量盤(96-well microtiter plate)下進行試驗，反應液中含 0.4M HEPES 緩衝溶液(pH 6.8) 140 µL、400 u/ml 酪胺酸酶 20µL，與測試樣品 100µL，並以不含酪胺酸酶為空白對照組，混合均勻靜置 10 分鐘，在 450nm 波長下測第一次吸光值，之後加入 2.5mM 左旋酪胺酸(L-tyrosine) 20µL，混合均勻後靜置 20 分鐘，在 450nm 波長下測第二次吸光值，檢測結果，共計有 BS-2、BS-3、BS-5、BS-10、BS-115 種成分具有良好的抗黑色素美白效果。兩次吸光值的差異計算：如表 2-3-4

06/13/2005	Inh(%)
BS-2	93.08±13.68
BS-3	72.56±5.45
BS-5	70.3±1.75
BS-6	2.96±9.59
BS-9	244.72±69.86
BS-10	93.97±0.82
BS-11	62.02±3.34

表 2-3-4 Tyrosinase 抗黑色素之美白抑制活性測定結果

參、結論

- 一. 蓴菜之化學成分中，總共分離純化出 11 個化合物，其中葉片部份，經由抗癌活性篩選，得知 BS-8 (*Phenolic A*) **442.1mg**，對細胞株 C6 (Glioma) 大白鼠之腦部神經膠腫瘤細胞株做活性篩選，在 50 μ g/ml 之濃度下對神經膠腫瘤細胞株有 **18.42%** 之抑制效果；另外在地下根莖成分經抗菌活性追蹤分離出一個成分，*Gallic acid* 對金黃葡萄球菌有輕度之抑制效果；葉片分離出之化合物中以酪胺酸酶 (Tyrosinase) 抗黑色素之美白抑制活性篩選，檢測結果，共計有 BS-2 (*Kaempferol-7-O-Glucosids*)、BS-3 (*Quercetin-7-O-Glucosids*)、BS-5 (*3,5,8,3'4'-Pentahydroxy flavone*)、BS-10 (*Kaempferol*)、BS-11 (*Phenolic B*) 5 種成分具有良好的抗黑色素美白效果。
- 二. 經由季節性之湖泊調查得知，蓴菜適合生長於水溫在 22~25 $^{\circ}$ C 之間，水深 50 cm 到 160 cm 處，偏酸性之水質中，其他並無太嚴苛之栽培條件，應可推廣做大量之栽培以做為物種之復育，以及中草藥開發或健康食品之研發。
- 三. 經由四年對蓴菜之研究，其實蓴菜原屬於野生植物，再經由研究調查後發現，其實小小一植物也許大家不覺得它的重要性，往往以利益做為優先考慮，但沒想到其成分與我們人類面臨最害怕的疾病癌症時蓴菜卻有抑癌之作用，以及抗菌、甚至連人們愛美的天性，美白效果都有很好的結果我認為這些天然資源都與我們人類息息相關的，以此份研究成果對蓴菜初步的研究希望後續還有機會能做更深入之後續研究。

肆、參考文獻

1. Kunii, Hidenobu (1999). Annual and seasonal variations in net production, biomass and life span of floating leaves in *Brasenia schreberi* J.F.Gmel. Japanese Journal of Limnology, 60 (3), 81-289.
2. Elakovich & SD;Wooten JW (1987). An examination of the phytotoxicity of the water shield, *Brasenia schreberi*. Journal of Chemical Ecology, 13 (9), 1935-1940.
3. Schneider&EL;Carlquist,S. (1996). Vessels in *Brasenia* (Cabombaceae): New perspective on vessel origin in primary perspectives on vessel origin in primary xylem of angiosperms, American Journal of Botany, 83 (9), 1236-1240.
4. Bierhorst, D. W., and P.M ZAMORA. 1965 Primary xylem elements and element associations of angiosperms. American Journal of Botany 52;657-710
5. Carlquist, S. 1992. Pit membrane remnants in perforation plates of primitive dicotyledons and

- their significance. American Journal of Botany 79; 660-672
6. SCHNEIDER, E. L. AND S. CARLQUIST. 1995a. Vessels in the roots of *Barclaya otundifolia* {Nymphaeaceae}. American Journal of Botany 82; 1343~1349
 7. KAKUTA, M. and SMITH A.F. 1962. Structure of the polysaccharide of the Japanese Water plant, *Brasenia schreberi*. J. Agric. food Chem. 10:104~108
 8. SCHRENK, J. 1888. On the histology of the vegetative organs of *Brasenia schreberi*. Pursh. Bull. Torrey Bot. Club 15; 29~47
 9. KAKUTA, M., and, MISAKI, A., 1979b. Polysaccharid of junsai { *Brasenia schreberi*. } mucilage; fragmentation analysis of successive Smith degradations and partial acid hydrolysis. Agric. Biol Chem. 43; 1269~1276
 10. Graham, S. A. (1955) An ecological classification of vegetation types, Mich. For. No. 11, 11. 黃文哲；黃明利；賴滋漢（民 92）應用微生物。臺北：富林出版社。
 12. 蔡文城（民 85）實用臨床微生物診斷學。臺北：瑞明彩色印刷有限公司。
 13. 楊遠波；劉和義；呂勝由（民 86）台灣維管束植物簡誌。臺北：行政院農委會。
 14. 林春吉（民 91）台灣水生植物 1。臺北：田野影像出版社。
 15. 林春吉（民 91）台灣水生植物 2。臺北：田野影像出版社。
 16. 林春吉（民 92）台灣水生植物 1 溼地生態導覽。臺北：田野影像出版社。
 17. 林春吉（民 92）台灣水生植物 2 溼地生態導覽。臺北：田野影像出版社。
 18. 林良平（民 91）微生物顯微鏡學。臺北：藝軒圖書出版社。
 19. 楊恭毅（民 69）楊氏園藝植物大名典。臺北：中國花卉雜誌社。
 20. 林文集（民 91）台灣生態之美。臺北：台灣。
 21. 祝金明；呂家龍；李敏（民 82）。中國特產的蓴菜。台灣之種苗，11，32-37
 22. 謝寶全；黃俊智；林錚威（民 89）。屏東科技大學報。洋蔥水萃取物及額外添加化學物質對抑菌活性之探討，9，173-185
 23. 謝寶全（民 89）台灣農業化學與食品科學。肉桂萃取液之抑菌作用。，38，184-193
 24. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局
 25. 宜蘭社區大學蘭陽湖泊生態研習社（<http://myweb.hinet.net/home2/lake02/>）
 26. 水生植物烏托邦（<http://www.taconet.com.tw/ihungliu/index.htm>）
 27. 中國大陸武漢晚報 <http://www.npcnews.org>
 28. <http://www.scwjie.com/slff699.htm>.
 29. 楊遠波；劉和義；呂勝由（民 86）台灣維管束植物簡誌。臺北：行政院農委會。

- 30.台灣植物誌第二版編輯委員會(1992)，台灣植物誌(Flora of Taiwan)，第二冊臺北：台灣植物誌第二版編輯委員會。
- 31.大津高、曾晴賢、呂勝由、張萬福（1989）臺灣北部高山湖泊—鴛鴦湖湖沼生物學之調查，臺灣省立博物館年刊 32：17-33。
- 32.林春吉（2002）台灣水生植物（2）溼地生態導覽，臺北：田野影像出版社。
- 33.林則桐(1987)桃園沼澤地植物生態調查，76 年生態研究第 018 號，行政院農業委員會編印。
- 34.吳首賢（2003）南仁湖水生植群生態之研究，屏東科技大學森林系。
- 35.徐寶琛（1991）酸化夢幻湖與未酸化南仁湖湖濱草相之比較，中國文化大學。
- 36.陳世輝（1992）蘭陽水生植物圖譜，花蓮師範學院。
- 37.陳建志（1998）松蘿湖集水區植群之研究，國立中興大學植物學研究所碩士論文。
- 38.黃忠村（2003）應用微生物。臺北：復文書局。
- 39.黃惠曼（2003）五倍子對 Methicillin 與 Penicillin 抗藥性金黃葡萄球菌與表皮金黃葡萄球菌之抗菌活性研究，
- 40.楊遠波、顏聖紘、林仲剛、黃世富、郭紀凡、梁慧舟（2001）台灣水生植物圖誌，行政院農委會。
- 41.劉崇瑞、蘇鴻傑（1983）森林植物生態學，臺北：臺灣商務印書館。
- 42.蘇鴻傑（2005）台灣森林之棲地多樣系統，森林與溼地生態研討會論文集。
- 43.陳擎霞（1987）桃園池沼地區水生植物生態研究（二），76 年生態研究第 020 號，行政院農業委員會編印。
- 44.陳擎霞（1986）桃園池沼地區水生植物生態研究（一），76 年生態研究第 009 號，行政院農業委員會編印。

伍、附表

崙埤湖之水域及陸域植物名錄：

水域

(1) 南方狸藻

學名：*Utricularia australis* R. Br.

科名：Lentibulariaceae 千屈菜科

形態：多年生草本，分枝多，無根。葉絲狀分裂，捕蟲囊生於葉上。花黃色，唇形，具花梗，約 1 至 3 公分，花萼 2 深裂；雄蕊 2 枚。蒴果圓形，種子長橢圓形。

(2) 春蓼

學名：*Polygonum perricaria* L.

科名：Polygonaceae 蓼科

形態：一年生草本，高 25 至 70 公分，莖光滑，直立。葉互生，披針形或橢圓形，長 3 至 8 公分，寬 2 至 4 公分。穗狀花序頂生或腋生，花粉紅或白色；雄蕊 6 枚；雌蕊柱頭 2 或 3 裂。瘦果黑褐色，三角狀，有稜，長 2.5 公釐。

(3) 八字蓼

學名：*Polygonum pubescens* Blume

科名：Polygonaceae 蓼科

形態：一年生草本，高約 50 至 130 公分，莖光滑，直立。葉互生，卵狀披針形，長 2 至 9 公分，寬 1 至 3 公分。花 1 或 2 朵一束，穗狀花序，頂生或腋生，花序細長下垂；花粉紅或白色；雄蕊 6 或 7 枚；雌蕊柱頭 3 裂，瘦果黑褐色，三角狀，有稜，長 2.5 公釐。

(4) 戟葉蓼

學名：*Polygonum thunbergii* Sieb. & Zucc.

科名：Polygonaceae 蓼科

形態：多年生草本，高 30 至 80 公分，莖側面有深溝，稜處密生倒鉤刺。葉互生，盾形或戟形，長 3 至 8 公分，寬 2 至 5.5 公分。頭狀花序頂生或腋生，苞片披針形，綠色；花白色或先端紫紅；雄蕊 5 枚；雌蕊柱頭 3 裂。瘦果呈三角狀卵形，綠色，長 4 公釐。

(5) 箭葉蓼

學名：*Polygonum sagittatum* L.

科名：Polygonaceae 蓼科

形態：一年生草本，高 15 至 70 公分，莖四稜，稜處疏生倒鉤刺。葉互生，線形或披針形，長 3 至 6 公分，寬 1 至 1.5 公分。頭狀花序頂生或腋生，苞片披針形，綠色；花白色或先端紫紅；雄蕊 5 至 7 枚；雌蕊柱頭 3 裂。瘦果呈三角狀卵形。

(6) 卵葉水丁香

學名：*Ludwigia ovalis* Miq.

科名：Onagraceae 柳葉菜科

形態：多年生草本，高約 10 至 30 公分。莖方形，多分枝，直立或匍匐狀。葉互生，卵形，長 1 至 3 公分，寬 1

至 1.5 公分，沉水葉紅色或黃綠色。花腋生，萼片 4 枚；雄蕊 4 枚；雌蕊柱頭 2 裂。蒴果橢圓形，黃綠色。

(7) 心葉母草

學名: *Lindernia anagallis* (Burm. f.) Pennell

科名: Scrophulariaceae 玄參科

形態: 一年生草本，高約 10 至 30 公分。莖方形，多分枝，直立或匍匐狀。生，卵形或心形，長 1 至 3 公分，寬 1 至 1.5 公分。花腋生，花梗長 2 至 3 公分；萼片 5 枚，基部合生；花冠淡紫色，5 裂；雄蕊 4 枚，2 長 2 短；雌蕊柱頭菱形，白色。蒴果長橢圓形，黃綠色，種子橢圓形。

(8) 半邊蓮

學名: *Lobelia chinensis* Lour.

科名: Campanulaceae 桔梗科

形態: 多年生草本，高 10 至 20 公分。莖光滑細長，半直立或匍匐狀，節處生根。葉互生，披針形或長橢圓形，長 1 至 2 公分，微齒緣。花單出，腋生，花梗長 2 公分；萼片狹三角形，5 裂；花冠不整齊，裂片 5 枚，上唇 2 枚，下唇 3 枚，白帶紫暈；5 枚雄蕊與雌蕊合生成圓筒花柱。蒴果圓錐形。

(9) 圓葉山梗菜

學名: *Lobelia zeylanica* L.

科名: Campanulaceae 桔梗科

類型: 濕生植物

形態: 多年生草本，莖匍匐。葉互生，卵形，長 1 至 2 公分。花腋生，花淡紫色；雄蕊 5 枚，花藥黑色；雌蕊柱頭 3 裂，白色。

(10) 連萼穀精草

學名: *Eriocaulon buergerianum* Koern.

科名: Eriocaulaceae 穀精草科

形態: 一年生草本，高 10 至 25 公分。葉叢生，線形，長 5 至 15 公分，葉身具有橫隔。頭狀花序頂生，具長花梗，花白色；雄蕊 6 枚；雌蕊柱頭 3 裂。種子橢圓形。

(11) 水竹葉

學名: *Murdannia keisak* (Hassk.) Hand.-Mazz.

科名: Commelinaceae 鴨趾草科

形態: 多年生匍匐草本，節處生根。葉披針形，長 3 至 5 公分，寬約 0.8 公分。花頂生或腋生，有柄，花瓣 3 枚，橢圓形，粉紅色；雄蕊 6 枚；雌蕊柱頭白色。蒴果卵形。

(12) 鴨舌草

學名: *Monochoria vaginalis* (Burm. f.) Presl

科名: Pontederiaceae 雨久花科

形態: 一年生草本，高 10 至 40 公分，莖直立或斜向生長。葉根生或莖生，心形，表深綠色。總狀花序腋生；花 3 至 6 朵，淺藍紫色；雄蕊 6 枚；雌蕊柱頭白色。蒴果卵形，種子長約 1 公釐。

(13) 東亞黑三稜

學名: *Sparganium fallax* Graebner

科名: Sparganiaceae 黑三稜科

形態: 多年生草本，高可達 1 公尺，具地下根莖。葉線形，長 35 至 70 公分，寬公分。總狀花序頂生，花白色。果卵圓形，徑約 1 公分。

(14) 燈心草

學名: *Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buchen.

科名: Juncaceae 燈心草科

形態: 多年生草本，稈叢生，直立，高 40 至 70 公分，地下莖有退化成鱗片狀的紅褐色葉鞘。聚繖花序假側生，花被 6 枚，披針形；雄蕊 3 枚；雌蕊柱頭 3 裂。蒴果卵形，長 2.2 公釐，黃褐色，種子黃色，先端紫黑色，長約 0.5 公釐。

(15) 錢蒲

學名: *Juncus prismatocarpus* R.Br.

科名: Juncaceae 燈心草科

形態: 一年生草本，莖斜向生長，叢生，高 15 至 35 公分。葉線形，扁平狀，長 8 至 12 公分。聚繖花序頂生，花被片 6 枚；雄蕊 3 枚；雌蕊柱頭 3 裂。蒴果卵形，種子黃色。

(16) 七星斑囊果薹

學名: *Carex phacota* Sprengel

科名: Cyperaceae 莎草科

形態: 多年生叢生草本，莖稈高 50 至 80 公分。葉線形，長 30 至 90 公分，寬 6 至 10 公釐。花序頂生，3 至 4 穗，線形。瘦果卵形，黑色，長 2 公釐。

(17) 水毛花

學名: *Schoenoplectus mucronatus* (L.) Palla subsp. *robustus* (Miq.) T. Koyama

科名: Cyperaceae 莎草科

形態: 多年生草本，莖稈三角形，株高 50 至 150 公分，具匍匐地下根莖。葉退化，僅存莖稈基部有數枚葉鞘。花序假側生，小穗 3 至 12 枚，圓錐狀，簇生一起；雄蕊花藥黃色。瘦果倒卵形，黑色，長 2 公釐。

(18) 蓴菜

學名: *Brasenia schreberi* Gmel.

科名: Cabombaceae 蓴科

形態: 多年生草本，具地下根莖。嫩芽外被一層透明黏液。葉橢圓形，長 5 至 10 公分，葉全緣，上表面為綠色，背面為淡紫色，具長柄。花腋生，萼片 3 枚；花瓣紫紅色，3 枚；雄蕊多枚，花藥紫紅色。

(19) 野菱

學名: *Trapa bispinosa* Roxb. Var. *iinumai* Nakano

科名: Trapaceae 菱科

形態: 一年生草本。葉菱形，長 3 至 4 公分，葉緣為不規則齒狀，葉柄膨大成氣囊狀。花粉紅色，花瓣 4 枚。果具 4 角，上方 2 角銳利。

(20) 眼子菜

學名: *Potamogeton octandrus* Poir.

科名: Potamogetonaceae 眼子菜科

形態：多年生草本，具地下莖。浮水葉卵形或卵狀橢圓形，長 2.5 至 3.5 公分，寬 5 至 8 公釐，沉水葉線形，互生。穗狀花序頂生或腋生；雄蕊 4 枚。果倒卵形，徑 0.3 公分。

陸域

(1) 山龍眼

學名：*Helicia formosana* Hemsl.

科名：Proteaceae 山龍眼科

形態：小喬木，葉倒卵形，長可達 15-25 公分，花腋生有小苞，花序為長管狀的總狀花序，花為黃白色，果實具凸起的縫線，為堅果球形不開裂。

(2) 紅楠

學名：*Machilus thunbergii* Sieb. & Zucc.

科名：Lauraceae 樟科

形態：常綠大喬木，高可達 20 米以上。葉倒卵形或披針狀長橢圓形，表面光滑，新抽出的嫩葉呈紅色，是其名稱由來，又因狀似紅燒豬腳，而有「豬腳楠」的別稱。花很小，有 6 片花被。核果球形，成熟時黑紫色。

(3) 華八仙

學名：*Hydrangea chinensis* Maxim.

科名：Saxifragaceae 虎耳草科

形態：華八仙有披針形、長橢圓形葉形；正面深綠、濃綠，背面綠色帶粉白，其葉序型態為對生；葉脈是弧形羽狀脈，邊緣有疏銳鋸齒，其花的特色為小型離瓣花，呈廣卵圓或矩圓形、鑷合狀排列、宿存花柱呈稜角形、雌雄同株。

(4) 琉球雞屎樹

學名：*Lasianthus fordii* Hance

科名：Rubiaceae 茜草科

形態：葉長橢圓形至狹橢圓形，或卵形至披針形，長 6-16 cm，表面無毛，背面脈上被毛，葉基通常楔形，側脈 4-9 對，平行、分叉或網狀；葉柄長 5-12 mm。花無苞片；萼片約長 2 mm；花冠白色或淺粉紅色，外面被毛，內面上半部被毛。

(5) 赤車使者

學名：*Pellionia radicans* (Sieb. & Zucc.) Wedd.

科名：Urtiaceae 蕁麻科

形態：草本。莖大多數多汁，稀在基部木質化。葉互生；鐘乳體線形；退化葉存或不存；托葉 2 枚。花序大多數為圓錐狀或聚繖狀排列的團繖花序。

(6) 冷清草

學名：*Elatostema lineolatum* Wight var. *majus* Wedd.

科名：Urtiaceae 蕁麻科

形態：亞灌木。莖圓柱形，披粗毛。葉無柄或近於無柄，紙質，上表面被密毛，下表面沿脈被貼伏毛，窄橢圓形、長橢圓形至披針形，銳鋸齒緣，先端漸尖；托葉脫落性。花序無柄或近於無柄。瘦果具 8 稜。

陸、附圖

萹菜分離化合物 MNR 光譜圖：

評語

工作的深度和廣度，非常傑出，對研究的投入熱忱也令人欽佩，可以加強的地方是如何讓展出重點浮現而不失焦。