

不同栽培方式對薏苡根系代謝物 化學指紋圖譜之影響¹

陳裕星^{2*}、張金元³、吳浩銘³

摘 要

薏苡為具有豐富營養價值與機能性成分作物，薏苡根也是傳統藥材，具有豐富的機能性成分，包括6-methoxy-benzoxazolinone (6-MBOA)及酚酸類化合物等，具有清熱，利濕，健脾等功效。本研究探討水耕、霧耕以及土耕方式對薏苡根系生長與代謝物含量之變化，研究中以超音波輔助甲醇萃取方式，建立薏苡根系於260、280、330、360 nm波長下之HPLC化學指紋圖譜，作為整體成分特徵與含量比較之依據，另以280 nm分別分析不同處理之薏苡根系，比較特殊代謝機能性成分的差異。結果顯示薏苡水耕和霧耕根系重量差異不顯著，代謝物組成以極性中等酚酸類成分為主，水耕根系中含有最高含量的6-MBOA，其次則為霧耕，其他成分在不同耕作方法中並無明顯的趨勢。

關鍵字：薏苡根、化學指紋圖譜、水耕、霧耕

前 言

薏苡是臺灣中部地區重要之雜糧作物，具有豐富的機能性成分，除了籽實之外，薏苡根也被應用在傳統中醫與現代生物醫學研究，薏苡根含有豐富的機能性成分，包括蛋白質、澱粉、薏苡多醣、酚類化合物、植物固醇^(1,2,3,4)及其他特殊代謝物如6-methoxybenzoxazolinone (6-MBOA，或稱薏苡素 coixol)、Benzoxazines、Benzoxazoles、2-hydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3-one、2-O-glucosyl-7-methoxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-one等物質⁽²⁾。

在這些物質之中，6-MBOA是廣為研究的重要機能性成份之一^(6,8,10)。在薏苡和近緣的玉米等禾本科作物中，6-MBOA和相同類型的化合物家族具有植化相剋作用(alleopathy)，可抑制鄰近其他植物根系的生長、同時具有抗蟲與抗菌作用⁽⁹⁾。由於6-MBOA的結構和褪黑激素(melatonin)接近⁽⁸⁾，對哺乳動物具有促進褪黑激素合成的效果^(8,9,10)，可以作用在腎上腺素的 α 及 β 受體，對雄鼠可增加睪丸重量⁽¹⁷⁾，對雌鼠可以增加濾泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)的合成速率及促進卵巢的生長，增加卵巢的重量，對動物有助孕作用等^(6,11,15)。6-MBOA同時可作用在中樞神經上，效果與肌肉鬆弛劑Chlorzoxazone (氯若沙宗)的效果相當⁽¹⁸⁾，有抗

¹ 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0858 號。

² 行政院農業委員會臺中區農業改良場副研究員。*通訊作者。

³ 行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員、研究助理。

憂鬱效果，在止痛功效上則為標準用藥效果的1.5倍以上，其他成分如薏苡多醣則具有調節血糖作用⁽²⁰⁾。

近年的研究也發現薏苡麩皮中的薏苡內醯胺、螺環煙內醯胺等化合物群，具有抑制Con A誘導肥胖細胞試放組織胺酸的活性，對A549、HT-29及COLO 205等大腸癌與肺癌細胞系統所進行之生長抑制測試證明均有抑制癌細胞增生效果^(7,15,16)。由於薏苡根中也含有包括6-MBOA及薏苡內醯胺等成分，成為種子之外潛在可提供上述機能性成分的重要器官。

本試驗目的為分析本場所育成之薏苡臺中3號，在土耕(soil culture)、水耕(hydroponic culture)及霧耕(mist culture)條件下，比較其萃取成分指紋圖譜，探討根系重量是否有所差異，以及未來是否有潛力收穫根系作為特殊代謝物的來源。

材料與方法

一、植物材料

薏苡材料為本場之臺中3號(*Coix lacryma-job*, Taichung No. 3)，於2013年7月播種於3吋盆中，發芽後分別移植到本場農機研究室所建置之水耕與霧耕系統，土耕則轉栽植於5吋盆中，各個栽培處理之薏苡均種植在本場溫室，日夜溫介於25~35℃，栽培一個月後，將所有處理薏苡之根以40℃烘乾磨粉至70 mesh存放於-20℃備用。

二、萃取

薏苡根合併5株為一樣品，樣品烘乾前後紀錄重量，以及分析產量及含水率，3重複，將樣品磨粉後秤取1 g以20 mL甲醇於45℃下超音波震盪萃取1小時，復於室溫下震盪萃取16小時後過濾萃取液備用，萃取液過濾後保存在樣品瓶中置於4℃冰箱待測。

三、HPLC分析與標準品

薏苡根樣品先依經驗作適度的稀釋於HPLC測試，分別以UV 260、280、330、360 nm波長下進行分析，視所偵測之吸光值決定稀釋倍數以及掃描之波長，最後以原萃取液稀釋20倍進行分析，三重複之樣品，每個樣品均注射2針取其平均計算濃度，分析方法如下：

1. 使用儀器Hitachi L-7100 pump equipped with L-7400 UV detector。分離管柱Mightysil RP-18 GP250-4.6 (5 μm) (Kanto Chemical Co.)。
2. 前置管柱ICsep ICE-GC-801 Guard kit (Transgenomic Co.)。
3. 管柱溫度(Column thermostat): 35℃。
4. 流速：1.0 mL/min。
5. 沖提程式如下：流動相為 A: 0.1% H₃PO₄; B: methanol。

Time (min)	A (百分比)	B (百分比)
0	100	0
10	70	30
40	30	70
50	0	100

四、對照標準品

薏苡內醯胺化合物標準品6-MBOA (6-Methoxy-2-benzoxazolinone)、香草醛、咖啡酸及沒食子酸、p-hydroxy benzoic acid等代謝物，均購自Sigma Co.，所有對照標準品均以70%甲醇溶解，並製作標準曲線待測，以高效液相層析儀依上述條件分析。

五、系統再現性的測試

將標準品與薏苡樣品分別連續注射4次，以吸收峰面積與滯留時間，計算其相對標準偏差(Relative Standard Deviation, RSD)，用以判斷系統的穩定性與適用性。

六、雷達圖之建立

將不同栽培方式所得之薏苡根樣品，以HPLC檢測分析所得的吸收峰圖譜標記並且編號，計算各個樣品吸收峰相對面積比值和其平均值，並求其S.D.值與相對應的化合物編號。以HPLC各吸收峰編號為外圍圓圈之座標，相對應於各吸收峰編號之相對面積比值作為該座標的數值，製作成藥材化學指紋雷達圖譜，可以了解各個樣品所含成分的多寡與類型，了解栽培方式對於藥材成分的影響性。

結果與討論

一、標準品之HPLC分析與系統再現性

薏苡根系中含有的酚類化合物包括沒食子酸、對羥基苯甲酸p-hydroxy benzoic acid、香草醛、咖啡酸及重要成分6-MBOA等^(1,8,15)，這些成分在280 nm波長下可以偵測到最豐富的數量。本試驗以4個獨立配製 50 ppm標準品樣品分別注入本HPLC系統以進行穩定性分析，其平均滯留時間分別為9.31, 15.34, 16.93, 18.13, 22.24 min (表一、圖一)，並且相對標準偏差極低，除了沒食子酸為0.016，其餘均低於0.005 (表一、絕對滯留時間)，顯示本HPLC分離系統條件相當穩定，再現性亦高。各個標準品的吸收峰積分面積的相對標準差(RSD)介於0.022~0.089之間，顯示標準品的配製和系統分析總合的變異也落在合理的範圍之內。上述5個標準品並分別製作5, 10, 50, 100 ppm等不同濃度標準品，製作標準曲線，其迴歸趨勢線相關係數皆高於0.999 (資料未呈現)。

二、薏苡根之代謝物化學指紋分析圖譜建立

由於薏苡種子和根為中醫藥典籍中主要的利用部位，本試驗先以臺中場所栽培生產的臺中3號糙薏苡和薏苡根為材料，將樣品乾燥磨粉至70 mesh後以超音波震盪萃取法萃取，萃取液過濾之後以HPLC分析之，可發現糙薏苡種子和根的成分模式差異相當明顯，在先前試驗中已經建立種子的HPLC分析條件⁽³⁾，在此仍另外測試磷酸水溶液與甲醇不同梯度混合的效果 (資料未顯示)，以較佳之梯度重複分析三針，以了解本分析方法的穩定性。

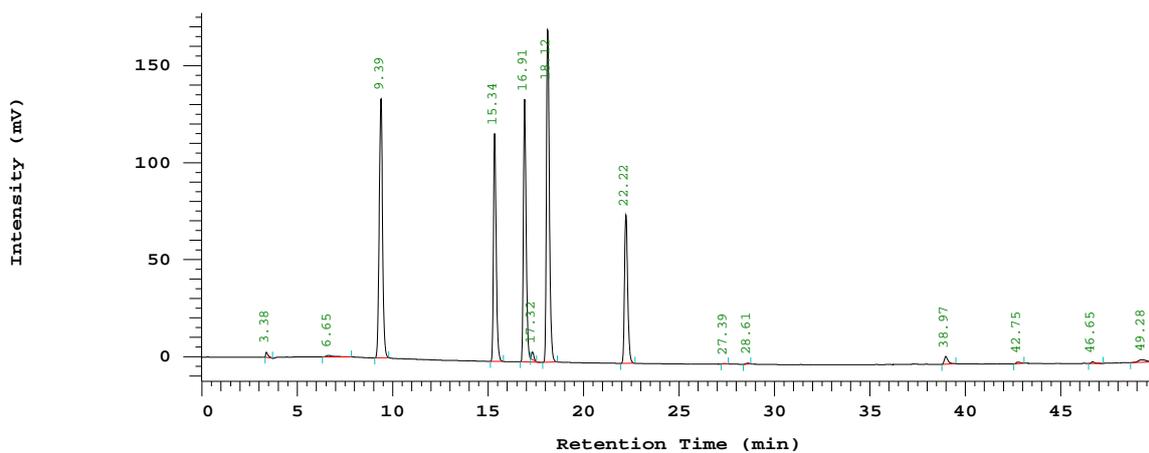
在天然物分析方面，200~800 nm的UV-VIS是常用的波長範圍，例如薏苡內醯胺可用250~260 nm偵測⁽²⁾、咖啡酸類衍生物可用330 nm偵測⁽⁵⁾，芸香苷、楊梅素、槲皮素、異槲皮

素(isoquercetin)等則皆多以355~360 nm偵測⁽¹⁴⁾，花青素類可在530~550 nm偵測，視種類而定⁽¹²⁾。本試驗首先以260、280、330、360 nm等不同波長進行薏苡根萃取樣品之掃描比較(圖二)，以了解本萃取樣品在不同波長針測情形下之豐富度。由於文獻中提及薏苡含有各種的酚酸類成分，在以醇類為提取溶劑的情形下，酚酸與具有抗癌作用的薏苡內醯胺化合物也有相當高的溶解度，均可用UV 280 nm偵測⁽²⁾，由分析圖亦可發現以UV 280 nm可得到較豐富的吸收峰(圖二)，6-MBOA在280 nm的吸收峰值也高於260、330、360 nm，因此選定280 nm波長建立薏苡根代謝物之指紋圖譜。

表一、五個薏苡成分標準品之絕對滯留時間與吸收峰面積再現性分析

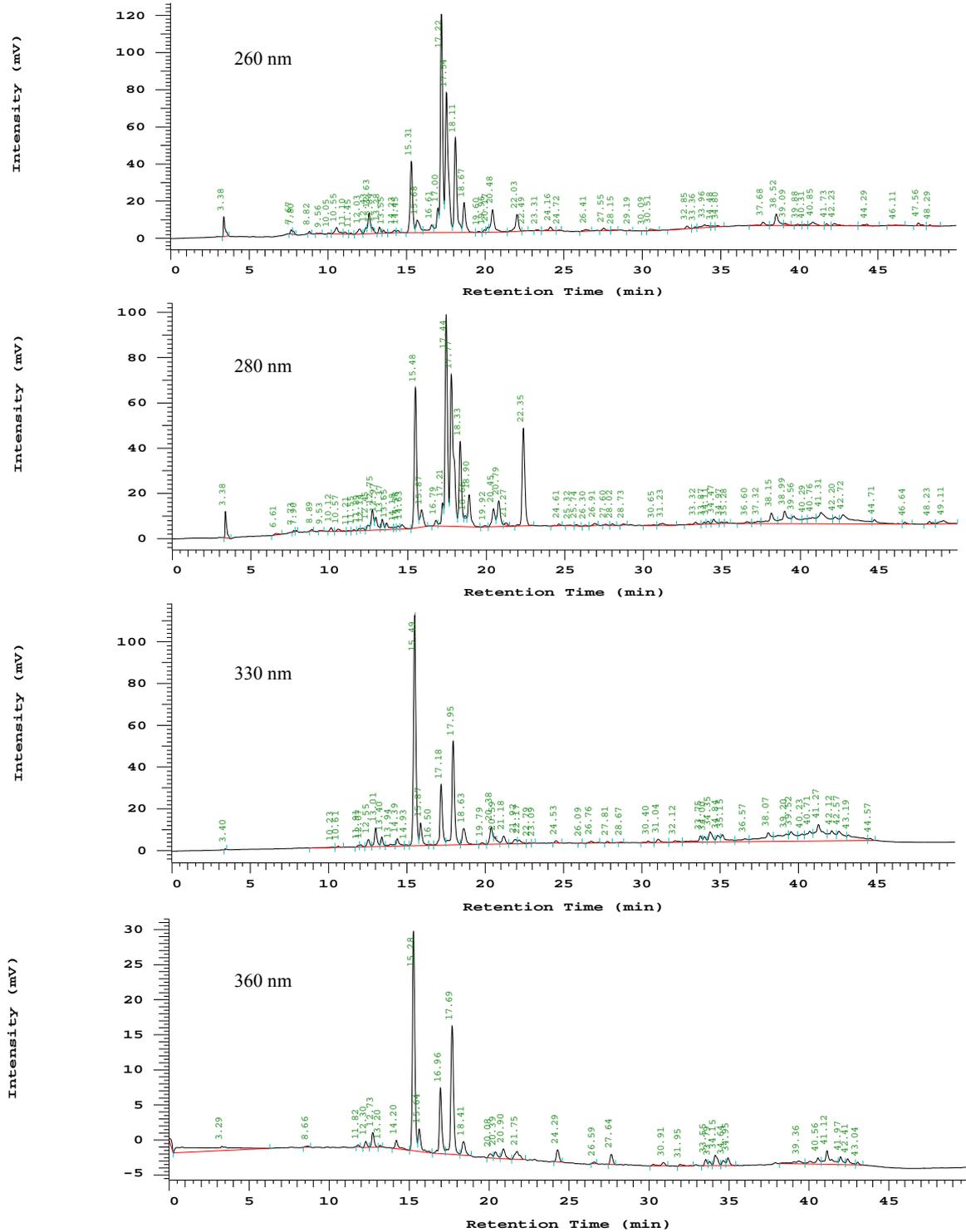
Table 1. The reproducibility of absolute retention time and absorption peak area of 5 standards employed in this analysis

Standards	1 st	2 nd	3 rd	4 th	Average	± RSD.
	injection	injection	injection	injection		
Retention time (min)						
Gallic acid	9.28	9.39	9.11	9.46	9.310	0.153
p-hydroxybenzoic acid	15.24	15.34	15.34	15.44	15.340	0.082
Vanillin	16.81	16.91	16.98	17.02	16.930	0.092
Caffeic acid	18.03	18.12	18.17	18.21	18.133	0.078
6-MBOA	22.10	22.22	22.32	22.34	22.245	0.110
Absorption peak area						
Gallic acid	1513903	1518526	1595630	1584860	1553230	0.028
p-hydroxybenzoic acid	1062689	1110705	1248015	1277050	1174615	0.089
Vanillin	1332231	1325293	1278090	1280910	1304131	0.022
Caffeic acid	1709374	1749839	1919575	1995230	1843505	0.074
6-MBOA	819350	836323	928805	971650	889032	0.082



圖一、標準品沒食子酸、p-hydroxy benzoic acid、香草醛、咖啡酸及 6-MBOA 之 HPLC 分析滯留時間，使用之濃度為 50 ppm，以 UV 280 nm 偵測

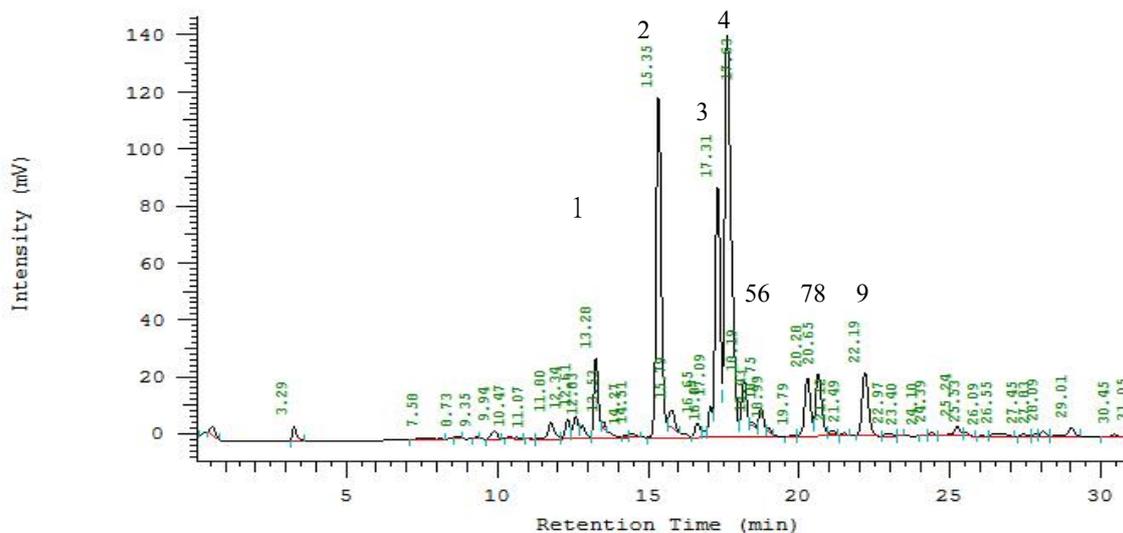
Fig. 1. HPLC analysis of standards gallic acid, p-hydroxy benzoic acid, vanillin, caffeic acid and 6-MBOA (50 ppm each, UV 280 nm)



圖二、薏苡臺中 3 號水耕栽培根系萃取成分於不同波長之 HPLC 層析圖譜

Fig. 2. The HPLC chromatogram of extracts of hydroponic cultured roots of Job's tears Taichung No. 3 at different wavelengths

從薏苡根的代謝物分析圖譜局部 放大圖中可以發現，根部代謝物的HPLC吸收峰主要分布在RT 10~25分鐘之間，在RT 13.3、15.3、17.2、17.5、18.1、18.7、20.2、20.5、22.1 min左右時有9個相對明顯的吸收峰(圖三)，其餘成分相對較微量，其中在RT 15.3、18.1、22.1的三個吸收峰分別對應到標準品p-hydroxy benzoic acid、咖啡酸及6-MBOA。



圖三、薏苡根系萃取物於 HPLC 指紋分析所擇定之吸收峰

Fig. 3. Selected absorption peaks in HPLC chromatograms of roots extracts of Job's tears

進一步比較根部代謝物與指紋圖譜的穩定性，以土耕、水耕及霧耕各3重複的樣品，由9個波峰的滯留時間加以比較分析，不同栽培方式所獲得3個獨立樣品，系列進樣之滯留時間標準偏差介於0.015~0.108之間(表二)，顯示本分析方法以及所選擇的特徵吸收峰具有高度穩定性及再現性，所選擇的9個吸收峰值佔各樣品總吸收峰值之63~71%，相當具有代表性，因此將這9個波峰一併考慮作為薏苡根的特徵成分，發現3種栽培方式中以霧耕樣品平均變化較大。

三、不同栽培方式之薏苡根代謝物化學指紋分析圖譜的建立

在天然物的成分分析中，常用HPLC層析圖譜中不同吸收峰的滯留時間和面積，建立該樣品的指紋圖譜，因此其分析條件必須具有再現性及穩定性，如此才能作為天然物的化學指紋圖譜比較之依據。在一般中草藥的品管方面即依此精神進行原料及成品的品管與分析，本試驗除了建立薏苡根萃取物的HPLC分析條件，也希望了解不同栽培方式對根之代謝物成分含量變化之影響，最後建立薏苡根萃取物的化學指紋圖譜。

由上述樣品的分析(圖二)，在滯留時間10~25分鐘之間選擇了9個吸收峰，為了避免分析時整體基線的變化影響到分析結果，故以此9個吸收峰的絕對滯留面積進行進一步比較及分析。與標準品之滯留時間與吸收光譜相比較，此分析圖譜的第2、5、9個吸收峰分別為p-hydroxybenzoic acid、咖啡酸及6-MBOA(圖一、表一)。從各個吸收峰絕對滯留面積的相對

標準差的大小來判斷，整體而言，霧耕樣品不同吸收峰之間的變異相當大(表三)，土耕樣品則相對穩定。在水耕樣品的吸收峰5及9，以及霧耕的吸收峰7變動較少，其餘吸收峰變異值範圍最高可達77.9%，可能是因為霧耕所提供之水霧狀態較不均勻，使部分樣品根系略呈褐色乾枯所導致，未來在環境系統控制上需要更高的穩定度。也可能是因為植株生長狀態不一致，個體之間差異大，連帶使根系代謝物成分有較高的變異。

表二、薏苡臺中3號根萃取樣品特徵峰值穩定性分析

Table 2. The stability of selected absorption peaks of root samples of Job's tears Taichung No. 3

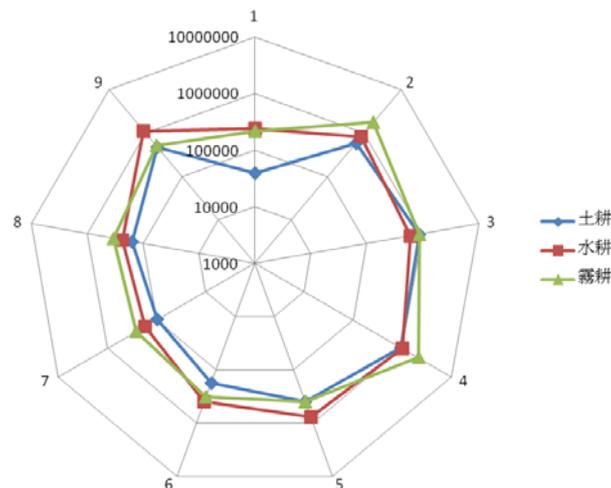
Sample component	Stability of 9 selected absorption peaks					
	Soil culture		Hydroponic culture		Mist culture	
	RT	SD	RT	SD	RT	SD
Peak 1	13.35	0.021	13.34	0.064	13.33	0.108
Peak 2	15.46	0.017	15.46	0.050	15.38	0.070
peak 3	17.42	0.015	17.42	0.047	17.31	0.085
peak 4	17.75	0.020	17.75	0.047	17.63	0.085
peak 5	18.31	0.021	18.32	0.042	18.20	0.085
peak 6	18.88	0.026	18.88	0.040	18.76	0.085
peak 7	20.42	0.036	20.44	0.052	20.28	0.095
peak 8	20.76	0.030	20.76	0.035	20.62	0.103
peak 9	22.32	0.030	22.32	0.046	22.18	0.101
Cumulative percentage of area	Representativeness of 9 selected absorption peaks					
	%	SD	%	SD	%	SD
	63.73	2.182	68.50	2.030	71.27	6.172

表三、不同栽培方式對於薏苡根萃取特徵峰值絕對滯留面積分析

Table 3. The absolute area of 9 absorption peak of root extracts of Job's tears

Sample component	Soil culture		Hydroponic culture		Mist culture	
	Area	RSD	Area	RSD	Area	RSD
Peak 1	39,384	20.0	240,529	32.9	216,622	40.5
Peak 2	590,360	4.8	815,606	38.3	1,742,276	34.7
peak 3	878,693	4.2	599,989	22.5	884,607	11.8
peak 4	929,619	2.6	1,004,971	24.8	2,130,189	33.8
peak 5	400,325	9.0	761,699	3.1	401,985	34.6
peak 6	180,592	7.5	393,500	18.8	325,649	77.9
peak 7	97,481	3.0	169,078	27.3	258,238	8.5
peak 8	158,925	3.9	233,061	40.1	342,418	27.0
peak 9	469,737	6.8	1,118,733	9.8	506,633	51.6
Cumulative integrated area	3,745,116		5,337,166		6,808,616	

薏苡根系代謝物含量多寡差異，以雷達圖表現可以更清楚看出不同栽培方式下，各個吸收峰成分含量的高低，在霧耕條件下，吸收峰2和4的含量高於其他處理(圖四)，6-MBOA (吸收峰9)的含量則以水耕方式較高。



圖四、不同栽培方式之薏苡根系代謝物成分含量雷達圖(數值參閱表三，對數值)

Fig. 4. Comparison of 9 major peak area (refer to Table 3, log scale) of roots extracts by different culture methods

四、薏苡根中特定代謝物含量的分析

由於薏苡主要食用部位為種子，國內過去相關薏苡成分研究文獻也著重在種殼、種子、麩皮等之分析，對於薏苡根系成分之研究較少。在薏苡中曾被發表的重要特殊機能性代謝物包括薏苡內醯胺類、植物固醇類以及酚類化合物⁽¹⁾。在薏苡內醯胺化合物中，最早被發現具有代表性的成分是6-MBOA，6-MBOA和同類型的薏苡內醯胺化合物被發現可作用在中樞神經系統，具有鎮靜、降低食慾、止痛、抗憂鬱效果^(11,15)，極可能是主要的機能性成分，薏苡的醇萃取物也被發現可以調節荷爾蒙助孕酮，可提高小鼠卵巢重量有助於懷孕^(6,13,19)，但婦女懷孕期間則不適宜食用，因恐會造成流產^(11,15)。王思涓⁽¹⁾等之研究顯示，6-MBOA (薏苡素)成分在種殼中最高，其次為麩皮，最低為精白薏苡，不同來源種殼中的6-MBOA含量在500~2000 ppm之間，本試驗中薏苡根系的6-MBOA含量也介於500~1400 ppm之間，與種殼含量相當，高於薏苡麩皮和糙薏苡的含量(100~200 ppm)，而薏苡根的生物量高，未來有機會作為此類型天然物的來源。

薏苡中也含有豐富的酚類成分，包括酚酸(phenolic acid)、酚醇(phenolic alcohol)、酚醛(phenolic aldehyde)、酚酮(phenolic ketone)等⁽¹⁾，植物酚類成分具有抗發炎、抗氧化、清除自由基等活性，可以降低心血管疾病的併發及癌症的形成。我們比較薏苡麩皮和根的化學指紋圖譜，以同樣的萃取方法和HPLC沖提條件，薏苡麩皮成分主要為低極性的物質，滯留時間主

要分布在25~45 min間，推測為油脂與固醇類成分⁽³⁾。相對的薏苡根萃取物主要滯留時間則介於10~25 min間，推測為極性中等的酚類化合物，本試驗選擇曾被發表的沒食子酸、p-hydroxy benzoic acid、香草醛、咖啡酸及6-MBOA等四種成分進行比較，比照標準品同樣的滯留時間，沒食子酸和香草醛在根中的含量較低，根中含有約1~100 ppm (表四)，其他兩種成分p-hydroxy benzoic acid和咖啡酸則介於200~1700 ppm之間。

表四、不同栽培方式對薏苡根系化合物成分之影響

Table 4. Effects of culture methods on the selected metabolites content in roots of Job's tears

Culture methods	Soil culture	Hydroponic culture	Mist culture
Metabolites (ppm)	Average ± S.D.	Average ± S.D.	Average ± S.D.
Gallic acid	2.21 ± 0.33	1.01 ± 0.73	1.84 ± 0.64
p-hydroxybenzoic acid	560.46 ± 27.12	774.97 ± 297.75	1657.48 ± 576.35
Vanillin	76.08 ± 7.51	71.78 ± 7.03	105.04 ± 42.74
Caffeic acid	235.32 ± 21.39	448.85 ± 14.14	236.30 ± 82.21
6-MBOA	578.59 ± 39.66	1379.78 ± 135.47	624.14 ± 322.92

結論與建議

天然植物藥物由於在自然條件或是田間栽培時，可能因為環境的變化而導致藥物成分含量的不穩定，因此許多學者均嘗試用控制環境條件來生產，包括生物反應器、溫室栽培、或是利用水耕或是霧耕的方式取得藥用植物。由於薏苡根和種子在中醫典籍中均有記載可入藥，本試驗也證實薏苡根中的6-MBOA含量和種殼相當，高於麩皮或糙薏苡，以水耕或是霧耕取得根系重要代謝物為可行之方式，有必要再探討薏苡在水耕和霧耕的根系可達成的生物量，進而分析6-MBOA及同系列的薏苡內醯胺化合物產量。本試驗以280 nm波長建立薏苡根系代謝物之HPLC化學指紋分析圖譜，其中9個吸收峰具有高再現性及代表性，未來可作為品管的指標成分。薏苡根的代謝物成分含量變化以土耕較為穩定，霧耕之根系成份變異最大，將來如要作為藥材來源，必須建立更穩定的生產系統。

參考文獻

1. 王思涓 2002 薏苡籽實中特殊生理機能性成分的定量分析與比較 國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文 臺北。
2. 江文章、郭悅雄、李明怡 2012 薏苡籽實麩皮之內醯胺化合物之分離及抗癌細胞增生用途 中華民國專利公報發明專利第**I362939** 號。
3. 陳裕星、張嘉倫、廖宜倫、林雲康 2014 不同品種及產地薏苡籽實之化學指紋圖譜建立 臺中區農業改良場研究彙報 124: 1-16。
4. 曾勝雄、陳裕星、廖宜倫 2009 薏苡臺中3號之育成 臺中區農業改良場研究彙報 102: 59-69。

5. Bauer, R., I. A. Khan and H. Wagner. 1988. TLC and HPLC analysis of *Echinacea pallida* and *E. angustifolia* roots. *Planta medica*. 54(5): 426-430.
6. Butterstein, G. M. and M. H. Schadler. 1988. The plant metabolite 6-methoxybenzoxazolinone interacts with follicle-stimulating hormone to enhance ovarian growth. *Biol. Reprod.* 39(2): 465-471.
7. Chang, H. C., Y. C. Huang and W. C. Hung. 2003. Antiproliferative and chemopreventive effects of adlay seed on lung cancer *in vitro* and *in vivo*. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3656-3660.
8. Daya, S., B. Pangerl, A. Pangerl, M. E. Troiani and R. J. Reiter. 1990. Effect of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the activities of rat pineal N-acetyltransferase and hydroxyindole-O-methyltransferase and on melatonin production. *J. Pineal Res.* 8: 57-66.
9. Fomsgaard, I. S., A. G. Mortensen, J. Idinger, T. Coja and S. Blümel. 2006. Transformation of benzoxazinones and derivatives and microbial activity in the test environment of soil ecotoxicological tests on *Poecilus cupreus* and *Folsomia candida*. *J. Agric. Food. Chem.* 54(4): 1086-1092.
10. Gower, B. A and P. J. Berger. 1990. Reproductive responses of male *Microtus montanus* to photoperiod, melatonin, and 6-MBOA, *J. Pineal Res.* 8: 297-317.
11. Hsia, S. M., C. L. Yeh, Y. H. Kuo, P. S. Wang and W. C. Chiang. 2011. *In vivo* and *In vitro* effects of adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf.) hull extracts on the secretion of progesterone and estradiol. *Exp. Biol. Med.* 232: 1181-1194.
12. Kammerer, D., A. Claus, R. Carle and A. Schieber, A. 2001. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *J. Agric. Food. Chem.* 52(14): 4360-4367.
13. Kondo, Y., K. Nakajima, S. Nozoe and S. Suzuki. 1988. Isolation of ovulatory active substances from crops of Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* STAPF.). *Chem. Pharm. Bull.* 36: 3147-3152.
14. Kreft, S., B. Štrukelj, A. Gaberščik and I. Kreft. 2002. Rutin in buckwheat herbs grown at different UV-B radiation levels: comparison of two UV spectrophotometric and an HPLC method. *J. Exp. Bot.* 53(375): 1801-1804.
15. Kuo, C. C., H. H. Chen and W. Chiang. 2012. Adlay (yì yǐ; "soft-shelled job's tears"; the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) is a potential cancer chemopreventive agent toward multistage carcinogenesis processes. *J. Tradit. Complement. Med.* 2(4): 267-275.
16. Lu, X., W. Liu, J. Wu, M. Li, J. Wang, J. Wu and C. Luo. 2013. A polysaccharide fraction of adlay seed (*Coix lachryma-jobi* L.) induces apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 430(2): 846-851.

17. Martin, L. B., E. M. Johnson, C. R. Hutch and R. J. Nelson. 2008. 6-MBOA affects testis size, but not delayed-type hypersensitivity, in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol.* 149(2): 181-187.
18. Otsuka, H, Y. Hirai and T. Nagao. 1988. Anti-inflammatory activity of benzoxazinoids from roots of *Coix lachryma-jobi* var. ma-yuen. *J. Nat. Prod.* 51(1): 74-79.
19. Schadler, M. H., G. M. Butterstein, B. J. Faulkner, S. C. Rice and L. A. Weisinger. 1988. The plant metabolite, 6-methoxybenzoxazolinone, stimulates an increase in secretion of follicle-stimulating hormone and size of reproductive organs in *Microtus pinetorum*, *Biol. Reprod.* 38: 817-820.
20. Takahashi, M, C. Konno and H. Hikino. 1986. Isolation and hypoglycemic activity of coixans A, B and C, glycans of *Coix lachryma-jobi* var. ma-yuen seeds. *Planta Med.* 52: 64-65.

Study on the Chemical Fingerprints of Root Extracts of *Coix lacryma-jobi* in Different Culture Conditions¹

Yu-Hsin Chen^{2*}, Jin-Yuan Chang³ and Hao-Ming Wu³

ABSTRACT

Job's tears (*Coix lacryma-jobi*) is a nutritious cereal crop that enriches in functional metabolites such as 6-methoxy-benzoxazolinone (6-MBOA) and phenolic acids. Root of Job's tears is a traditional Chinese medicine which can alleviate fever, promote diuresis and toning spleen. In this project, we investigated the growth and metabolites composition of roots of Job's tears among hydroponic, mist and soil culture. Root samples were subjected to ultrasonic assisted methanol extraction. Overall features of extracts were characterized using 260, 280, 330 and 360 nm HPLC absorption spectrums. Chemical fingerprinting was established using HPLC at 280 nm as basis for comparison of chemical profiles and for specific metabolites quantification. The results indicated that roots weight is higher in soil culture, but did not differ significantly between hydroponic and mist culture. The content of 6-MBOA in roots was higher in hydroponic culture. There is no significant trend on profiles variation among different culture methods.

Keywords: Job's tears root, chemical fingerprinting, hydroponic culture, mist culture

¹ Contribution No. 0858 from Taichung DARES, COA.

² Associate Researcher of Taichung DARES, COA. * Corresponding author.

³ Assistant Researcher, Research Assistant of Taichung DARES, COA.