

國立臺灣大學生物資源暨農學院森林環境暨資源學系

碩士論文

School of Forestry and Resource Conservation

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

天然耐久木材抗腐朽機制之探討

Study on Antifungal Mechanisms of

Naturally Durable Wood



陳品昇

Pin-Sheng Chen

指導教授：張上鎮 博士

Advisor: Shang-Tzen Chang, Ph.D.

中華民國九十九年十二月

December, 2010

天然耐久木材抗腐朽機制之探討

Study on Antifungal Mechanisms of Naturally Durable Wood

本論文係 陳品昇 君(學號 R96625046)於國立臺灣大學森林環境暨資源學研究所所完成之碩士論文，於民國九十九年十二月二十日經下列考試委員審查通過及口試及格。

指導教授：臺灣大學森林環境暨資源學研究所教授
張上鎮 博士

張上鎮

考試委員：中興大學森林學研究所教授
王升陽 博士

王升陽

林業試驗所助理研究員
許富蘭 博士

許富蘭

臺灣大學森林環境暨資源學研究所副教授
張惠婷 博士

張惠婷

臺灣大學實驗林管理處助理研究員
鄭森松 博士

鄭森松

森林環境暨資源學研究所所長：

陳秉宗

National Taiwan University
School of Forestry and Resource Conservation

December, 2010

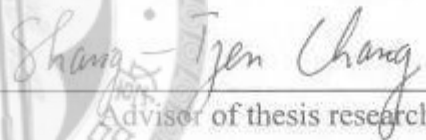
We hereby recommend that the thesis by

Pin-Sheng Chen

Entitled: Study on Antifungal Mechanisms of Naturally
Durable Wood

Be accepted in partial fulfillment of the requirement for the
degree of Master of Philosophy

Dr. Shang-Tzen Chang



Shang-Tzen Chang

Advisor of thesis research

Dr. Biing-Tzuang Guan



Director of School

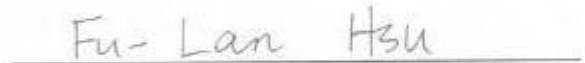
Committee on final examination

Dr. Sheng-Yang Wang



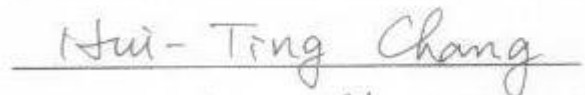
Sheng-Yang Wang

Dr. Fu-Lan Hsu



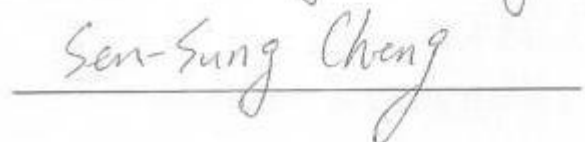
Fu-Lan Hsu

Dr. Hui-Ting Chang



Hui-Ting Chang

Dr. Sen-Sung Cheng



Sen-Sung Cheng

謝 誌

哇!終於到寫謝誌的階段了，心裡五味雜陳感覺一時間衝上大腦，怎讓我眼眶熱熱濕濕的，難道這就是畢業的感覺。研究所求學的時光已飛逝，而自己也必需踏出學校的照顧，但我會由衷記住在研究所三年的精彩的生活，並且感謝曾經幫助我的人。首先，感謝恩師張上鎮老師時時叮嚀與教導我，在學業或是做人處事上使我受益良多，而學業能夠順利完成，在此希望跟老師說一句話“老師，謝謝您”，以表內心的千言萬語。

論文初稿承蒙中興大學王升陽教授、林業試驗所許富蘭博士，以及本校張惠婷副教授和鄭森松助理教授之悉心批閱斧正，並於口試時間提供諸多寶貴意見，使論文更加完善，特此致上萬分謝意。感謝臺灣大學化學系貴儀中心黃守齡及孫姝雲小姐在儀器分析上的幫助，特此致謝。此外，感謝行政院文化建設委員會以及木材保存科學獎學金的鼓勵，使我能夠在研究上更有自信。

修業期間，感謝實驗室的夥伴：森松學長、閔傑學長、季玲學姐、昆源學長、富蘭學姐、若璽學姐、煥祐學長、鈺棠學姐、惠菁學姐、群雅學長、資正學長、為君學姐、文馨學姐、佩翎學姐、慶餘、偉哲、育涵、啟元、信甫、子萱、彥如、政喬、立昇、乃瑜、于庭、菀蓉、秉和、怡秀、思親、心慈、懋如、羅猛博士、梁小姐、程阿姨、Maggie 等人陪我一起做功課及研究以度過我無法通過的課業，陪我一起抱怨紓解心中的苦悶，一起運動以減去過多的贅肉，一起聊天打屁喝下午茶以釋放一天工作的壓力，使我能夠順利通過重重的考驗。

另外，我要感謝在深夜陪我做實驗的儀器們和保護研究資料的筆電。謝謝妳們一直容忍我粗暴的操作，但還是對我不離不棄，在我趕實驗的時候，永遠給我最好的性能，妳們是我最忠心的朋友。最後，要感謝我的家人：爸爸、媽媽、姐姐和妹妹，在我修業這段期間給我很多的鼓勵以及包容，使我能夠心無旁騖的求學。

陳品昇謹致

于臺灣大學生物材料化學研究室

December 20, 2010

目 錄

	頁次
目錄.....	I
圖目錄.....	III
表目錄.....	VIII
摘要.....	X
Abstract.....	XII
I、前言.....	1
II、文獻回顧.....	3
(I) 天然耐腐朽材.....	3
(II) 抽出物之耐腐朽活性.....	6
1. 聚酚類化合物抗菌活性.....	7
2. 萜類化合物抗菌活性.....	8
3. 生物鹼類化合物抗菌活性.....	9
(III) 腐朽菌降解木材之可能機制.....	9
1. 白腐菌降解木材機制.....	11
2. 褐腐菌降解木材機制.....	13
(IV) 木材天然耐腐朽性可能機制.....	13
III、材料與方法.....	18
(I) 試驗材料.....	18
1. 樹種.....	18
2. 菌株.....	18
3. 培養基.....	19
(II) 試驗方法.....	19
1. 抽出物萃取.....	19
2. 抽出物分離與純化.....	19
(1) 液相—液相分配.....	19
(2) 管柱層析.....	19
(3) 高效能液相層析.....	20
3. 化合物結構鑑定.....	21
4. 抗氧化活性、總酚含量及總黃酮含量試驗.....	21
(1) DPPH 自由基清除試驗.....	21

(2) 亞鐵離子螯合試驗.....	21
(3) 總酚含量測定.....	22
(4) 總黃酮類含量測定.....	22
5. 木塊抽出物萃取.....	22
6. 木塊抽出物含浸.....	23
7. 抗腐朽菌試驗.....	23
(1) 固態平板試驗.....	23
(2) (含浸) 木塊耐腐朽性試驗.....	24
8. 統計分析.....	24
IV、結果與討論.....	25
(I) 相思樹與臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之抗氧化活性、總酚及 總黃酮含量.....	25
1. 心材抽出物之抗氧化活性.....	26
2. 心材抽出物之亞鐵離子螯合能力.....	27
3. 心材乙醇抽出物之總酚及總黃酮含量.....	28
(II) 相思樹與臺灣杉木材天然耐腐朽性.....	30
1. 木材天然耐腐朽性.....	30
(1) 相思樹木材天然耐腐朽性.....	31
(2) 臺灣杉木材天然耐腐朽性.....	32
2. 心材抽出物之抗腐朽菌活性.....	35
3. 心材抽出物含浸於木材中之耐腐朽性.....	37
(III) 相思樹及臺灣杉心材活性可溶部之分離.....	40
(IV) 相思樹及臺灣杉活性可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含 量.....	41
1. 相思樹心材乙酸乙酯可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含量.....	41
2. 臺灣杉心材正己烷可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含量.....	44
(V) 臺灣杉心材正己烷可溶部次分離部抗腐朽菌活性.....	45
(VI) 相思樹與臺灣杉心材乙醇抽出物活性成分分離與純化.....	47
1. 相思樹心材乙酸乙酯可溶部活性成分之分離與鑑定.....	47
2. 臺灣杉心材正己烷可溶部活性成分之分離與鑑定.....	69
(VII) 相思樹與臺灣杉材天然耐腐朽機制探討.....	90
V、結論.....	94
VI、參考文獻.....	96

圖目錄

頁次

圖 1 松木受褐腐菌腐朽之重量損失情形	
Fig. 1 Progressive loss of major wood components from pine wood upon decay by brown rot fungus	10
圖 2 甜楓邊材受白腐菌腐朽之重量損失情形	
Fig. 2 Progressive loss of major wood components from sweetgum upon decay by white rot fungus	10
圖 3 褐腐菌降解之可能機制	
Fig. 3 Proposed mechanisms of brown-rot decay	13
圖 4 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部清除 DPPH 自由基之 IC ₅₀ 值	
Fig. 4 IC ₅₀ value of DPPH free-radical scavenging activity of fractions from ethanolic extracts of <i>A. confusa</i> and <i>T. cryptomerioides</i> heartwood measured by DPPH assay.....	27
圖 5 不同溶劑萃取相思樹心邊材之萃取率 (%) 及其 12 週耐腐朽試驗後之重量損失率	
Fig. 5 Yields (%) of <i>A. confusa</i> heartwood and sapwood extracted by different solvents and their weight loss after 12 weeks decay resistance test.. ..	32
圖 6 不同溶劑萃取臺灣杉心邊材之萃取率 (%) 及其 12 週耐腐朽試驗後之重量損失率	
Fig. 6 Yields (%) of <i>T. cryptomerioides</i> heartwood and sapwood extracted by different solvents and their weight loss after 12 weeks decay resistance test..	34
圖 7 相思樹心材乙醇抽出物及其各可溶部 (100 µg/mL) 之抗腐朽菌活性	
Fig. 7 Antifungal activity of ethanolic extract and its fractions (100 µg/mL) from <i>A. confusa</i> heartwood against wood-rot fungi	36
圖 8 臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部 (100 µg/mL) 之抗腐朽菌活性	
Fig. 8 Antifungal activity of ethanolic extract and its fractions (100 µg/mL) from <i>T. cryptomerioides</i> heartwood against wood-rot fungi	37
圖 9 臺灣杉與相思樹心材抽出物之各可溶部 (5%) 含浸於楓木及柳杉邊材之留存率及耐腐朽試驗 12 週後之重量損失率	
Fig. 9 Retention of <i>A. serrulatum</i> and <i>C. japonica</i> sapwood treated with fractions of the ethanolic extracts from <i>T. cryptomerioides</i> and <i>A. confusa</i> heartwood and their weight loss after 12 weeks decay resistance test.. ..	38

圖 10 臺灣杉心材正己烷可溶部之次分離部抗腐朽菌活性	
Fig. 10 Antifungal activity from <i>n</i> -hexane subfractions of <i>T. cryptomerioides</i> heartwood against wood-rot fungi	46
圖 11 由相思樹心材乙酸乙酯可溶部分離所得之 5 個化合物	
Fig. 11 Chemical structures of five phytochemicals isolated from the ethyl acetate fraction of <i>A. confusa</i> heartwood	48
圖 12 Protocatechuic acid (A1) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 12 EI-MS (70 eV) spectrum of protocatechuic acid (A1)	50
圖 13 Protocatechuic acid (A1) 之 ¹ H-NMR 圖譜 (500 MHz, CD ₃ OD)	
Fig. 13 ¹ H-NMR spectrum of protocatechuic acid (A1) (500 MHz, CD ₃ OD)	50
圖 14 Protocatechuic acid (A1) 之 ¹³ C-NMR 圖譜 (125 MHz, CD ₃ OD)	
Fig. 14 ¹³ C-NMR spectrum of protocatechuic acid (A1) (125 MHz, CD ₃ OD)	51
圖 15 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 15 EI-MS (70 eV) of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2)	53
圖 16 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone(A2)之 ¹ H-NMR 圖譜(500 MHz, CD ₃ OD)	
Fig. 16 ¹ H-NMR spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (500 MHz, CD ₃ OD).....	54
圖 17 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2) 之 ¹³ C-NMR 圖譜 (125 MHz, CD ₃ OD)	
Fig. 17 ¹³ C-NMR spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (125 MHz, CD ₃ OD).....	54
圖 18 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone(A2)之 HSQC 圖譜(500 MHz, CD ₃ OD)	
Fig. 18 HSQC spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (500 MHz, CD ₃ OD).....	55
圖 19 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone(A2)之 HMBC 圖譜(500 MHz, CD ₃ OD)	
Fig. 19 HMBC spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (500 MHz, CD ₃ OD)	55
圖 20 Melanoxetin (A3) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 20 EI-MS (70 eV) spectrum of melanoxetin (A3).....	57
圖 21 Melanoxetin (A3) 之 ¹ H-NMR 圖譜 (400 MHz, CD ₃ OD)	
Fig. 21 ¹ H-NMR spectrum of melanoxetin (A3) (400 MHz, CD ₃ OD).....	58
圖 22 Melanoxetin (A3) 之 ¹³ C-NMR 圖譜 (125 MHz, CD ₃ OD)	

Fig. 22 ^{13}C -NMR spectrum of melanoxetin (A3) (125 MHz, CD_3OD).....	58
圖 23 Melanoxetin (A3) 之 HSQC 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 23 HSQC spectrum of melanoxetin (A3) (500 MHz, CD_3OD).....	59
圖 24 Melanoxetin (A3) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 24 HMBC spectrum of melanoxetin (A3) (500 MHz, CD_3OD).....	59
圖 25 Transilitin (A4) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 25 EI-MS (70 ev) spectrum of transilitin (A4).....	62
圖 26 Transilitin (A4) 之 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 26 ^1H -NMR spectrum of transilitin (A4) (500 MHz, CD_3OD).....	62
圖 27 Transilitin (A4) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)	
Fig. 27 ^{13}C -NMR spectrum of transilitin (A4) (125 MHz, CD_3OD).....	63
圖 28 Transilitin (A4) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 28 HMBC spectrum of transilitin (A4) (500 MHz, CD_3OD).....	63
圖 29 Okanin (A5) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 29 EI-MS (70 ev) spectrum of okanin (A5).....	65
圖 30 Okanin (A5) 之 ^1H -NMR 圖譜 (800 MHz, CD_3OD)	
Fig. 30 ^1H -NMR spectrum of okanin(A5) (800 MHz, CD_3OD).....	65
圖 31 Okanin (A5) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (200 MHz, CD_3OD)	
Fig. 31 ^{13}C -NMR spectrum of okanin (A5) (200 MHz, CD_3OD).....	66
圖 32 Okanin (A5) 之 HSQC 圖譜 (800 MHz, CD_3OD)	
Fig. 32 HSQC spectrum of okanin (A5) (800 MHz, CD_3OD).....	66
圖 33 Okanin (A5) 之 HMBC 圖譜 (800 MHz, CD_3OD)	
Fig. 33 HMBC spectrum of okanin (A5) (800 MHz, CD_3OD).....	67
圖 34 由臺灣杉心材正己烷可溶部分離所得 6 個化合物	
Fig. 34 Chemical structures of six phytochemicals isolated from the <i>n</i> -Hex fraction of <i>T. cryptomerioides</i> heartwood.....	70
圖 35 Ferruginol (T1) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 35 EI-MS (70 eV) spectrum of ferruginol (T1).....	72
圖 36 Ferruginol (T1) 的 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 36 ^1H -NMR spectrum of ferruginol (T1) (500 MHz, CDCl_3).....	72
圖 37 Ferruginol (T1) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)	

Fig. 37 ^{13}C -NMR spectrum of ferruginol (T1) (125 MHz, CDCl_3).....	73
圖 38 Cedrol (T2) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 38 EI-MS (70 eV) spectrum of cedrol (T2).....	75
圖 39 Cedrol (T2) 的 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 39 ^1H -NMR spectrum of cedrol (T2) (500 MHz, CDCl_3).....	75
圖 40 Cedrol (T2) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)	
Fig. 40 ^{13}C -NMR spectrum of cedrol (T2) (125 MHz, CDCl_3).....	76
圖 41 T-Cadinol (T3) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 41 EI-MS (70 eV) spectrum of T-cadinol (T3).....	78
圖 42 T-Cadinol (T3) 之 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 42 ^1H -NMR spectrum of T-cadinol (T3) (500 MHz, CDCl_3).....	79
圖 43 T-Cadinol (T3) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)	
Fig. 43 ^{13}C -NMR spectrum of T-cadinol (T3) (125 MHz, CDCl_3)	79
圖 44 T-Cadinol (T3) 之 HSQC 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 44 HSQC spectrum of T-cadinol (T3) (500 MHz, CDCl_3).....	80
圖 45 T-Cadinol (T3) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 45 HMBC spectrum of T-cadinol (T3) (500 MHz, CDCl_3)	80
圖 46 T-Muurolol (T4) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 46 EI-MS (70 eV) spectrum of T-muurolol (T4).....	81
圖 47 T-Muurolol (T4) 之 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 47 ^1H -NMR spectrum of T-muurolol (T4) (500 MHz, CDCl_3).....	81
圖 48 T-Muurolol (T4) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (200 MHz, CDCl_3)	
Fig. 48 ^{13}C -NMR spectrum of T-muurolol (T4) (200 MHz, CDCl_3)	82
圖 49 T-Muurolol (T4) 之 HSQC 圖譜 (800 MHz, CDCl_3)	
Fig. 49 HSQC spectrum of T-muurolol(T4) (800 MHz, CDCl_3)	82
圖 50 T-Muurolol (T4) 之 HMBC 圖譜 (800 MHz, CDCl_3)	
Fig. 50 HMBC spectrum of T-muurolol (T4) (800 MHz, CDCl_3)	83
圖 51 α -Cadinol (T5) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 51 EI-MS (70 eV) spectrum of α -cadinol (T5)	83
圖 52 α -Cadinol (T5) 之 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 52 ^1H -NMR spectrum of α -cadinol (T5) (500 MHz, CDCl_3)	84

圖 53 α -Cadinol (T5) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)	
Fig. 53 ^{13}C -NMR spectrum of α -cadinol (T5) (125 MHz, CDCl_3)	84
圖 54 α -Cadinol (T5) 之 HSQC 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 54 HSQC spectrum of α -cadinol (T5) (500 MHz, CDCl_3)	85
圖 55 α -Cadinol (T5) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 55 HMBC spectrum of α -cadinol (T5) (500 MHz, CDCl_3)	85
圖 56 Hinokinin (T6) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜	
Fig. 56 EI-MS (70 eV) spectrum of hinokinin (T6)	88
圖 57 Hinokinin (T6) 之 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)	
Fig. 57 ^1H -NMR spectrum of hinokinin (T6) (500 MHz, CDCl_3)	88
圖 58 Hinokinin (T6) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)	
Fig. 58 ^{13}C -NMR spectrum of hinokinin (T6) (125 MHz, CDCl_3)	89
圖 59 不同溶劑萃取相思樹及臺灣杉心材經白腐菌 (<i>L. b.</i>) 12 週耐腐朽試驗後之照片	
Fig. 59 Photos of <i>A. confusa</i> and <i>T. cryptomerioides</i> heartwood extracted by different solvents after 12 weeks decay resistance test with white rot fungi (<i>L. b.</i>)	92
圖 60 不同溶劑萃取相思樹及臺灣杉心材經褐腐菌 (<i>L. s.</i>) 12 週耐腐朽試驗後之照片	
Fig. 60 Photos of <i>A. confusa</i> and <i>T. cryptomerioides</i> heartwood extracted by different solvents after 12 weeks decay resistance test with brown rot fungi (<i>L. s.</i>)	93

表目錄

	頁次
表 1 英國建築研究協會之耐腐朽性分類.....	4
Table 1 Natural durability classes from BRE	4
表 2 北美材耐腐朽性之分級.....	5
Table 2 Grouping of some heartwood of decay resistance in North America.....	5
表 3 木材抽出物之分類.....	7
Table 3 Class of wood extractives	7
表 4 木質纖維降解酵素之作用.....	12
Table 4 Enzymes acting in lignocellulose degradation processes	12
表 5 不同條件處理過 Southern yellow pine 的邊材以褐腐菌 <i>G. t.</i> 進行耐腐朽 試驗後之平均強度損失率 (%)	15
Table 5 Average % strength loss for SYP sapwood samples treated with the biocide propiconazole (Prop.) and exposed to the brown-rot fungus <i>G. t.</i>	15
表 6 不同條件處理過南方松邊材以 <i>G. t.</i> 褐腐菌進行耐腐朽試驗 5 週後之平 均壓縮強度.....	16
Table 6 Fungicidal activity of selected compounds using the brown-rot fungus <i>G.</i> <i>t.</i> and southern pine sapwood for five weeks, as determined using wood strength following fungal inoculation.....	16
表 7 耐腐朽性試驗使用之菌種.....	18
Table 7 Wood rot fungi used for antifungal test	18
表 8 相思樹與臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之收率.....	25
Table 8 Yields (%) of ethanolic extracts and their soluble fractions from the heartwood of <i>A. confusa</i> and <i>T. cryptomerioides</i>	25
表 9 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及各可溶部亞鐵離子螯合之 IC ₅₀ 值	28
Table 9 IC ₅₀ value of metal chelating activity of fractions from ethanolic extracts of <i>A. confusa</i> and <i>T. cryptomerioides</i> heartwood	28
表 10 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之總酚含量.....	29
Table 10 Total phenolic contents of fractions from the ethanolic extracts of <i>A.</i> <i>confusa</i> and <i>T. cryptomerioides</i> heartwood	29
表 11 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之總黃酮含量.....	30
Table 11 Total flavonoid contents of fractions from ethanolic extracts of <i>A.</i>	

<i>confusa</i> and <i>T. cryptomerioides</i> heartwood	30
表 12 相思樹心材乙酸乙酯可溶部及臺灣杉心材正己烷可溶部中各次分離部 之沖提溶劑與收率 (%)	41
Table 12 Mobile phase and yields of subfractions from ethyl acetate subfraction of <i>A. confusa</i> heartwood and <i>n</i> -hexane subfraction of <i>T. cryptomerioides</i> heartwood.....	41
表 13 相思樹心材乙酸乙酯可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含 量.....	43
Table 13 Antioxidant activities, total phenolic contents and total flavonoid contents from ethyl acetate subfractions of <i>A. confusa</i> heartwood.....	43
表 14 臺灣杉心材正己烷可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含 量.....	45
Table 14 Antioxidant activities, total phenolic contents and total flavonoid contents from <i>n</i> -hexane subfractions of <i>T. cryptomerioides</i> heartwood.....	45
表 15 Melanoxetin (A3) 之氫譜與碳譜資料	60
Table 15 ¹ H- and ¹³ C-NMR data of melanoxetin (A3)	60
表 16 Okanin (A5) 之氫譜與碳譜資料	68
Table 16 ¹ H- and ¹³ C-NMR data of okanin (A5)	68
表 17 T3 、 T4 及 T5 之氫譜核磁共振光譜之化學位移.....	86
Table 17 H ¹ -NMR chemical shift data of T3 , T4 , and T5	86

摘要

為延長木材使用年限，通常會使用防腐劑，然而傳統防腐劑對環境及人體具有高度毒性，若能利用天然產物不僅可降低毒性還能減緩對環境的衝擊。有鑑於此，本研究以本土天然耐腐朽樹種—相思樹 (*Acacia confusa* Merr.) 及臺灣杉 (*Taiwania cryptomerioides* Hay.) 為研究對象，除了找尋傳統殺菌成分，並篩選具有抗氧化及金屬螯合之成分，以探討對木材耐腐朽性之影響。

以木塊耐腐朽法評估相思樹與臺灣杉天然耐腐朽性之試驗結果得知，相思樹及臺灣杉心材抽出物對 *Lenzites betulina* 白腐菌或 *Laetiporus sulphureus* 褐腐菌皆具有良好的耐腐朽能力；而兩者邊材抽出物則不具耐腐朽能力。

進一步評估兩者心材乙醇抽出物及各可溶部之抗腐朽菌及抗氧化能力，由固態平板試驗結果得知，相思樹乙醇抽出物及其 3 個可溶部之抗腐朽菌能力不佳；而臺灣杉乙醇抽出物具良好抗腐朽菌之活性，且 4 個可溶部中以正己烷可溶部之抗腐朽菌能力最佳，進一步分離正己烷可溶部，共分離出 6 個化合物，分別為 Ferruginol、Cedrol、T-Cadinol、T-Muurolol、 α -Cadinol 及 Hinokinin。在抗氧化能力方面，臺灣杉乙醇抽出物及其 4 個可溶部抗氧化能力不佳；相思樹乙醇抽出物具良好抗氧化活性，且 3 個可溶部中以乙酸乙酯可溶部具有極佳之抗氧化能力，進一步分離乙酸乙酯可溶部，共得 5 個化合物，分別為 Protocatechuic acid、7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone、Melanoxetin、Transilitin 及 Okanin。

將相思樹及臺灣杉各可溶部含浸至柳杉 (*Cryptomeria japonica* D. Don) 與楓木 (*Acer serrulatum* Hay.) 邊材中，經 12 週木塊耐腐朽試驗得知，含浸相思樹 3 個可溶部之柳杉邊材對 *L. s.* 皆具有耐腐朽活性，而含浸臺灣杉正己烷可溶部之柳杉具最佳耐腐朽活性；然而無論相思樹或臺灣杉之抽出物含浸於楓木邊材對 *L. b.* 皆不具耐腐朽活性。

相思樹之天然耐腐朽活性與本身抽出物相關，雖然其抽出物並無抑菌效果，卻具有良好的抗氧化活性，所以得知相思樹具抗氧化活性之抽出物能夠提升木材對 *L. s.* 之耐腐朽能力。因此相思樹抑制腐朽菌腐朽之主要原因來自於抗氧化

之抽出物。

臺灣杉天然耐腐朽活性與正己烷可溶部中活性成分有相當大之關連性，且主要是屬於抑菌效果，與其抗氧化能力較無相關性。所以得知臺灣杉天然耐腐朽機制來自於活性成分之殺菌成分，故木材不易受腐朽菌分解。

【關鍵詞】 相思樹、抗氧化活性、天然耐腐朽、耐腐朽機制、臺灣杉



Abstract

To extend the wood service life, it is usually treated with preservatives. However, the traditional wood preservatives are highly toxic to environment and human beings. Using natural products as preservatives not only reduces toxicity but also slows down the impact on the environment. In this study the endemic durable species - *Acacia confusa* Merr. and *Taiwania cryptomerioides* Hay. were chosen to be investigated. Besides determining compounds with fungicidal activity, antioxidant activities and metal chelating capacity were carried out to explore the influences of active components on natural durable wood.

The results showed extracts of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* heartwood possessed excellent durability against white-rot fungus *Lenzites betulina* and brown-rot fungus *Laetiporus sulphureus* after 12 weeks decay resistance test while sapwood extracts didn't exhibit any decay resistance ability.

Antifungal and antioxidant activities of heartwood ethanolic extracts and their fractions were also carried out. The results obtained from agar plate method showed that *A. confusa* ethanolic extract and its three fractions exhibited no antifungal activity, whereas *T. cryptomerioides* heartwood ethanolic extracts had good antifungal activity and its *n*-hexane soluble fraction displayed the best antifungal activity among the four fractions. Six compounds were isolated using bioassay-guided fractionation from the *n*-hexane soluble fraction and their structures were identified, namely ferruginol, cedrol, T-cadinol, T-muurolol, α -cadinol, and hinokinin.

In the antioxidant activity test, however, no significant antioxidant activity was observed with ethanolic extracts and its fractions of *T. cryptomerioides* heartwood. But ethanolic extracts from *A. confusa* heartwood had good antioxidant activity and its ethyl acetate soluble fraction showed excellent performance. Five compounds were isolated using bioassay-guided fractionation from the ethyl acetate soluble fraction and their structures were identified, namely protocatechuic acid, 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone, melanoxetin, transilitin, and okanin.

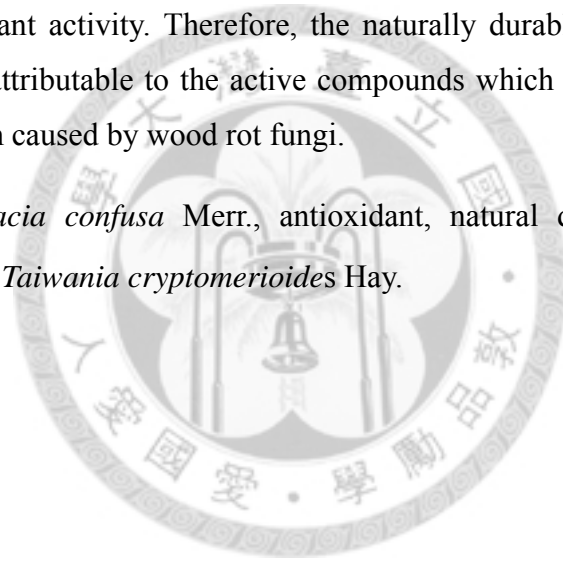
In addition, fractions of heartwood extracts from *A. confusa* and *T. cryptomerioides* were soaked in sapwoods of *Cryptomeria japonica* D. Don and

Acer serrulatum Hay. for 12 weeks decay resistance test. Three fractions of *A. confusa* extract performed good durability against *L. s.*, and *n*-hexane soluble fraction of *T. cryptomerioides* extract was superior to other fractions. Sapwoods of *A. serrulatum* soaked with fractions of two extracts showed no significant resistance to *L. b.*

Natural durability of *A. confusa* should be associated with its crude extract. However, the extract from *A. confusa* didn't show toxic effectiveness but had good antioxidant activity, which lead to the increase in decay resistance to *L. s.*. Therefore, the natural durability of *A. confusa* may be attributable to its antioxidant action.

Natural durability of *T. cryptomerioides* is significantly associated with its active ingredients in the *n*-hexane soluble fraction whose main action is antifungal rather than antioxidant activity. Therefore, the naturally durable mechanism of *T. cryptomerioides* is attributable to the active compounds which act as fungicides to prevent deterioration caused by wood rot fungi.

【Keywords】 *Acacia confusa* Merr., antioxidant, natural durability, naturally durable mechanism, *Taiwania cryptomerioides* Hay.





I、前言

木材如同其他金屬、塑膠或是石材等，屬於材料中的一種，但有別於其他材料，為一種可再生且對環境友善的生物材料。由於木材是一種易於加工、耗能小、提供能源以及可再生的材料，是最符合現在殘破不堪的地球環境，因此，木材的地位顯然優於其他材料，所以其利用上更是倍受注目。簡而言之，木材為調和環境以及人類日常所需的材料，然而木材有一些特點，如易受氣候影響或是生物的侵蝕，導致力學強度降低，無法長期使用，因此在使用上有些限制或是在使用的環境上需有所選擇。

為了延長木質材料的使用年限，傳統上是以木材防腐劑(Wood preservatives)處理，防腐劑多以填充的方式存在木材的細胞腔內以達到防腐與防蟻等目的。但是許多木材防腐劑具有毒性，且大多含有重金屬離子，因此在使用環境中可能對非目標生物造成危害；此外，一些藉由本身毒性來抑制生物侵蝕木材的防腐劑，由於分解性低且在生物體內的蓄積量會隨著食物鏈的等級而增加，以致防腐處理木材的用途受到很大的限制。之前廣泛使用之鉻化砷酸銅(Chromated copper arsenate, CCA)，所含之重金屬鉻及砷是人體致癌與環境污染因子，已遭許多國家陸續限制生產及使用(Micklewright, 1998)。目前CCA的替代藥劑，主要為銅烷基銨化合物(Ammoniacal copper quats, ACQ)或銅唑化合物(Ammoniacal copper azole, CuAz)，雖然這些防腐劑的毒性較低，但仍有重金屬污染之虞，在處理成本上亦相對較高(Preston, 2000)。目前經改良的防腐劑只能減緩或減輕對環境或生物的衝擊，所以尋求對於環境友善的防腐劑，是未來所必須實行的計畫之一。由於這些人工合成之防腐劑已無法解決現今所需求的條件，為開發新型防腐劑，需更深入探討天然耐腐朽木之耐腐朽機制。

早期木材耐腐朽能力普遍認為是來自心材抽出物中之有效殺菌成分，而且多數的研究都是尋找有效殺菌成分，直到Schultz and Nicholas (1998)提出木材耐腐朽的機制不僅與木材內的殺菌成分有關，而且可能與抽出物之抗氧化作用(Antioxidation)以及金屬螯合作用(Metal chelation)有關。所以若能找到一些並添加合適的抗氧化劑或是金屬螯合劑，或許可減少腐朽菌腐朽木材時，芬頓反應(Fenton reaction)所產生的自由基，而達到保護木材的效果。Schultz and

Nicholas (2000) 初步證實使用商用的抗氧化劑2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) 結合殺菌劑Propiconazole對褐腐菌具有良好的抑制效果，顯示殺菌劑結合抗氧化劑可以有效降低殺菌劑的使用量。

然而目前相關研究多以人工合成之抗氧化劑為主，但具有良好抗氧化活性 (Bajpai *et al.*, 2005 ; Chang *et al.*, 2001 ; Gao *et al.*, 2007 ; Wu *et al.*, 2005) 或是毒殺真菌能力之林木抽出成分研究已經相當完整 (Chang *et al.*, 1999 ; Cooposamy and Magwa, 2007 ; Matsushita *et al.*, 2006 ; 張上鎮等, 1998)，可是評估天然抗氧化成分及天然殺菌成分對木材耐腐朽性能的相互影響之研究較少，值得深入研究與探討。

因此，本研究乃以臺灣本土具有耐腐朽性之相思樹 (*Acacia confusa* Merr.) (林亞立, 1997) 及臺灣杉 (*Taiwania cryptomerioides* Hay.) 為試驗材料，使用乙醇萃取兩者之心材抽出物，並從具有抗氧化活性抽出成分—自由基捕捉與金屬螯合能力切入，探討這些活性成分與殺菌成分之間的相互作用，以釐清木材耐腐朽機制。期能利用抗氧化劑之參與，以增強殺菌劑之能力，進一步開發成對環境友善之防腐劑。

II、文獻回顧

(I) 天然耐腐朽木材

某些樹木在生長之立木階段或是被砍伐後利用階段，本身具有對抗微生物或是昆蟲的功能，故被稱為天然耐久木材，這些樹木的心材往往含有一些活性成分，可以抑制或毒殺微生物與昆蟲。早在 1924 年，Hawley 等人 (1924) 研究指出，心材的天然耐腐朽性大於邊材，而且進一步證實心材內的微量抽出物對於微生物及真菌等之生長確實具有抑制效果，而根據 Hart (1989) 研究指出，心材的耐腐朽性，是由於心材具有較多的抽出物，換言之，抽出物的良好耐腐朽能力是由單一成分或是各成分聚合後所造成。

不僅現代的研究指出天然耐腐朽材之功能來自於心材，甚至連古老的祖先也已經知道將樹木心材應用在建築物上。在西元 10 世紀左右，耶路撒冷就開始使用黎巴嫩香柏 (*Cedrus libani*) 之木材建造廟宇，不只是其具有適當的密度和尺寸，最重要的是它的耐久性；羅馬人甚至把夏橡 (*Quercus robur*)、松木 (*Pinaceae*) 和柏木 (*Cupressaceae*) 之邊材去除，只使用心材來建造房屋；中國雲南以及廣東地區的居民也是利用心材建造房屋 (Zhong and Chen, 1986)。

評估木材耐腐朽性的程度，各國的標準或是試驗方法都不盡相同 (Eaton and Hale, 1993)，但在實驗室進行木材耐腐朽性測試時，通常是以土壤木塊試驗 (Soil block test) 為主要評估方法，即將木塊置入一個腐朽菌 (Decay fungi) 適合生長的環境中，經過一段時間的腐朽，計算木塊重量損失，以評估木材耐腐朽能力。如英國建築研究協會 (Building research establishment, BRE) 利用 4 種褐腐菌分別為 *Serpula lacrymans*、*Coniophora puteana*、*Gloeophyllum trabeum*、*Antrodia vaillantii* 及 2 種白腐菌 *Pycnoporus sanguineus* 和 *Trametes versicolor* (*Coriolus versicolor*) 進行耐腐朽試驗，依試驗結果，BRE 對於木材耐腐朽性程度進行分級，依其耐腐朽程度好壞分為 5 級 (表 1)，分別為易腐朽性 (Perishable)，木材重量損失率大於 30%；無耐腐朽性 (None durable)，木材重量損失率 10—30%；中耐久性 (Moderately durable)，木材重量損失率 5—10%；耐久性 (Durable) 木材重量損失率 1—5%；高耐久性 (Very durable) 木材重量損失率小於 1%。

表 1 英國建築研究協會之耐腐朽性分類

Table 1 Natural durability classes from BRE (Eaton and Hale, 1993)

Durability class	Temperate conditions (year)	Tropical conditions (year)	Lab. conditions (% weight loss)
Perishable	< 5	< 2	> 30
None durable	> 5–10	> 2–5	> 10–30
Moderately durable	> 10–15	—	> 5–10
Durable	> 15–25	> 5–10	> 1–5
Very durable	25+	10+	< 1

Scheffer and Cowling (1966) 將北美常用的木材進行耐腐朽能力分級，分為高耐腐朽性 (Very resistant)、中耐腐朽性 (Moderately resistant) 及無耐腐朽性 (Nonresistant)，分級結果如表 2 所示，西洋杉 (Cedars) 以及白櫟 (White oak) 屬於高耐腐朽材，花旗松 (Douglasfir) 則為中耐腐朽材，山毛櫸 (Beech) 及白楊 (Aspen) 都屬於無耐腐朽材。

表 2 北美材耐腐朽性之分級

Table 2 Grouping of some heartwood of decay resistance in North America (Scheffer and Cowling, 1966)

Resistant or very resistant	Moderately resistant	Slightly or nonresistant
Baldcypress (old growth)	Baldcypress (new growth)	Alder
Arizona cypress	Douglasfir	Ashs
Black cherry	Eastern white pine	Aspen
Black walnut	Honey locust	Basswood
Black locust	Longleaf pine	Beech
Bur oak	Slash pine	Birches
Catalpa	Swamp chestnut oak	Cottonwood
Cedars	Tamarack	Elms
Chestnut oak	Western larch	Hackberry
Junipers		Hemlocks
Mesquite		Hickories
Oregon white oak		Maples
Osage orange		Poplars
Pacific yew		Red and black oak
Post oak		Spruces
Red mulberry		Sweetgum
Redwood		Sycamore
Sassafras		True firs
White oak		Willows
Western red cedar		Yellow poplar

造成木材劣化的生物因子相當多，例如腐朽菌、昆蟲、白蟻（Termite）及海蟲（Marine borer）等，而木材天然耐久性主要是與心材形成時所產生的化合物有關。然而，即使是高耐久木材，也可能只是對於某幾個生物因子有抵抗能力，無法全面性的抑制，此乃各種生物生存的條件不盡相同，因此在進行耐腐朽試驗

時，必須因時制宜，如此試驗結果才能應用於實際狀況。

(II) 抽出物之耐腐朽活性

木材主要抽出物依化學結構可分為3大類(表3)，包括聚酚類(Polyphenols)、萜類(Terpenoids)及其他化合物(Kai, 1991)，而聚酚類包括木酚素(Lignans)、黃酮類(Flavonoids)、醌類(Quinones)、二苯乙烯類(Stilbenes)以及單寧(Tannins)等；萜類是以異戊間二烯(Isoprene)為基本單元所構成，再依據異戊間二烯單元的倍數，可分為單萜類(Monoterpenoids)、倍半萜類(Sesquiterpenoids)、二萜類(Diterpenoids)、三萜類(Triterpenoids)、四萜類(Tetraterpenoids)及多萜類(Polyterpenoids)等；而其他化合物包括生物鹼(Alkaloids)及蛋白質(Proteins)等。



表 3 木材抽出物之分類

Table 3 Class of wood extract (吳季玲, 2005)

Class	Sub-class	Skeleton
Polyphenols	Benzoquinones	C ₆
	Naphthoquinones	C ₆ -C ₄
	Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆
	Flavonoids	C ₆ -C ₃ -C ₆
	Norlignans	C ₆ -C ₃ -C ₂ -C ₆
	Lignans	(C ₆ -C ₃) ₂
	Condensed tannins	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n
Terpenoids	Monoterpenoids	C ₁₀ H ₁₆
	Sesquiterpenoids	C ₁₅ H ₂₄
	Diterpenoids	C ₂₀ H ₃₂
	Sesterpenoids	C ₂₅ H ₄₀
	Triterpenoids	C ₃₀ H ₄₈
	Tetraterpenoids	C ₄₀ H ₆₄
	Polyterpenoids	(C ₅ H ₈) _{2n}
Other compounds	Alkaloids	
	Proteins	

1. 聚酚類化合物抗菌活性

聚酚類化合物是以酚為單元的基本結構，大量分布在木材各部位，並與樹木的耐久性以及材色有著密不可分的關係。Chang等人（1999）由臺灣杉心材甲醇抽出物所分離出來的木酚素Taiwanin C、Savinin、Hinokiol及Helioxanthin，經由抗腐朽菌試驗得知，只有Taiwanin C對*Laetiporus sulphureus*褐腐菌與*T. v.*白腐菌有抗菌效果。Kawamura等人（2004）研究指出，*Gmelina arborea*心材甲醇抽出物之乙酸乙酯可溶部所純化得的4種木酚素（7'-*O*-Ethyl arboreal、Epieudesmin、

Gmelinol及Paulownin) 對 *T. v.* 白腐菌具有抗菌效果；相對地，Rudman (1965) 發現，Conidendrin、Cyclooolivil、Pinoresinol和Matairesinol等4種木酚素則無顯著的耐腐朽性。

黃酮類一直扮演著植物抗生素的角色，可抵禦外來侵略的生物，在 Pilotti 等人(1995)研究指出，黃花梨(*Pterocarpus indicus*)心材甲醇抽出物對 *Fomitopsis palustris* 與 *T. v.* 有顯著之抗菌性，再進一步從乙醚分離部所得之無色結晶為 Angolensin，對於 *T. v.* 之最小抑制濃度為 100 µg/mL，可見 Angolensin 抑制 *T. v.* 的生長相當有效。Mihara 等人 (2005) 研究發現，從耳莢相思樹 (*Acacia auriculiformis*) 分離得到 3,4',7,8-Tetrahydroxyflavanone 和 Tetracacidin 2 種化合物，具相當有效的抗腐朽菌活性。但是 Rudman (1965) 指出，Taxifolin、Dihydrorobinetin 和 Quercetin 等 30 種黃酮類對於腐朽菌無顯著之抗菌活性，這也說明此類化合物的抑制真菌效果不是絕對的。

2. 萜類化合物抗菌活性

萜類是以異戊間二烯為單元所構成，其碳數在 15 以下 (單萜與倍半萜) 通常存在於揮發性的植物精油中，而碳數大於 20 以上則來自於樹脂(Dudareva *et al.*, 2005)。抗菌效果的化合物大多存在於精油中，以單萜類為例，Tropolone 是與單萜類相類似之不飽合七碳環化合物，常見於柏科 (Cupressaceae) 植物中，如 Hinokitiol (β -Thujaplicin)、 β -Dolabrin 和 γ -Thujaplicin 對木材腐朽菌 *Daedalea dickinsii*、*T. v.*、*Lenzites betulina*、*Pycnoporus coccineus* 及 *Schizophyllum commune* 的最小抑制濃度 (Minimum inhibitory concentration, MIC) 值在 0.2–25 µg/mL 之間，顯示這 3 種 Tropolone 類的化合物有非常良好的抑制效果 (Inamori *et al.*, 2000)。

在倍半萜類方面，本實驗室由臺灣杉心材甲醇抽出物所分離出來的倍半萜類化合物 α -Cadinol、T-Muurolol 及 T-Cadinol 對 *L. s.* 褐腐菌與 *T. v.* 白腐菌都有相當良好抗菌效果，其中以 α -Cadinol 效果最佳，使用濃度為 100 ppm 時，可完全抑制 *L. s.* 和 *T. v.* 生長 (Chang *et al.*, 2000)。Kondo and Imamura (1986) 也證實日本扁柏 (*Chamaecyparis obtusa*) 心材之甲醇抽出物對 *F. palustris* 褐腐菌與 *T. v.* 白腐菌都有很好的抑制效果，進一步分析其主成分得知為倍半萜類之 α -Cadinol、

T-Muurolol、T-Cadinol 和 γ -Cadinene，四者皆為 Cadinane 型化合物。

而在二萜類及多萜類方面，一些學者研究結果也發現此類化合物具有抗腐朽的活性，Chang 等人 (1999) 由臺灣杉心材甲醇抽出物所分離出來的二萜類化合物 Ferruginol 對 *L. s.* 褐腐菌與 *T. v.* 白腐菌都有相當良好抗菌效果。由羅漢松屬 (*Podocarpus* spp.) 木材抽出物所分離純化出來的 Ferruginol 和 Totarol，經由試驗結果得知對 *Lentinus lepideu* 褐腐菌有抑制生長的效果 (Rudman, 1965)。Eberhardt 等人 (1994) 將針葉樹毬果進行耐腐朽試驗，結果發現白雲杉 (*Picea glauca*)、短葉松 (*Pinus banksiana*) 與黃松 (*Pinus ponderosa*) 3 種毬果的乙醚抽出物所含的樹脂酸對 *Irpex lacteus* 白腐菌具抗菌效果。

3. 生物鹼類化合物抗菌活性

生物鹼大多是胺基酸的衍生物，為含氮的鹼性化合物，嚐起來有苦澀味，對於人與動物有藥理反應，所以有時候會被拿來入藥，像是有鎮痛或麻醉作用的嗎啡及可待因或是有抗菌及消炎作用的小藥鹼等都是有名的植物用藥。Cantrell 等人 (2005) 由芸香科植物 *Haplophyllum sieversii* 分離純化出 2 種生物鹼的化合物，分別為 Flindersine 和 Haplamine，其對 2 種植物病原菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 和 *Colletotrichum acutatum* 都具有相當良好的抗菌活性。

(III) 腐朽菌降解木材之可能機制

木材常見的腐朽菌有許多種，其中危害較大的為白腐菌與褐腐菌，而褐腐菌佔所有腐朽木材的三分之二，這兩種腐朽菌同屬於真菌界 (Fungi) 中的擔子綱 (Basidiomycetes)，觀察其在腐朽狀況，白腐菌以相似的速率降解木材的三大主成分，降解後的木材顏色變淡、質地變軟、外型及體積變化較小，在殘留纖維素的聚合度是高於褐腐菌腐朽木材後的纖維素；在褐腐菌方面，褐腐菌會分泌水解酵素分解細胞壁，使木材結構呈現破碎狀，逐漸地細胞壁開始潰陷並萎縮，最後材質會變脆而顏色變深褐色。如圖 1 所示，松木受 *Coniophora cerebella* 褐腐菌腐朽後木材三大主成分之重量損失情形，它以分解纖維素及半纖維素為主，而木質素降解較少，大概只降解約 10% 左右 (Shimada and Higuchi, 1991)。

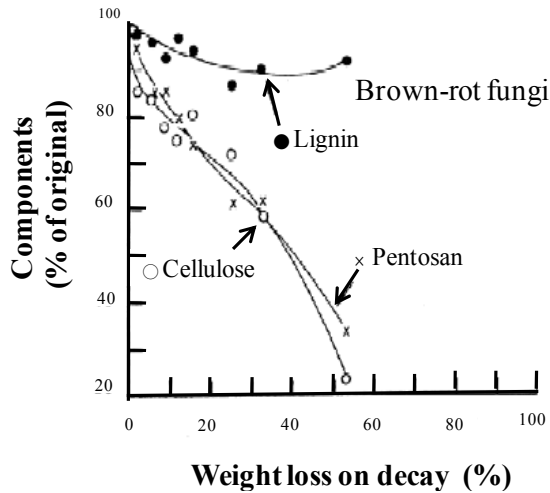


圖 1 松木受褐腐菌腐朽其木材主成分之損失情形

Fig. 1 Progressive loss of major wood components from pine wood upon decay by brown rot fungus (Shimada and Higuchi, 1991)

圖2為甜楓 (*Liquidambar styraciflua*) 邊材經 *T. v.* 白腐菌腐朽時木材各主成分之變化，當重量損失率不大時，木質素之降解速率較碳水化合物稍快些，而當重量損失率達約50%時，降解速率以碳水化合物稍快。由此結果得知，*T. v.* 白腐菌能同時分解木材中木質素以及碳水化合物 (Shimada and Higuchi, 1991)。

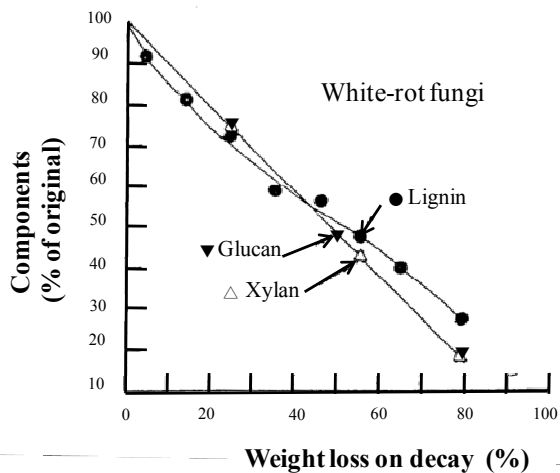


圖 2 甜楓邊材受白腐菌腐朽其木材主成分之損失情形

Fig. 2 Progressive loss of major wood components from sweetgum upon decay by white rot fungus (Shimada and Higuchi, 1991)

然而，白腐菌與褐腐菌之所以能夠侵入木材內部主要與它們生長的環境及食物的來源有關，在適當生長環境下，腐朽菌便開始分解木材，導致木材產生降解及腐朽，因此，許多研究便開始探討腐朽菌腐朽木材之機制。

1. 白腐菌降解木材機制

Leonowicz 等人 (1999) 統整探討白腐菌降解木材的酵素，整理成表 4，其可分為三大類：第一類為纖維素酶 (Cellulase)、木聚糖酶 (Xylanase)、甘露糖酶 (Mannanase)、酚氧化酶 (Phenoloxidase)、雙氧酶 (Dioxygenase) 等酵素，主要的作用是將木材的主成分直接降解；第二類的酵素包括超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 和乙二醛氧化酶 (Glyoxal oxidase, GLO) 等，這些酵素不會直接降解木材主成分，而是協助第一類酵素進行反應，稱為合作 (Cooperation) 酵素；第三類酵素含 Glucose 1-oxidase (GOD)、Cellobiose quinone oxidoreductase (CBQ) 和 Cellobiose dehydrogenase (CDH) 等，這些酵素在降解過程中，扮演結合代謝鏈 (Metabolic chains) 的角色，能夠自行參與反應或和其他酵素產生協同作用，稱為反饋 (Feed back) 酵素。而分解纖維素較重要的酵素為纖維素酶，此種酵素在水解纖維素時，又可分為三種，第一種可任意水解纖維素分子鏈上非結晶區內之 β -1,4-Glucoside 鍵結，稱為內切纖維素酶 (Endo-1,4- β -glucanase)，又稱為 Cx 酵素；第二種可催化 β -1,4-Glucoside 鍵結末端基之水解，並使纖維素結晶區分子鏈非還原性末端基放出纖維二糖 (Cellobiose)，稱為外切纖維素酶 (Exo-1,4- β -glucanase)，又稱為 C1 酵素，包括有 Cellobiohydrolase (CBH) 和 Glucohydrolase (GCH)，第三種則是在 Cello-oligosaccharides 水解反應中將 Cellobiose 移除，這樣一來有助於外纖維素酶與內纖維素酶繼續進行水解反應，稱為 β -葡萄糖苷酶 (β -Glucosidase)。酚氧化酶包括 Lignin peroxidase (LiP)、Manganese-dependent peroxidase (MnP) 和漆酶 (Laccase) 等，為分解木質素之主要酵素，這些酵素藉由氧化作用破壞木質素，使木質素烷基側鏈、苯基鍵結的斷鍵及去甲氧基等反應，形成醌類與其他低分子量的劣解物，使得木質素降解。

表 4 木質纖維降解酵素之作用

Table 4 Enzymes acting in lignocellulose degradation processes (Leonowicz *et al.*, 1999)

Recommended name	Systematic name	EC number	Reaction
Endo-1,4-β-glucanase	1,4-(1,3;1,4)-β-D-Glucan-4-glucanohydrolase	3.2.1.4	Endohydrolysis of 1,4-β-D-glucosidic linkages
Exo-1,4-β-glucanase	1,4-β-D-Glucan cellobiohydrolase	3.2.1.91	Hydrolysis of 1,4-β-D-glucosidic linkages releasing
	1,4-β-D-Glucan glucohydrolase	3.2.1.?	Hydrolysis of 1,4-β-D-glucosidic linkages releasing
β-Glucosidase	β-D-Glucoside glucohydrolase	3.2.1.21	Hydrolysis of terminal nonreducing β-D-glucose residues with release of β-D-glucose
Endo-1,4-β-xylanase	1,4-β-D-Xylan xylanohydrolase	3.2.1.8	Endohydrolysis of 1,4-β-D-xylosidic linkages in xylans
β-Xylosidase	1,4-β-D-Xylan xylanohydrolase	3.2.1.37	Hydrolysis of 1,4-D-xylans to remove successive D-xylose residues
α-L-Arabinofuranosidase	α-L-Arabinofuranoside arabinofuranohydrolase	3.2.1.55	Hydrolysis of terminal nonreducing α-L-arabinofuranoside residues in α-L-arabinosides
Acetylerase	Acetic-ester acetylhydrolase	3.1.1.6	An acetic ester + H ₂ O = an alcohol + acetate
α-Glucuronidase	α-D-Glucuronoside glucuronohydrolase	3.2.1.?	α-D-glucuronoside + H ₂ O = an alcohol + D-glucuronate
Endo-1,4-β-mannanase	1,4-D-Mannan mannanohydrolase	3.2.1.78	Random hydrolysis of 1,4-β-D-mannosidic linkages in mannans
β-Mannosidase	β-D-Mannoside mannohydrolase	3.2.1.25	Hydrolysis of terminal, nonreducing β-D-mannose residues in β-D-mannosides
α-Galactosidase	α-D-Galactoside galactohydrolase	3.2.1.22	Hydrolysis of terminal α-D-galactose residues in α-D-galactosides
Ligninase		1.11.1.14	Catalyses several oxidations in alkyl side chains, C-C cleavage in side chain of lignin, cleavage of aromatic ring, oxidation of benzyl alcohols to aldehydes
Manganese-dependent peroxidase		1.11.1.13	Catalytically dependent on H ₂ O ₂ and Mn ²⁺ ions
Laccase	Benzendiol:oxygen oxidoreductase	1.10.3.2	4-Benzendiol + O ₂ = 4-benzosemiquinone + 2H ₂ O
Horseradish peroxidase	Donor:hydrogenperoxide oxidoreductase	1.11.1.7	Donor + H ₂ O ₂ = oxidized donor + 2H ₂ O
Protocatechuic 3,4-dioxygenase	Protocatechuate:oxygen 3,4-oxidoreductase	1.13.11.3	3,4-Dihydroxybenzoate + O ₂ = 3-carboxy- <i>cis,cis</i> muconate
Catechol 1,2-dioxygenase	Catechol:oxygen 1,2-oxidoreductase	1.13.11.1	Catechol + O ₂ = <i>cis,cis</i> muconate
Superoxide dismutase	Superoxide:superoxide oxidoreductase	1.15.1.1	O ₂ ⁻ + O ₂ ⁻ + 2H ⁺ = O ₂ + H ₂ O ₂
Glyoxalate oxidase	Glyoxylate:oxygen oxidoreductase	1.2.3.5	Glyoxylate + H ₂ O ₂ + O ₂ = oxalate + H ₂ O ₂
Glucose-1-oxidase	β-D-Glucose:oxygen 1-oxidoreductase	1.1.3.4	β-D-Glucose + O ₂ = D-glucono-1,5-lactone + H ₂ O ₂
Aryl alcohol oxidase	Aryl-alcohole:oxygen oxidoreductase	1.1.3.7	An aromatic primary alcohol + O ₂ = aromatic aldehyde + H ₂ O ₂
Pyranose-2-oxidase	Pyranose:oxygen 2-oxidoreductase	1.1.3.10	D-Glucose + O ₂ = 2-dehydro-D-glucose + H ₂ O ₂
Cellobiose:quinone oxidoreductase	Cellobiose:quinone 1-oxidoreductase	1.1.5.1	Cellobiose + quinone = cellobiono-1,5-lactone + phenol
Cellobiose dehydrogenase	Cellobiose:(acceptor) 1-oxidoreductase	1.1.99.18	Cellobiose + acceptor = cellobiono-1,5-lactone + reduced acceptor

2. 褐腐菌降解木材機制

然而，在褐腐菌降解木材的系統中，一般認為它有別於白腐菌纖維素酶或酵素的催化系統，是因為褐腐菌降解木材的速率遠大於白腐菌，所以 Koenigs (1974) 認為褐腐菌是利用除了酵素系統以外，另以非酵素 (Nonenzymatic) 氧化反應降解纖維素，即以芬頓反應引發的氫氧自由基 (Hydroxyl radical) 使纖維素降解。Green and Highley (1997) 歸納前人的研究結果得知，褐腐菌降解木材時，先將全纖維素分解，且在木材重量損失率不高時，機械強度即明顯的降低，並產生許多小分子物質，由此得知低分子量的非酵素物質與芬頓反應為大多數褐腐菌降解木材的原因及機制 (圖 3)，其中，Oxalic acid 可作為螯合劑，參與腐朽初期的反應，並可幫助菌絲滲入木材細胞中。

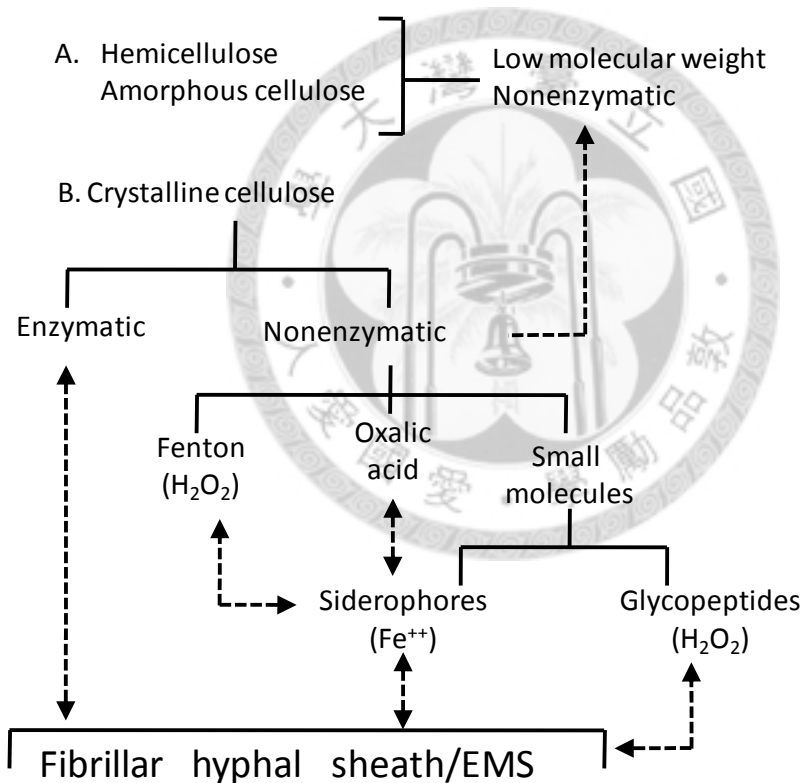


圖 3 褐腐菌降解之可能機制

Fig. 3 Proposed mechanisms of brown-rot decay (Green and Highley, 1997)

(IV) 木材天然耐腐朽性可能機制

一般認為天然耐久木材是由於其心材具有許多毒殺真菌之成分，因此，許多

學者認為藉由純化及分離過程，可尋得具有殺菌劑功能之化合物。但實際應用上由於抽出物的量太少，具活性之化合物的量更是少之又少，與低毒性人工合成藥劑相較成本較高，故大家還是只願意使用較低毒性的人工合成藥劑。

Schultz 等人 (1995) 的研究結果發現，桑橙樹 (*Maclura pomifera*, Osage orange) 心材耐腐朽性之抽出物雖具有抑制真菌生長的能力，然而其抑制真菌效果卻比一般殺菌劑差，所以大家開始懷疑，是否天然久材之活性不只是心材內之殺菌成分。Schultz and Nicholas (1998) 提出心材抽出物中不僅具毒殺活性成分亦具抗氧化活性成分，之後，認為心材抽出物具有抑菌及抗氧化的雙重效果外，甚至與金屬螯合能力也可能有關係 (Green and Schultz, 2003)。為了證明此假說，Schultz and Nicholas (2000) 作了一個模擬試驗，比較商用的抗氧化劑 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) 與殺菌劑 Propiconazole 單獨使用與混和使用對木材耐腐朽能力之影響，說明殺菌劑與抗氧化劑結合後的抑菌效果更好。他們將不同條件處理過的 Southern yellow pine (*Pinus spp.*, SYP) 邊材進行耐腐朽試驗，使用的腐朽菌為 *G. t.* 褐腐菌，試驗結果顯示，單獨以 5%BHT 處理的木塊經 *G. t.* 腐朽後強度損失率為 97.3%，與對照組 96.7 和 98.3% 相當 (表 5)，而且使用 0.01 和 0.03% 低濃度殺菌劑處理的木材與對照組的強度損失率也是相差無幾。殺菌劑濃度提高至 0.12%，木材的強度損失率才降到 30.8%。而當殺菌劑與 5% 抗氧化劑混合使用時，即使與最低劑量 (0.01%) 的殺菌劑相混和，木材之強度損失率已降至 39.1%；而使用最大劑量 (0.12%) 的殺菌劑，其強度損失率可低至 12.7%。由此可以說明在無殺菌能力的抗氧化劑協助下，殺菌劑對木材耐腐朽可大幅的提升，亦間接證明在心材抽出物中，某些殺菌劑可能是必須在抗氧化劑的協助下才能展現其耐腐朽效果。

表 5 不同條件處理過 Southern yellow pine 的邊材以 *G. t.* 褐腐菌進行耐腐朽試驗後之平均強度損失率 (%)

Table 5 Average % strength loss for SYP sapwood samples treated with the biocide propiconazole (Prop.) and exposed to the brown-rot fungus *G. t.* (Schultz and Nicholas, 2000)

Treatment	Average retention (kg m ⁻³)		Average strength loss (%)
	Propiconazole	BHT	
Control set 1	0	0	96.7 (0.5)
Control set 2	0	0	98.3 (2.1)
5% BHT	0	28.8	97.3 (1.9)
0.01% Prop.	0.1	0	95.5 (0.8)
0.03% Prop.	0.2	0	93.9 (1.5)
0.06% Prop.	0.3	0	69.9 (16.8)
0.12% Prop.	0.7	0	30.8 (6.7)
0.01% Prop. + 5% BHT	0.1	28.6	39.1 (2.2)
0.03% Prop. + 5% BHT	0.2	29.1	41.1 (2.8)
0.06% Prop. + 5% BHT	0.3	28.6	30.6 (6.2)
0.12% Prop. + 5% BHT	0.7	29.1	12.7 (5.1)

Binbuga 等人 (2008) 的研究結果指出，有金屬螯合能力以及有鐵離子還原能力的化合物結合殺菌劑是有加成的效果，因此分別選擇 3 種化合物 5-Hydroxychromone (5-OH C)、5-Hydroxyflavone (5-OH F) 及 Chromone (C)，前兩者是將抽出物改質而得之化合物，在 C5 的位置上接上氫氧基。此 3 個化合物之活性如下：5-OH C 化合物之金屬螯合能力、鐵離子還原能力以及抗菌效果都相當好，但沒有抗氧化能力；5-OH F 化合物具有相當好鐵離子還原能力，但沒有抗氧化能力，也沒有抗菌效果；C 化合物沒有抗菌效果。試驗之腐朽菌選用

G. t. 褐腐菌，他們以不同藥劑組合方式處理南方松邊材進行木塊耐腐朽試驗，試驗結果如表 6 所示，由此發現在 Set 2 中 5-OH F 之濃度為 2.5% 時，如與殺菌劑結合後，有加成的效果，產生良好的抑制褐腐菌生長之效果，由此顯示金屬還原能力可能是抑制褐腐菌生長的原因之一。而在 Set 1 中，5-OH C 與殺菌劑結合後，壓縮強度產生加成效果，亦即具有更佳的抗褐腐菌效果，顯示金屬螯合能力在抗褐腐菌上亦為一重大因素。

表 6 不同條件處理過南方松邊材以 *G. t.* 褐腐菌進行耐腐朽試驗 5 週後之平均壓縮強度

Table 6 Fungicidal activity of selected compounds using the brown-rot fungus *G. t.* and southern pine sapwood for five weeks, as determined using wood strength following fungal inoculation (Binbuga *et al.*, 2008)

	Avg. Rtn. (g m ⁻³)	Avg. Stress (g mm ⁻²)
Set 1 5-Hydroxychromone (5-OH C)		
Controls, acetone treatment	0	0
0.04% Propiconazole (Prop.)	182	128
0.08% Prop.	367	143
0.04% Prop./1.0% 5-OH C	194/5000	207
0.08% Prop./1.0% 5-OH C	381/5000	204
0.04% Prop./2.5% 5-OH C	193/12000	208
0.08% Prop./2.5% 5-OH C	396/12000	203
1.0% 5-OH C	5000	164
2.5% 5-OH C	12000	188
Controls, unexposed to <i>G. t.</i>	0	212; 207

表 6 不同條件處理過南方松邊材以 *G. t.* 褐腐菌進行耐腐朽試驗 5 週後之平均壓縮強度(續)

Table 6 Fungicidal activity of selected compounds using the brown-rot fungus *G. t.* and southern pine sapwood for five weeks, as determined using wood strength following fungal inoculation (continued) (Binbuga *et al.*, 2008)

	Avg. Rtn. (g m ⁻³)	Avg. Stress (g mm ⁻²)
Set 2 5-Hydroxyflavone (5-OH F)		
Controls, acetone treatment	0	0
0.04% Prop.	165	89
0.08% Prop.	351	98
0.04% Prop./1.0% 5-OH F	170/5000	93
2.5% 5-OH F	12000	171
Controls, unexposed to <i>G. t.</i>	0	221; 230
Set 3 Chromone (C)		
Controls, acetone treatment	0	0
0.04% Prop.	155	96
0.08% Prop.	353	110
0.04% Prop./1.0% C	187/5000	117
0.08% Prop./1.0% C	376/5000	159
0.04% Prop./2.5% C	190/12000	166
0.08% Prop./2.5% C	382/12000	174
1.0% C	5000	0
2.5% C	12000	0
Controls, unexposed to <i>G. t.</i>	0	192; 182

III、材料與方法

(I) 試驗材料

1. 樹種

本研究所使用之闊葉樹試材為相思樹 (*Acacia confusa* Merr.) 伐自國立臺灣大學實驗林水里營林區第 15 林班，地號為 77-08 造林地，樹齡為 39 年；針葉樹試材為臺灣杉 (*Taiwania cryptomerioides* Hay.) 伐自國立臺灣大學溪頭實驗林第 2 林班，地號 56-1 造林地，樹齡為 40 年。相思樹與臺灣杉伐採後皆取其心材為試驗材料，並利用刨花機將試材製成刨屑，氣乾後進行成分之萃取與分離。另外，將相思樹及臺灣杉之心材與邊材，柳杉 (*Cryptomeria japonica* D. Don) 與楓木 (*Acer serrulatum* Hay.) 之邊材製成 20 mm (T) × 20 mm (R) × 10 mm (L) 長方體供木塊耐腐朽試驗試材。

2. 菌株

本研究採用 4 株木材腐朽菌，其種類如表 7 所示，分別為 *Lenzites betulina* (*L. b.*) 和 *Trametes versicolor* (*T. v.*) 2 株白腐菌以及 *Laetiporus sulphureus* (*L. s.*) 和 *Gloeophyllum trabeum* (*G. t.*) 2 株褐腐菌，此 4 株菌株皆購自於生物資源保存及研究中心 (Bioresource Collection and Research Center, BCRC)。

表 7 耐腐朽性試驗使用之菌種

Table 7 Wood rot fungi used for antifungal test

種類	學名	BCRC No.
白腐菌	<i>Lenzites betulina</i> (Fr.) Fr.	35296
	<i>Trametes versicolor</i> (L.:Fr.) Pilat	35253
褐腐菌	<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.: Fr.)	36412
	<i>Gloeophyllum trabeum</i> (Pers.: Fr.)	31614

3. 培養基

抗菌試驗所採用之培養基為馬鈴薯葡萄糖固態培養基 (Potato dextrose agar, PDA, Merck)。

(II) 試驗方法

1. 抽出物萃取

氣乾刨屑以乙醇冷浸萃取 2 次，每次浸泡 7 天，所收集之萃取液以 Whatman #1 濾紙抽氣過濾以去除雜質，澄清之萃取液以減壓濃縮機 (Rotatory vacuum evaporator) 進行濃縮，再以冷凍乾燥機乾燥。

2. 抽出物分離與純化

抽出物利用不同極性之溶劑進行液相—液相分配 (Liquid-liquid partition)，所得的可溶部，配合抗氧化活性及抗腐朽菌活性試驗，篩選有效之可溶部，並將該可溶部依照極性高低，選擇適當層析系統進行細部分離，其中包括薄層層析 (Thin layer chromatography, TLC)、管柱層析 (Column chromatography, CC) 及高效能液相層析 (High performance liquid chromatography, HPLC)。

(1) 液相—液相分配

相思樹與臺灣杉心材乙醇抽出物依照不同極性溶劑，進行液相—液相分配，相思樹可得 3 個可溶部，依序為乙酸乙酯 (EA)、正丁醇 (*n*-BuOH) 及水 (Water) 可溶部；而臺灣杉則得正己烷 (*n*-Hex)、乙酸乙酯 (EA)、正丁醇 (*n*-BuOH) 及水 (Water) 共 4 個可溶部。計算各可溶部之收率，續以抗氧化活性及抗腐朽菌活性試驗結果，進行後續之分離純化。

(2) 管柱層析

取相思樹乙酸乙酯可溶部 (具抗氧化活性可溶部) 43 g，以 430 g RP-18 矽膠進行管柱層析之初步分離，沖提溶劑為甲醇與水之混合液及四氫呋喃 (Tetrahydrofuran, THF)，並收集該可溶部之沖提液，沖提液每 5000—6000 mL 更換一次極性，每 1000 mL 收集一瓶，續以薄層層析將成分類似者予以合併，分別為 EA1 (10—20% MeOH)、EA2 (30% MeOH)、EA3 (30% MeOH)、

EA4 (30–40% MeOH)、EA5 (40–50% MeOH)、EA6 (50–60% MeOH)、EA7 (60% MeOH)、EA8 (70–80% MeOH)、EA9 (80–100% MeOH) 及 EA10 (100% THF) 共 10 個次分離部；取臺灣杉正己烷可溶部 (具抗腐朽菌活性可溶部) 75 g，以 1000 g Si-60 矽膠進行管柱層析，沖提溶劑為正己烷與乙酸乙酯之混合液及 95% 乙醇，每 1000 mL 收集一瓶，再根據薄層層析結果將成分類似者予以合併，分別為 Hex1 (0–5% EA)、Hex2 (5% EA)、Hex3 (5% EA)、Hex4 (5–10% EA)、Hex5 (10% EA)、Hex6 (10–15% EA)、Hex7 (15–40% EA)、Hex8 (40–70% EA)、Hex9 (70–80% EA) 及 Hex10 (80% EA–95% EtOH) 共 10 個次分離部。

(3) 高效能液相層析

藉由抗氧化活性及抗腐朽菌活性試驗，由相思樹及臺灣杉各次分離部中篩選出具抗氧化及抗腐朽菌活性之次分離部，續以高效能液相層析進行分離純化。

相思樹次分離部之純化使用高壓幫浦 (HP-1200, Agilent, USA)，偵測器則採多波長檢測器 (Photodiarray)，分離管柱採用半製備級 (Phenomenex Luna C18 (2), 250 mm × 10 mm, 5 μm)，移動相的溶液系統則採二液混合比例模式，A 液為水，B 液為甲醇，樣品注射量 500 μL，流速 4 mL/min。各次分離部之分離條件為 EA1–4 起始階段 0 min (A : B 混合比為 85 : 15)，依序為 20 min (A : B = 70 : 30)、50 min (A : B = 50 : 50) 及 55 min (A : B = 0 : 100)；EA5–9：起始階段 0 min (A : B 混合比為 60 : 40)，依序為 20 min (A : B = 40 : 60) 及 28 min (A : B = 0 : 100)。

臺灣杉次分離部之純化使用高壓幫浦 (L-7150, Hitachi, Japan)，檢測器為折射率檢測器 (Refractive Index detector, L-7490, Hitachi, Japan)，採用半製備級之分離管柱 (Phenomenex Luna Silica (2), 250 mm × 10 mm, 5 μm)，移動相的溶液系統則採二液混合比例模式，A 液為正己烷，B 液為乙酸乙酯，樣品注射量 500 μL，流速 4 mL/min。各次分離部之分離條件為 Hex2 (A : B = 95 : 5)；Hex3 (A : B = 90 : 10)；Hex4 (A : B = 85 : 15)；Hex5 (A : B = 75 : 25)。

3. 化合物結構鑑定

本研究所使用之分析儀器包括：Finnigan MAT-95S 質譜儀分析 (EIMS)；Bruker Avance-500 MHz 傅立葉轉換核磁共振光譜分析(^{13}C -NMR 和 ^1H -NMR)。進行核磁共振光譜分析時，並配合二維核磁共振分析技術，如 HSQC (Heteronuclear single quantum coherence) 和 HMBC (Heteronuclear multiple bond correlations) 等，確定化合物之立體結構。

4. 抗氧化活性、總酚含量及總黃酮含量試驗

(1) DPPH 自由基清除試驗

本試驗參考 Tung 等人 (2009a) 試驗方法：取 200 μL DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 乙醇溶液 (0.1 mM)、90 μL Tris-HCl 緩衝液 (50 mM, pH 7.4) 以及 10 μL 不同濃度之試驗樣品加入 96 微量孔盤中，均勻混合後避光靜置 30 min，之後以酵素免疫分析儀 (ELISA reader) 測量 517 nm 吸光值。當 DPPH 自由基被清除愈多時，其吸光值下降的愈多，利用相對於對照組的吸光值減少百分比，可得知各試驗樣品清除 DPPH 自由基能力之強弱。由 DPPH 自由基抑制率之高低，即可得知該試驗樣品提供氫 (Hydrogen donor) 給予自由基能力之強弱。本試驗為 3 次重複。

$$\text{DPPH 自由基抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{實驗組吸光值}}{\text{對照組吸光值}}\right) \times 100$$

(2) 亞鐵離子螯合試驗

本試驗參考 Tung 等人 (2009b) 之試驗方法：先取 200 μL 不同濃度之試驗樣品、740 μL 甲醇及 20 μL 2 mM Fe_2Cl_2 ，均勻混合 30 s，然後再加入 40 μL 5 mM Ferrozine 反應 10 min 後， Fe^{2+} 和 Ferrozine 會形成紫紅色錯合物，其最大吸光值出現於 562 nm，以紫外光/可見光光譜儀測量 562 nm 吸光值。若試驗樣品之金屬螯合能力愈強，其吸光值愈低。本試驗為 3 次重複。

$$\text{金屬螯合能力 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{實驗組吸光值}}{\text{對照組吸光值}}\right) \times 100$$

(3) 總酚含量測定

本試驗參考 Kujala 等人(2000)之 Folin-Ciocalteu 法測定，以五倍子酸(Gallic acid)為標準品進行檢測。試驗時，取 500 μL Folin-Ciocalteu 試劑 (1 N) 加入 500 μL 不同濃度五倍子酸於微量離心管中，混合均勻並靜置 5 min 後，添加 1 mL 20% Na_2CO_3 再靜置 10 min。之後離心 (3000 rpm) 8 min，取上層澄清液，再以紫外光/可見光分光光譜儀測量波長 730 nm 之吸收值，並根據此吸光值與五倍子酸濃度之關係求出標準曲線之迴歸式。在測定樣品方面，則利用抽出物取代五倍子酸，依照相同方法進行反應並測定其吸收值，再將其吸收值帶入上述標準曲線之迴歸式中，求出每克抽出物中所含五倍子酸相對量 (Gallic acid equivalent, GAE)，並以此表示抽出物之總酚含量。本試驗為 3 次重複。

(4) 總黃酮類含量測定

本試驗參考 Tung 等人(2009b)之試驗方法，以 Rutin 為標準品進行檢測。試驗時，分別加入 150 μL AlCl_3 (2%) 及 150 μL 不同濃度 (6.25、12.5、25、50 及 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 之標準品 Rutin 於微量離心管中，混勻後靜置 10 min，利用酵素免疫分析儀測量 435 nm 吸光值，並根據此吸光值與 Rutin 濃度之關係求出標準曲線之迴歸式。至於樣品分析，則以抽出物取代 Rutin，並依照相同方式進行反應與吸收值測量，再將樣品吸光值代入上述迴歸式即可算出每克抽出物中所含 Rutin 相對量 (Rutin equivalent, RE)，並以此表示抽出物中黃酮類化合物之含量。本試驗為 3 次重複。

5. 木塊抽出物萃取

將木塊放入 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱乾燥至恆重 (重量為 W_0)，隨後取出置入索式萃取裝置，利用不同溶劑 (正己烷、乙酸乙酯、正丁醇、水及醇苯)，分別萃取木塊中之抽出物，再放置於 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱乾燥至恆重，取出秤重 (W_1)，每塊木材重量精確至 ± 0.01 g，並計算各溶劑之萃取率 (Yield)。

$$\text{萃取率 (\%)} = \left(\frac{W_0 - W_1}{W_0} \right) \times 100$$

W_0 ：萃取前試材重量

W_1 ：萃取後試材重量

6. 木塊抽出物含浸

柳杉及楓木之木塊經乙醇—甲苯萃取後氣乾，再放入 60°C 烘箱乾燥至恆重（重量為 W_0 ），隨後取出放置於一密閉燒瓶中，抽氣減壓至 25 mbar，持壓 5 min，將 5% 濃度之抽出物（溶於 95% 乙醇溶液）注入燒瓶，木塊含浸於抽出物 40 min，然後將木塊取出，放置於 60°C 烘箱乾燥至恆重，取出秤重（ W_1 ），每塊木材重量精確至 ± 0.01 g，並計算抽出物之留存率（Retention）。

$$\text{留存率 (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_0}{W_0} \right) \times 100$$

W_0 ：含浸抽出物前試材重量

W_1 ：含浸抽出物後試材重量

7. 抗腐朽菌試驗

(1) 固態平板試驗

本研究採用固態培養基方法進行試驗，取馬鈴薯葡萄糖粉末與蒸餾水配成一定濃度（39 g/L）之溶液，然後將抽出物及各個分離部之樣品以 95% 乙醇溶解，加入培養基，混和均勻，之後將腐朽菌接種於培養基上，放置於溫度為 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ，相對濕度為 70% 之生長箱培養。逐日測量菌絲生長直徑，待對照組菌絲長滿培養皿時，測量實驗組之生長直徑，並計算抗菌指數（Antifungal index），本試驗為 3 次重複。

$$\text{抗菌指數 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{實驗組菌絲生長直徑}}{\text{對照組菌絲生長直徑}}\right) \times 100$$

(2) (含浸) 木塊耐腐朽性試驗

本試驗參考 CNS 6717 木材腐朽性試驗法並稍做修改，試驗菌種為 *L. s.* 褐腐菌及 *L. b.* 白腐菌。試驗方法為將石英砂置入培養瓶中，經滅菌處理後，再倒入已滅菌過之培養液，使培養液能覆蓋石英砂表面，待培養液冷卻凝固後，在培養基表面中心移入與試驗木塊 (20 mm (T) × 20 mm (R) × 10 mm (L)) 培養過之菌塊，將培養瓶置於溫度 27 ± 2°C 及相對濕度 70% 的生長箱中，等待接種菌塊上的菌絲長滿整個培養瓶後，在每個培養瓶內移入 3 塊滅菌過的 (含浸後) 試驗木塊，再將培養瓶置於溫度 27 ± 2°C 及相對濕度 70% 的生長箱，培養 12 週後取出試驗木塊，移除木塊上的菌絲，於 60°C 乾燥 48 h 後，取出放置於乾燥器中冷卻後稱重，可得腐朽後試材之絕乾重。木塊經腐朽試驗後的重量損失率 (Weight loss)，計算方式如下：

$$\text{重量損失率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{腐朽後試材之絕乾重}}{\text{含浸後試材之絕乾重}}\right) \times 100$$

8. 統計分析

利用統計分析軟體 SAS (Statistical analysis system) 中之席夫 (Scheffe) 統計方法，檢驗本研究中各個分離部間之各種抗氧化活性及抗腐朽菌活性是否有顯著差異，分析所使用之信賴區間為 95%。

IV、結果與討論

(I) 相思樹與臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之抗氧化活性、總酚及總黃酮含量

相思樹和臺灣杉心材分別以乙醇冷浸法萃取抽出物，其收率（木材重量百分率）如表 8 所示，相思樹心材乙醇抽出物之收率為 5.1%，而臺灣杉心材乙醇抽出物收率為 6.3%。進一步利用液相—液相分配法將相思樹心材抽出物分為 3 個可溶部，其收率以乙酸乙酯可溶部含量(2.4%)最高，依序為正丁醇可溶部(1.8%)及水可溶部 (0.9%)；至於臺灣杉心材乙醇抽出物 4 個可溶部之收率，則以正己烷可溶部含量 (3.2%) 最高，其次依序為乙酸乙酯可溶部 (1.7%)、水可溶部 (0.6%) 及正丁醇可溶部 (0.1%)。為了解相思樹和臺灣杉心材乙醇抽出物各可溶部之抗氧化能力差異，以 DPPH 自由基清除試驗及亞鐵離子螯合試驗等方法初步進行檢測與篩選，並測定總酚類及總黃酮含量。

表 8 相思樹與臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之收率（相對於木材重量百分率）

Table 8 Yields (%) of ethanolic extracts and their soluble fractions from the heartwood of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* (Based on wood weight)

Specimens	<i>A. confusa</i>	<i>T. cryptomerioides</i>
Crude extract	5.1	6.3
<i>n</i> -Hex fraction	—*	3.2
EA fraction	2.4	1.7
<i>n</i> -BuOH fraction	1.8	0.1
Water fraction	0.9	0.6

*No collection.

1. 心材抽出物之抗氧化活性

相思樹與臺灣杉乙醇抽出物及各可溶部清除自由基之能力可利用 DPPH 自由基清除試驗來評估。由試驗結果(圖 4)得知,相思樹心材各可溶部清除 DPPH 自由基之能力,以乙酸乙酯可溶部的效果最佳,其 IC_{50} 值為 $1.4 \mu\text{g/mL}$,而乙醇抽出物、正丁醇可溶部及水可溶部之 IC_{50} 值分別為 2.9、2.6 及 $49.0 \mu\text{g/mL}$,由此顯示相思樹心材各可溶部清除 DPPH 自由基之能力極佳,其中,又以乙酸乙酯可溶部清除 DPPH 自由基之能力最佳,此結論與先前的研究結果相似(Wu *et al.*, 2005)。此外,臺灣杉心材乙醇抽出物及其正己烷可溶部、乙酸乙酯可溶部、正丁醇可溶部與水可溶部清除 DPPH 自由基之 IC_{50} 值分別為 67.0、156.5、35.1、47.2 以及 $111.7 \mu\text{g/mL}$,其中,以乙酸乙酯可溶部清除 DPPH 自由基之能力較佳。由上述結果得知,雖然臺灣杉心材乙醇抽出物的抗氧化活性不如相思樹心材乙醇抽出物。



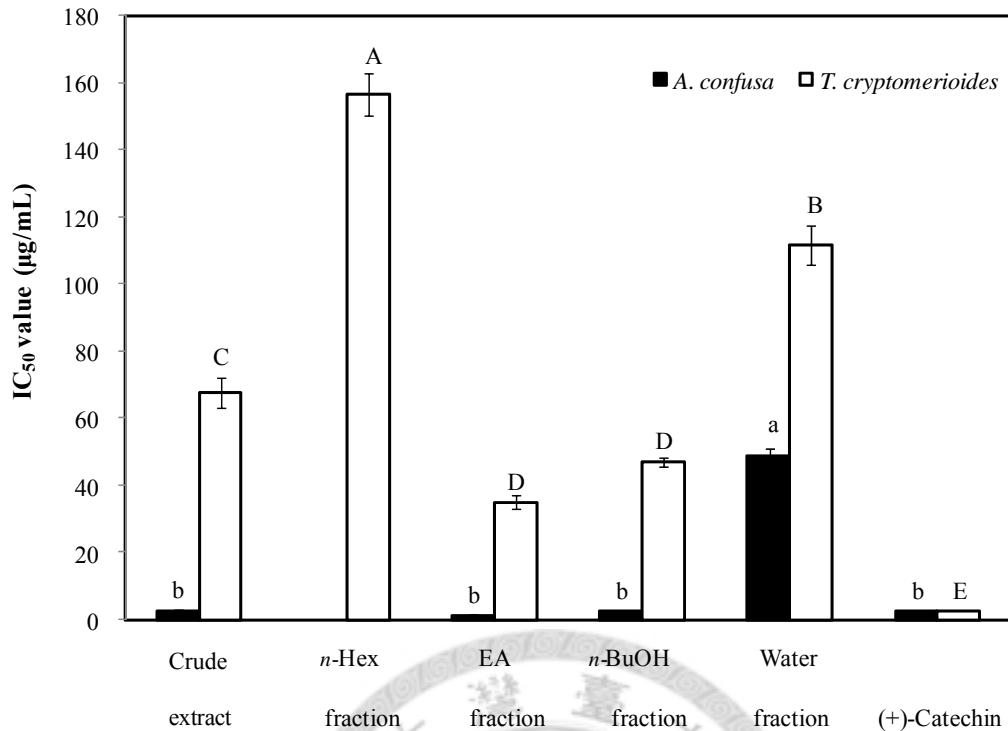


圖 4 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部清除 DPPH 自由基之 IC₅₀ 值

Fig. 4 IC₅₀ value of DPPH free-radical scavenging activity of fractions from ethanolic extracts of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* heartwood measured by DPPH assay. Results are mean \pm SD ($n = 3$). Numbers followed by different letters (a–b ; A–E) are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Scheffe's test.

2. 心材抽出物之亞鐵離子螯合能力

相思樹心材乙醇抽出物、水及正丁醇可溶部螯合亞鐵離子之 IC₅₀ 值分別為 1937.9、687.1 及 2199.2 $\mu\text{g/mL}$ ，僅有乙酸乙酯可溶部之 IC₅₀ 值大於 2500 $\mu\text{g/mL}$ ，而臺灣杉心材各可溶部之亞鐵離子螯合能力如表 9 所示，以水可溶部效果最佳，其 IC₅₀ 值為 480.6 $\mu\text{g/mL}$ ，其次為乙酸乙酯可溶部，其 IC₅₀ 值為 837.8 $\mu\text{g/mL}$ ，而以正己烷及正丁醇之可溶部效果最差，其 IC₅₀ 值皆大於 2500 $\mu\text{g/mL}$ 。比較亞鐵離子螯合能力之結果可以得知，臺灣杉水可溶部之螯合亞鐵離子能力較相思樹為佳，但不論臺灣杉或相思樹皆以水可溶部螯合亞鐵離子之能力最佳。

表 9 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及各可溶部亞鐵離子螯合之 IC₅₀ 值 (μg/mL)

Table 9 IC₅₀ value (μg/mL) of metal chelating activity of fractions from ethanolic extracts of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* heartwood

Specimens	<i>A. confusa</i>	<i>T. cryptomerioides</i>
Crude extract	1937.9 ± 76.7 ^b	> 2500
<i>n</i> -Hex fraction	—*	> 2500
EA fraction	> 2500	837.8 ± 127.6 ^A
<i>n</i> -BuOH fraction	2199.2 ± 201.1 ^a	> 2500
Water fraction	687.1 ± 22.2 ^c	480.6 ± 15.0 ^B
EDTA	6.4 ± 0.1 ^d	6.4 ± 0.1 ^C

Results are mean ± SD (*n* = 3). Numbers followed by different letters (a–d ; A–C) are significantly different at the level of *p* < 0.05 according to the Scheffe's test.

*No collection.

3. 心材乙醇抽出物之總酚及總黃酮含量

相思樹心材乙醇抽出物及其各可溶部之總酚含量如表 10 所示，依序為乙酸乙酯可溶部 (665.9 mg of GAE/g)、正丁醇可溶部 (472.4 mg of GAE/g) 及水可溶部 (52.6 mg of GAE/g)，臺灣杉乙醇心材抽出物各可溶部之總酚含量依序為乙酸乙酯可溶部 (168.0 mg of GAE/g)、正丁醇可溶部 (124.5 mg of GAE/g)、水可溶部 (97.9 mg of GAE/g) 及正己烷可溶部 (24.5 mg of GAE/g)。此外，進一步測定各可溶部之總黃酮含量，其結果如表 11 所示，以相思樹心材乙酸乙酯可溶部含量最高 (242.2 mg of Rutin/g)。比較清除 DPPH 自由基能力、總酚含量及總黃酮含量之結果，皆以乙酸乙酯可溶部最佳。

表 10 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之總酚含量

Table 10 Total phenolic contents (mg of GAE/g) of fractions from the ethanolic extracts of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* heartwood

Specimens	<i>A. confusa</i>	<i>T. cryptomerioides</i>
Crude extract	628.6 ± 8.1 ^b	78.8 ± 0.1 ^D
<i>n</i> -Hex fraction	— [*]	24.5 ± 0.7 ^E
EA fraction	665.9 ± 7.4 ^a	168.0 ± 1.5 ^A
<i>n</i> -BuOH fraction	472.4 ± 11.7 ^c	124.5 ± 0.7 ^B
Water fraction	52.6 ± 0.9 ^d	97.9 ± 4.0 ^C

Results are mean ± SD ($n = 3$). Numbers followed by different letters (a–d ; A–E) are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Scheffe's test. ^{*}No collection.

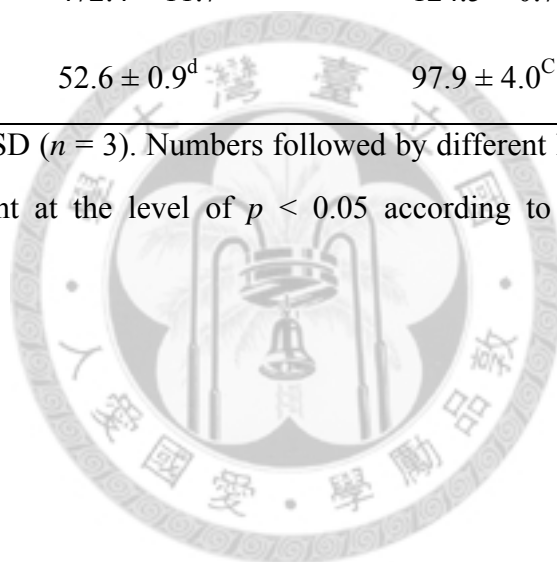


表 11 相思樹及臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部之總黃酮含量

Table 11 Total flavonoid contents (mg of Rutin/g) of fractions from ethanolic extracts of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* heartwood

Specimens	<i>A. confusa</i>	<i>T. cryptomerioides</i>
Crude extract	83.4 ± 1.5 ^b	15.5 ± 0.7 ^A
<i>n</i> -Hex fraction	—	nd ^{**}
EA fraction	242.2 ± 0.9 ^a	22.8 ± 0.4 ^B
<i>n</i> -BuOH fraction	42.9 ± 1.2 ^c	2.6 ± 0.6 ^C
Water fraction	4.0 ± 0.4 ^d	nd

Results are mean ± SD ($n = 3$). Numbers followed by different letters (a–d ; A–C) are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Scheffe's test.

*No collection. **No detection.

(II) 相思樹與臺灣杉木材天然耐腐朽性

為了解相思樹與臺灣杉之天然耐腐朽能力與抽出物之關連性，首先以木塊耐腐朽性試驗評估木材本身之耐腐朽能力，接續利用固態平板試驗探討抽出物對腐朽菌之影響，最後進行木塊耐腐朽性試驗探究抽出物含浸於木材中對其耐腐朽能力之影響。

1. 木材天然耐腐朽性

本試驗將相思樹及臺灣杉心材木塊進行耐腐朽試驗，以釐清相思樹及臺灣杉的耐腐朽能力與抽出物之相關性，所以利用醇苯以及不同極性溶劑萃取其抽出物，以了解不同極性溶劑萃取後木塊之耐腐朽能力。

(1) 相思樹木材天然耐腐朽性

相思樹心邊材經由不同溶劑萃取後之萃取率及腐朽後重量損失率如圖 5 所示，從圖 5a 可以得知，以醇苯、乙酸乙酯、正丁醇及水等不同溶劑萃取相思樹心材木塊，其萃取效果隨溶劑極性愈大而愈佳，其中，以水萃取之收率(11.2%)最高，比一般常用之溶劑—醇苯(E-T)萃取率(5.6%)為大，換言之，萃取相思心材木塊抽出物之最佳溶劑為水；而邊材之醇苯萃取率(圖 5b)為 2%，顯示邊材抽出物含量較心材低。

不同處理之相思樹心材腐朽後之重量損失率如圖 5c 所示，*L. s.*褐腐菌腐朽組之平均重量損失率(12%)比 *L. b.*白腐菌(6%)為大，這是應該是由於褐腐菌降解纖維素的速率遠比白腐菌快(Shimada and Higuchi, 1991)。

比較醇苯、乙酸乙酯、正丁醇及水等 4 種溶劑萃取相思樹心材後之木塊經白腐菌腐朽後之重量損失率，以醇苯萃取組之重量損失最大(11.1%)，至於未萃取、乙酸乙酯、正丁醇及水萃取組，其重量損失率分別為 2.6、2.7、7.7 及 7.8%，經由統計分析結果顯示，未萃取及乙酸乙酯萃取組與醇苯萃取組有顯著差異，而正丁醇與水萃取組則與醇苯萃取組無顯著差異，顯示未萃取及乙酸乙酯萃取後之相思樹心材木塊具有良好的耐腐朽能力；而在褐腐菌方面，同以未萃取及乙酸乙酯萃取組的重量損失率最小，分別為 4.8 和 5.7%，接續為醇苯(11.4%)及正丁醇(15.0%)萃取組，水萃取組的重量損失率高達 26.8%，由統計結果得知，水萃取組與前述 4 個試驗組有顯著性差異，甚至比醇苯萃取組耐腐朽效果更差，顯示水萃取後之相思樹心材木塊耐腐朽性最差。由圖 5d 得知，相思樹邊材經白腐菌腐朽試驗後，未萃取及醇苯萃取組之平均重量損失率為 27.0%，顯示醇苯萃取對相思樹邊材耐腐朽性影響不大；同樣地，經褐腐菌腐朽試驗後，相思樹邊材及醇苯萃取後邊材之平均重量損失率為 31.2%，顯示相思樹邊材並無耐腐朽能力。

由上述結果得知，相思樹之醇苯萃取率較水的為低，顯示醇苯無法完全萃取相思樹心材木塊抽出物，且在進行相思樹木塊褐腐菌腐朽試驗時，水萃取組之重量損失率比醇苯萃取組高，推論水萃取組之抽出物應有抑制腐朽菌腐朽木材的成分。無論白腐菌或是褐腐菌腐朽後之相思樹木塊，心材皆較邊材具耐腐朽能力，由此推測心材抽出物為其耐腐朽原因之一。相思樹心材之萃取率隨著溶劑極性愈

大而愈佳，而萃取率愈高時，其耐腐朽試驗後之重量損失率就愈高，由此得知木材中抽出物越少時，也就是只剩下木材三大組成分之木材較無耐腐朽能力，即木材耐腐朽效果主要來自其本身之抽出物。

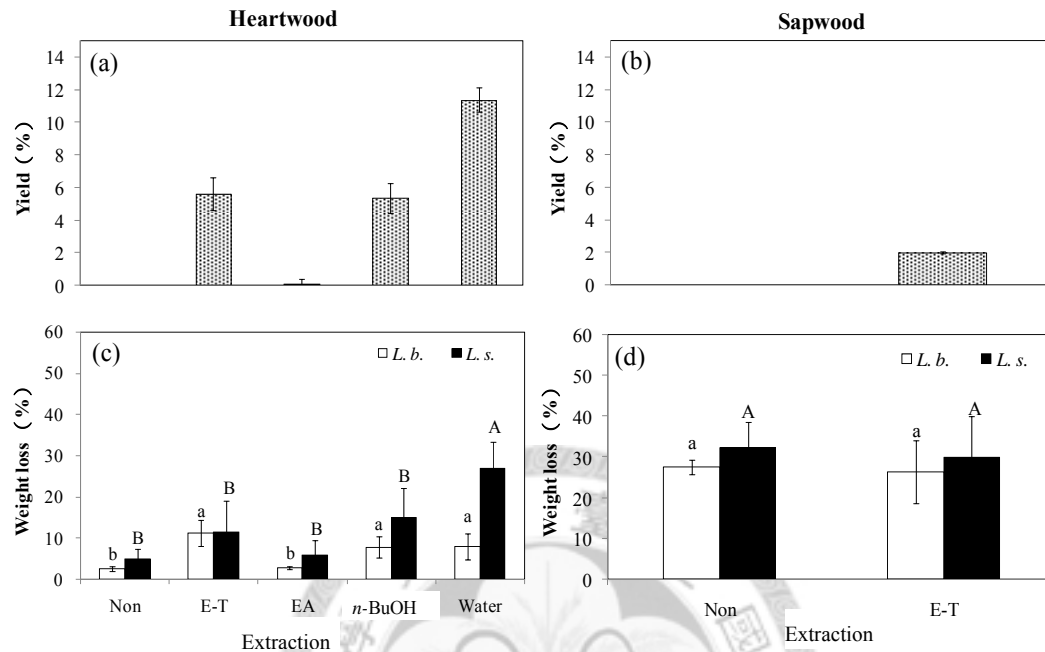


圖 5 不同溶劑萃取相思樹心邊材之萃取率 (%) 及其 12 週耐腐朽試驗後之重量損失率

Fig. 5 Yields (%) of *A. confusa* heartwood and sapwood extracted by different solvents and their weight loss after 12 weeks decay resistance test. Results are mean \pm SD ($n = 3$). Numbers followed by different letters (a–b ; A–B) are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Scheffe's test.

由於水萃取組無顯著耐腐朽效果，且其耐腐朽能力為最差，所以進一步取其冷水及熱水抽出物進行固態平板試驗，冷水抽出物在濃度 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 下，對 *L. b.* 及 *L. s.* 之抑菌指數分別為 8.5 及 0.0%；熱水抽出物在濃度 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 下，對 *L. b.* 及 *L. s.* 之抑菌指數分別為 2.7 及 0.0%，由此結果得知，相思樹心材水抽出物不具抑菌效果，顯示相思樹木材耐腐朽能力不是來自於抽出成分之抑菌活性，所以其抽出物之保護木材效果需進一步探討。

(2) 臺灣杉木材天然耐腐朽性

臺灣杉心材經由醇苯、正己烷、乙酸乙酯、正丁醇及水等溶劑萃取後之萃取率以及腐朽後重量損失率如圖 6 所示，從圖 6a 可以得知，使用 5 種溶劑萃取臺灣杉心材木塊，其萃取效果以醇苯（7.4%）及正丁醇（7.4%）最佳，依序為乙酸乙酯（5.5%）及水（4.3%）萃取組，最差為正己烷萃取組（1.6%）；而邊材之醇苯萃取率（圖 6b）為 1.2%，顯示邊材抽出物含量極少。

腐朽後臺灣杉心材木塊重量損失率如圖 6c 所示，褐腐菌腐朽後之心材木塊平均重量損失率（21.7%）比白腐菌（9.6%）為大。腐朽後邊材木塊之重量損失率與心材也有相同的趨勢（圖 6d），白腐菌腐朽後邊材木塊之重量損失率為 18.3%，而褐腐菌為 42.8%，由此結果得知，無論相思樹或臺灣杉經由 *L. b.* 白腐菌腐朽後的重量損失率都比 *L. s.* 褐腐菌的低，這是可能是因為此 2 種菌種的特性，褐腐菌降解纖維素的速率遠比白腐菌快（Shimada and Higuchi, 1991）。

5 種溶劑萃取臺灣杉心材後經由白腐菌腐朽後之重量損失率如圖 6c 所示，未萃取、醇苯、正己烷、乙酸乙酯、正丁醇及水萃取組，其重量損失率分別為 1.7、17.7、1.8、17.8、17.4 及 1.2%。經由統計分析結果得知，在未萃取組及正己烷和水 2 個萃取組與醇苯萃取組有顯著差異，而乙酸乙酯及正丁醇萃取組都與醇苯萃取組無顯著差異；而在褐腐菌腐朽組之重量損失率如圖 6c 所示，以未萃取、正己烷及水萃取組之重量損失率分別為 1.3、2.7 及 0.8%，與醇苯（39.5%）萃取組有顯著差異，而乙酸乙酯及正丁醇萃取組重量損失率分別為 43.3 及 42.7%，與醇苯萃取組無顯著性差異。由圖 6d 得知，經由白腐菌及褐腐菌腐朽後之臺灣杉邊材木塊，未萃取及醇苯萃取組重量損失率皆無顯著差異，白腐菌平均重量損失率為 18.3%，而褐腐菌則為 42.8%，由此得知臺灣杉邊材與心材醇苯萃取組之重量損失率無顯著差異，所以臺灣杉邊材對白腐菌及褐腐菌皆無耐腐朽能力。

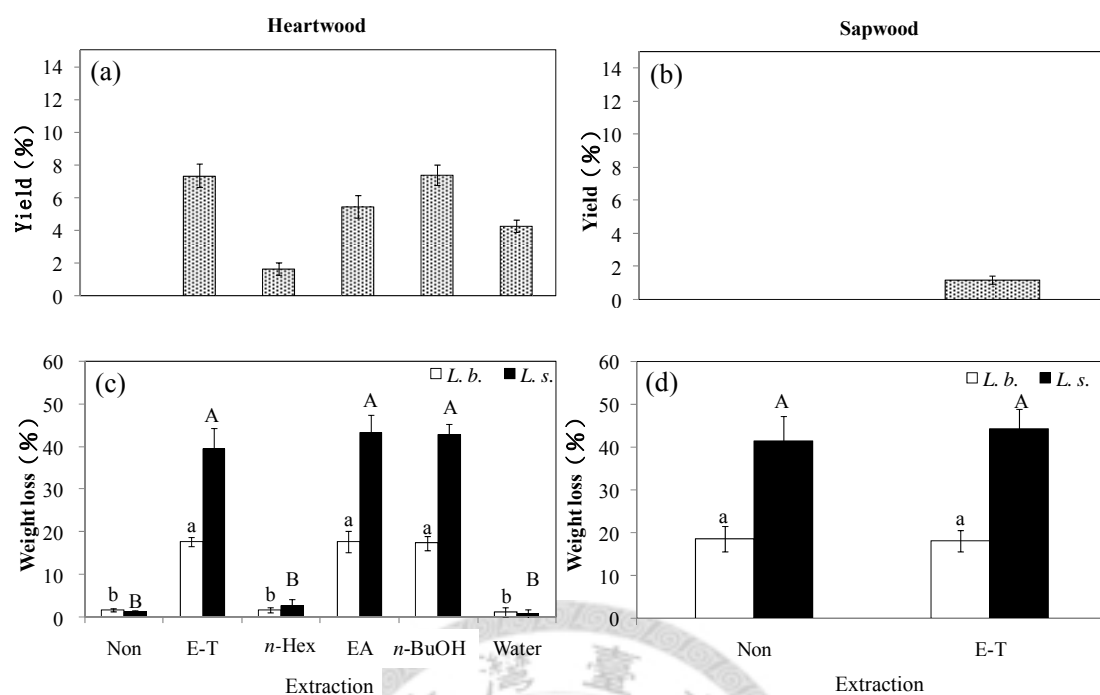


圖 6 不同溶劑萃取臺灣杉心邊材之萃取率 (%) 及其 12 週耐腐朽試驗後之重量損失率

Fig. 6 Yields (%) of *T. cryptomerioides* heartwood and sapwood extracted by different solvents and their weight loss after 12 weeks decay resistance test. Results are mean \pm SD ($n = 3$). Numbers followed by different letters (a–b ; A–B) are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Scheffe's test.

由上述結果得知，臺灣杉之天然耐腐朽能力是來自於心材的乙酸乙酯或正丁醇抽出物，從重量損失率結果得知，萃取前後之邊材皆與醇萃萃取後之心材無顯著差異，所以推斷邊材無顯著性耐腐朽效果。

張上鎮等人 (1998) 研究指出，臺灣杉之抗菌能力來自於正己烷可溶部及乙酸乙酯可溶部，一些具殺菌能力的成分都聚集在此可溶部，例如 α -Cadinol、Cedrol、Hinokiol 及 Sugiol 等對於腐朽菌都有相當良好抗菌活性。在臺灣杉心材經由不同溶劑萃取後，得知正己烷及水萃取組仍具耐腐朽能力，此結果與前人研究不一致，因為正己烷萃取組應把一些具殺菌成分萃取出來，不具耐腐朽能力，然而根據木塊耐腐朽試驗結果得知，正己烷萃取組仍具良好耐腐朽能力。為釐清正己烷

及水萃取組之耐腐朽效果，所以進一步探究其萃取效果，經由前述結果得知，臺灣杉木塊正己烷萃取率只有 1.7%，這顯然與液相—液相分配所得的收率(3.2%) 差異太大，所以將正己烷萃取後的木塊進行醇萃萃取，並進一步以正己烷與水做液相—液相分配，可得大量的正己烷可溶部，所以得知木塊所含的殺菌成分直接使用正己烷萃取之效果不佳；而由水萃取的結果得知，因水與正己烷的極性相差太大，所以推論水無法萃取出正己烷可溶部之殺菌成分，故無論以正己烷或是水萃取後的木塊仍含有相當量的殺菌成分，使其具有耐腐朽效果。

木塊耐腐朽試驗中，由於乙酸乙酯及正丁醇萃取組無顯著耐腐朽效果，所以進一步取其抽出物進行固態平板試驗，在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 下，對 *L. b.* 之抑菌指數分別為 40.9 及 40.3%；對 *L. s.* 的抑菌指數皆為 100%，顯示臺灣杉心材經由乙酸乙酯及正丁醇萃取後，可移除其中大部分殺菌成分，使得臺灣杉木材耐腐朽能力大幅下降。由此得知，臺灣杉天然耐腐朽能力，最大的影響因素應來自於抽出物之有效殺菌成分。

2. 心材抽出物之抗腐朽菌活性

本試驗採用固態平板試驗 (Agar plate method) 評估相思樹及臺灣杉抽出物對 4 株腐朽菌之抗菌活性，將相思樹及臺灣杉抽出物及各可溶部溶解後添加於培養基中，並以 2 株白腐菌 *L. b.* 和 *T. v.* 及 2 株褐腐菌 *L. s.* 和 *G. t.* 進行固態平板試驗。

相思樹心材乙醇抽出物及其各可溶部對木材腐朽菌的抑制活性如圖 7 所示當使用濃度為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 時，相思樹心材抽出物對 *L. b.*、*T. v.*、*L. s.* 和 *G. t.* 抗菌指數分別為 0.0%、9.4%、6.5% 及 2.2%，顯示相思樹抽出物抗菌活性不佳，此外，針對各個可溶部進行抗菌活性評估，其抗菌指數也都小於 10%，顯示各可溶部與抽出物一樣，不具抗菌活性。

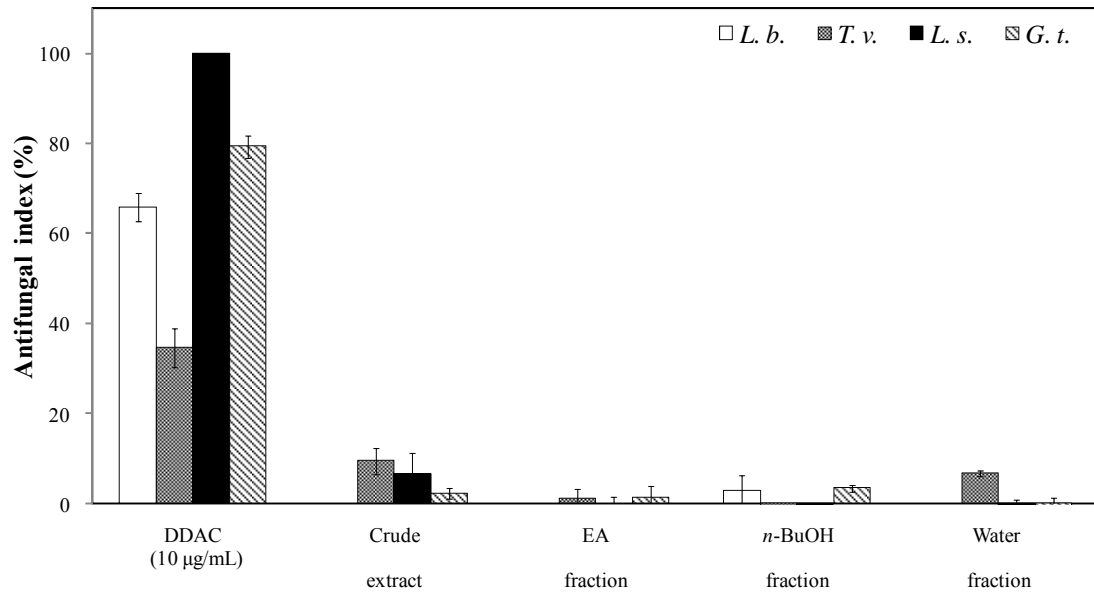


圖 7 相思樹心材乙醇抽出物及其各可溶部 (100 µg/mL) 之抗腐朽菌活性

Fig. 7 Antifungal activity of ethanolic extract and its fractions (100 µg/mL) from *A. confusa* heartwood against wood-rot fungi

臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部對木材腐朽菌的抑制活性如圖 8 所示，比較抽出物及各可溶部在 100 µg/mL 濃度下之抗菌指數，並以商用殺菌劑 Didecyl dimethyl ammonium chloride (DDAC) 作為正對照組，得知臺灣杉心材抽出物抑制褐腐菌之效果較白腐菌為佳，2 株褐腐菌 *L. s.* 和 *G. t.* 之抗菌指數分別為 58.1 及 63.0%；此外，4 個可溶部對 *L. s.* 抗菌指數依序為：正己烷可溶部 (75.6%)、乙酸乙酯可溶部 (44.8%)、水可溶部 (3.3%) 及正丁醇可溶部 (2.0%)，對 *G. t.* 抗菌指數依序為：正己烷可溶部 (73.3%)、乙酸乙酯可溶部 (39.9%)、正丁醇可溶部 (0.0%) 及水可溶部 (0.0%)；對白腐菌 *L. b.* 抗菌指數依序為：正己烷可溶部 (28.7%)、乙酸乙酯可溶部 (2.1%)、水可溶部 (2.4%) 及正丁醇可溶部 (0.0%)，對 *T. v.* 之抗菌指數依序為：正己烷可溶部 (50.9%)、乙酸乙酯可溶部 (28.8%)、正丁醇可溶部 (6.8%) 及水可溶部 (3.8%)。DDAC 在濃度 10 µg/mL 下則是對 *L. s.* 及 *G. t.* 褐腐菌抑菌指數分別為 100% 及 79.3%，對 *L. b.* 及 *T. v.* 白腐菌之抑菌指數分別為 65.9% 及 34.5% 此結果顯示，臺灣杉心材乙醇抽出物正己烷可溶部之抗腐朽菌活性較強，此結論與先前的研究結果相似 (張上鎮

等，1998)。

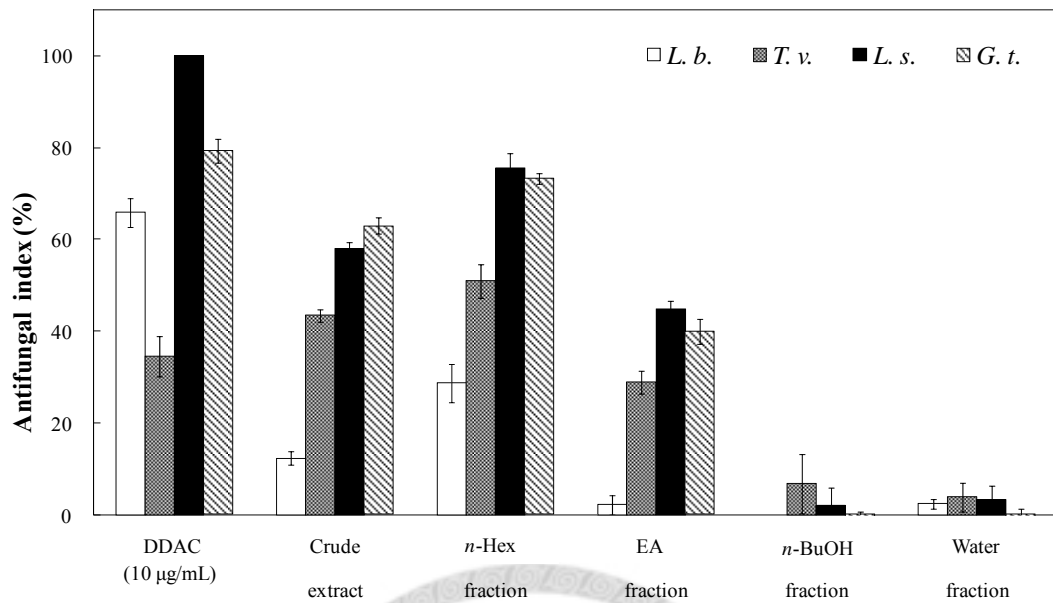


圖 8 臺灣杉心材乙醇抽出物及其各可溶部 (100 µg/mL) 之抗腐朽菌活性

Fig. 8 Antifungal activity of ethanolic extract and its fractions (100 µg/mL) from *T. cryptomerioides* heartwood against wood-rot fungi

3. 心材抽出物含浸於木材中之耐腐朽性

本試驗採用木塊耐腐朽性試驗評估相思樹及臺灣杉抽出物對2株腐朽菌之耐腐朽性，將5%濃度相思樹及臺灣杉3個可溶部含浸於醇萃萃取後之柳杉及楓木邊材木塊，然後進行木塊耐腐朽性試驗，柳杉所使用菌種為 *L. s.* 褐腐菌，而楓木為 *L. b.* 白腐菌。木塊留存率及重量損失率如圖 9 所示，相思樹3個可溶部含浸於楓木中之留存率依序為乙酸乙酯可溶部 (3.6%)、水可溶部 (3.5%) 及正丁醇可溶部 (2.6%)，而臺灣杉留存率依序為乙酸乙酯可溶部 (3.5%)、水可溶部 (3.3%) 及正己烷可溶部 (2.4%)；相思樹3個可溶部含浸於柳杉邊材木塊中之留存率依序為乙酸乙酯可溶部 (5.9%)、正丁醇可溶部 (5.4%) 及水可溶部 (4.7%)，而臺灣杉留存率依序為乙酸乙酯可溶部 (7.1%)、水可溶部 (5.1%) 及正己烷可溶部 (4.2%)。

比較相同含浸條件及相同濃度下含浸的效果，楓木留存率平均約為 3.1%，

而柳杉約為 5.5%，顯示抽出物含浸於柳杉中效果較楓木高。進一步由留存率結果得知，無論相思樹或是臺灣杉之乙酸乙酯可溶部含浸於楓木及柳杉中留存率皆最高，以臺灣杉正己烷可溶部含浸於楓木及柳杉中留存率皆最差。

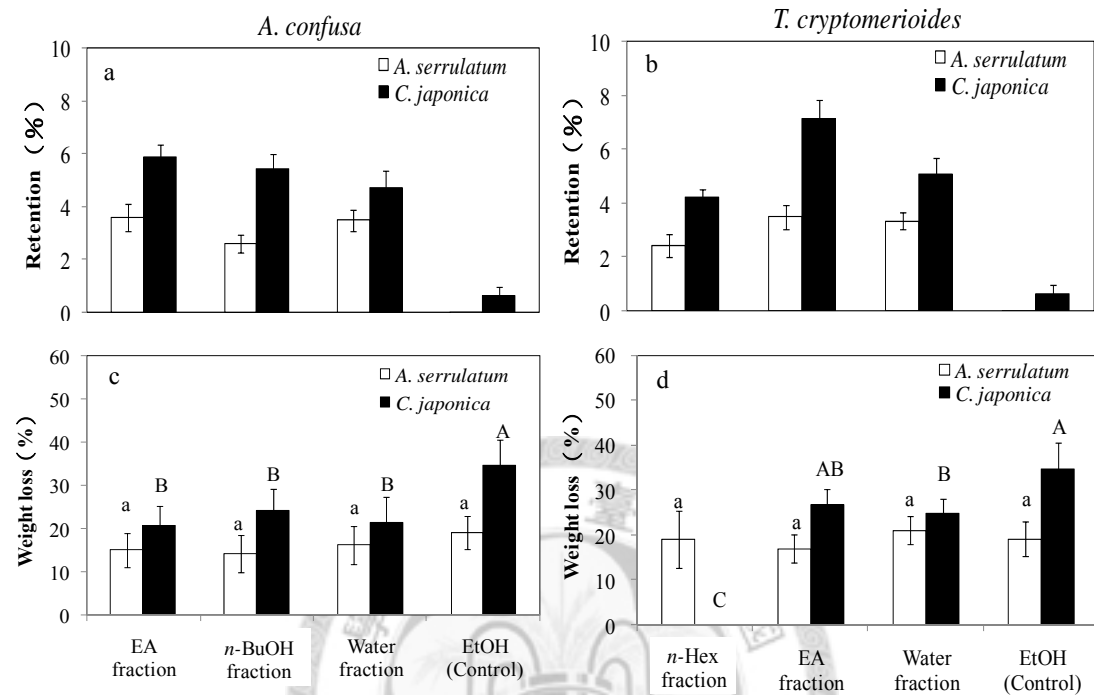


圖 9 臺灣杉與相思樹心材抽出物之各可溶部 (5%) 含浸於楓木及柳杉邊材之留存率及耐腐朽試驗 12 週後之重量損失率

Fig. 9 Retention of *A. serrulatum* and *C. japonica* sapwood treated with fractions of the ethanolic extracts from *T. cryptomerioides* and *A. confusa* heartwood and their weight loss after 12 weeks decay resistance test. Results are mean \pm SD ($n = 3$). Numbers followed by different letters (a ; A – C) are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Scheffe's test.

相思樹與臺灣杉 3 個可溶部含浸於柳杉與楓木後之木材耐腐朽能力如圖 9 所示，當重量損失率比控制組（含浸乙醇組）低時，含浸於木材中抽出物對於木材之耐腐朽即有提升效果，換言之，此可溶部含有抑制腐朽菌降解木材之有效成分。白腐菌 (*L. b.*) 腐朽楓木邊材後之重量損失率結果由圖 9c 及 d 所示，含浸相思樹 3 個可溶部之重量損失率如下：乙酸乙酯可溶部為 15.1%、正丁醇可溶部為 14.2% 及水可溶部為 16.2%，而含浸臺灣杉 3 個可溶部之重量損失率如下：正己烷可溶部為 18.9%、乙酸乙酯可溶部為 16.9% 及水可溶部為 21.0%，皆與控制組（19.1%）無顯著差異，此結果顯示含浸相思樹與臺灣杉 3 個可溶部於楓木中均無顯著改善耐腐朽之效果；而褐腐菌 (*L. s.*) 腐朽的柳杉邊材組，從圖 9c 及 d 得知，含浸相思樹 3 個可溶部重量損失率如下：乙酸乙酯可溶部為 20.6%、正丁醇可溶部為 24.2% 及水可溶部為 21.3% 與控制組（34.6%）有顯著差異，顯示相思樹抽出物中 3 個可溶部對於柳杉有明顯的保護效果；含浸臺灣杉 3 個可溶部之重量損失率如下：正己烷可溶部為 0.1%、乙酸乙酯可溶部為 26.6% 及水可溶部為 24.9%，而控制組為 34.6%，此結果顯示柳杉在臺灣杉正己烷可溶部處理下，進行木塊腐朽試驗 12 週，柳杉邊材幾乎不受褐腐菌 (*L. s.*) 的腐朽，而乙酸乙酯和水可溶部之處理組也與控制組有顯著的差異，顯示臺灣杉心材 3 個可溶部抽出物皆具有保護木材的效果，尤以正己烷可溶部處理組最佳。

比較前述含浸木塊耐腐朽性試驗與固態平板試驗結果得知，含浸相思樹 3 個可溶部在楓木邊材木塊中無顯著改善耐腐朽之效果，而在固態平板試驗中相思樹 3 個可溶部對白腐菌 (*L. b.*) 抗菌活性評估，其抗菌指數也都小於 10%，此兩個結果是相符的。而相思樹 3 個可溶部含浸柳杉邊材則有顯著改善耐腐朽之效果，但在固態平板試驗中對褐腐菌 (*L. s.*) 之抗菌指數皆小於 10%，此兩個結果為相反，原因需待進一步探討。

在含浸木塊耐腐朽性試驗中，臺灣杉 3 個可溶部抽出物含浸於楓木邊材中，其重量損失率皆與控制組無顯著差異，而在固態平板試驗中，其 3 個可溶部對白腐菌 (*L. b.*) 之抗菌指數除正己烷可溶部（28.7%）外，其餘皆小於 10%，即臺灣杉此 3 個可溶部對白腐菌 (*L. b.*) 無明顯耐腐朽效果。在柳杉邊材組，則顯示正己烷可溶部具極佳耐腐朽效果，乙酸乙酯可溶部次之，而水可溶部最差，在固態平板試驗中也有相同趨勢，其抗菌活性大小依序為：正己烷可溶部之 75.6%、

乙酸乙酯可溶部之 44.8%及水可溶部之 3.3%。從此結果顯示，含浸臺灣杉 3 個可溶部抽出物在楓木邊材木塊中無顯著改善耐腐朽之效果，而在固態平板試驗中，臺灣杉 3 個可溶部抽出物對白腐菌之抗菌活性也較差；含浸臺灣杉 3 個可溶部抽出物在柳杉邊材木塊中則有顯著改善耐腐朽之效果，且在固態平板試驗中，臺灣杉 3 個可溶部抽出物對褐腐菌則有較佳的抗菌活性，所以臺灣杉無論在固態平板試驗或是含浸木塊耐腐朽試驗，其耐腐朽結果皆一致。

(III) 相思樹及臺灣杉心材活性可溶部之分離

由上述抗氧化活性、總酚類含量和總黃酮類含量結果得知，相思樹心材抽出物及其各可溶部皆以乙酸乙酯可溶部具有最佳抗氧化能力；在抗腐朽菌試驗方面，臺灣杉心材抽出物及各可溶部則以正己烷可溶部有極佳抗腐朽菌能力。為了進一步確認其中之活性成分，因此選取相思樹心材乙酸乙酯可溶部以及臺灣杉心材正己烷可溶部進行管柱層析，並配合抗氧化活性試驗及抗腐朽菌試驗，確認其中之活性成分。

相思樹乙酸乙酯可溶部及臺灣杉正己烷可溶部以管柱層析進行次分離部之分離，並配合薄層層析分析，共得相思樹 10 個次分離部 (EA1—EA10) 及臺灣杉 10 個次分離部 (Hex1—Hex10)。沖提溶劑及收率如表 12 所示，其中，相思樹以 EA1 之收率最高，為 33.1%，其次為 EA10、EA5、EA6、EA2 及 EA4，含量分別為 15.3%、14.5%、7.9%、7.4%及 5.7%，而其臺灣杉則以 Hex4 之收率最高，為 24.4%，其次為 Hex3、Hex7、Hex2、Hex5 及 Hex10，其收率分別為 18.7%、17.1%、10.4%、6.0%及 4.6%。

表 12 相思樹心材乙酸乙酯可溶部及臺灣杉心材正己烷可溶部中各次分離部之沖提溶劑與收率 (%)

Table 12 Mobile phase and yields of subfractions from ethyl acetate subfraction of *A. confusa* heartwood and *n*-hexane subfraction of *T. cryptomerioides* heartwood

<i>A. confusa</i>			<i>T. cryptomerioides</i>		
Subfractions	Mobile phase*	Yield (%)	Subfractions	Mobile phase**	Yield (%)
EA1	10–20%	33.1	Hex1	0–5%	1.9
EA2	30%	7.4	Hex2	5%	10.4
EA3	30%	4.1	Hex3	5%	18.7
EA4	30–40%	5.7	Hex4	5–10%	24.4
EA5	40–50%	14.5	Hex5	10%	6.0
EA6	50–60%	7.9	Hex6	10–15%	3.0
EA7	60%	2.6	Hex7	15–40%	17.1
EA8	70–80%	2.1	Hex8	40–70%	2.7
EA9	80–100%	1.2	Hex9	70–80%	1.7
EA10	100% THF	15.3	Hex10	80% – 95% EtOH	4.6

*The ratio of MeOH/H₂O (v/v)

**The ratio of EA/Hex (v/v)

(IV) 相思樹及臺灣杉活性可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含量

1. 相思樹心材乙酸乙酯可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含量

由表 13 分析結果得知，相思樹乙酸乙酯可溶部之次分離部在 DPPH 清除自由基試驗中，EA1–EA8 之 IC₅₀ 值皆小於 3.5 µg/mL，其清除 DPPH 自由基之能力與兒茶素 (IC₅₀ = 3.6 µg/mL) 相當，顯示清除 DPPH 自由基之能力極佳，而

EA9 及 EA10 之 IC_{50} 值分別為 15.1 及 68.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；至於總酚含量，以 EA5 的含量最高，其值為 960.6 mg of GAE /g，其次為 EA1、EA2、EA3 及 EA4，含量分別為 937.6、918.4、816.0 和 923.4 mg of GAE/g；此外，總黃酮含量則以 EA7 的含量最高，其值為 309.7 mg of QE/g，其次為 EA4、EA5、EA6 及 EA8，含量分別為 128.7、272.9、246.7、207.2 mg of QE/g；至於螯合亞鐵離子之能力，EA6、EA7 及 EA8 之 IC_{50} 值分別為 470.4、282.2 及 493.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，其它次分離部的 IC_{50} 值皆大於 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，綜合上述結果得知，EA1—EA8 此 8 個分離部之抗氧化活性極佳，因此，之後將進一步利用高效能液相層析儀分離純化此 8 個次分離部。



表 13 相思樹心材乙酸乙酯可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含量

Table 13 Antioxidant activities, total phenolic contents and total flavonoid contents from ethyl acetate subfractions of *A. confusa* heartwood

Sub-fractions	DPPH IC ₅₀ (μg/mL)	Total phenolic contents (mg of GAE/g)*	Total flavonoid contents (mg of QE/g)**	Metal chelating IC ₅₀ (μg/mL)
EA1	2.0 ± 0.0 ^{de}	937.6 ± 29.6 ^a	9.8 ± 0.0 ^g	> 2500
EA2	1.9 ± 0.0 ^{de}	918.4 ± 27.1 ^a	8.3 ± 0.2 ^g	> 2500
EA3	2.4 ± 0.0 ^{cde}	816.0 ± 26.9 ^b	15.0 ± 0.1 ^f	> 2500
EA4	1.8 ± 0.0 ^{de}	923.4 ± 2.9 ^a	128.7 ± 0.3 ^e	> 2500
EA5	1.3 ± 0.0 ^e	960.6 ± 41.0 ^a	272.9 ± 1.3 ^b	> 2500
EA6	2.6 ± 0.1 ^{cd}	729.7 ± 10.4 ^{cd}	246.7 ± 0.3 ^c	470.4 ± 77.2 ^a
EA7	2.7 ± 0.1 ^{cd}	746.2 ± 19.6 ^{bc}	309.7 ± 1.0 ^a	282.2 ± 11.2 ^b
EA8	3.3 ± 0.1 ^c	653.5 ± 24.2 ^d	207.2 ± 1.2 ^d	493.4 ± 59.4 ^a
EA9	15.1 ± 0.4 ^b	150.9 ± 4.6 ^e	7.7 ± 0.7 ^g	> 2500
EA10	68.6 ± 1.0 ^a	54.2 ± 4.5 ^f	7.6 ± 0.5 ^g	> 2500
Positive control	Catechin 3.6 ± 0.1			EDTA 7.7 ± 0.3

*: Total phenolic contents are expressed as gallic acid equivalent (GAE). Results are mean ± SD ($n = 3$). **: Total flavonoid contents are expressed as quercetin equivalent (QE). Results are mean ± SD ($n = 3$). Numbers followed by different letters (a–g) are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Scheffe's test.

2. 臺灣杉心材正己烷可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含量

由表 14 結果得知，臺灣杉正己烷可溶部之次分離部在 DPPH 清除試驗中，Hex1、Hex3 及 Hex4 之 IC_{50} 值皆大於 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而其他次分離部之 IC_{50} 值皆在 95–155 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之間；至於總酚含量之結果，Hex1–Hex10 之 10 個次分離部的總酚含量皆小於 35 mg of GAE/g；此外，由總黃酮含量之結果得知，正己烷可溶部之 10 個次分離部，其總黃酮含量皆小於 3 mg of QE/g，綜合上述結果得知，臺灣杉正己烷可溶部之次分離部皆不具抗氧化能力。



表 14 臺灣杉心材正己烷可溶部之次分離部抗氧化活性、總酚及總黃酮含量

Table 14 Antioxidant activities, total phenolic contents and total flavonoid contents from *n*-hexane subfractions of *T. cryptomerioides* heartwood

Subfractions	DPPH	Total phenolic contents	Total flavonoid
	IC ₅₀ (μg/mL)	(mg of GAE/g)*	contents (mg of QE/g)**
Hex1	> 200	1.5 ± 0.1 ^e	0.0 ± 0.0 ^d
Hex2	95.5 ± 11.2 ^c	30.6 ± 0.2 ^b	0.0 ± 0.0 ^d
Hex3	> 200	3.7 ± 0.6 ^e	0.0 ± 0.0 ^d
Hex4	> 200	4.3 ± 0.2 ^e	0.0 ± 0.0 ^d
Hex5	128.9 ± 3.0 ^b	26.6 ± 0.3 ^c	1.0 ± 0.1 ^c
Hex6	154.0 ± 2.8 ^a	18.0 ± 1.6 ^d	1.6 ± 0.3 ^b
Hex7	101.6 ± 1.5 ^c	35.0 ± 1.2 ^a	2.4 ± 0.1 ^a
Hex8	127.8 ± 3.4 ^b	28.3 ± 0.8 ^{bc}	2.3 ± 0.1 ^a
Hex9	128.3 ± 6.3 ^b	29.0 ± 0.9 ^{bc}	2.6 ± 0.2 ^a
Hex10	112.4 ± 1.4 ^{bc}	29.7 ± 1.4 ^{bc}	0.2 ± 0.2 ^d
Positive control	Catechin		
		3.6 ± 0.1	

*: Total phenolics are expressed as gallic acid equivalent (GAE). Results are mean ± SD (*n* = 3). **: Total flavonoids are expressed as quercetin equivalent (QE). Results are mean ± SD (*n* = 3). Numbers followed by different letters (a–e) are significantly different at the level of *p* < 0.05 according to the Scheffe's test.

(V) 臺灣杉心材正己烷可溶部次分離部抗腐朽菌活性

臺灣杉心材乙醇抽出物正己烷可溶部之次分離部對木材腐朽菌的抑制活性如圖 10 所示，比較臺灣杉各個正己烷次分離部 (Hex1–Hex10) 在 100 μg/mL 濃度下之抗菌指數，並以商用殺菌劑 Didecyl dimethyl ammonium chloride (DDAC)

作為正對照組，其中以 Hex3 和 Hex4 對 4 株腐朽菌具有極佳的抑制能力，對 *L. b.*、*L. s.* 及 *T. v.* 的抑制效果皆為 100%，而對 *G. t.* 之抗菌指數則分別為 85.7% 和 85.1%；其次為 Hex2 及 Hex5，其對 *L. b.* 白腐菌抑菌指數分別為 53.1 及 47.2%；而 Hex1、Hex8、Hex9 及 Hex10 對 4 株腐朽菌之抑菌能力皆小於 15%，顯示不具抗菌活性。DDAC 在濃度 10 $\mu\text{g/mL}$ 下則是對 *L. s.* 及 *G. t.* 褐腐菌有 100% 之抑制效果，對 *L. b.* 及 *T. v.* 白腐菌之抑菌指數分別為 77.9% 及 31.1%，由此結果得知，抗腐朽菌之成分多存在 Hex2、Hex3、Hex4 及 Hex5 中，因此，此 4 個次分離部實值得進一步的研究分析與探討。

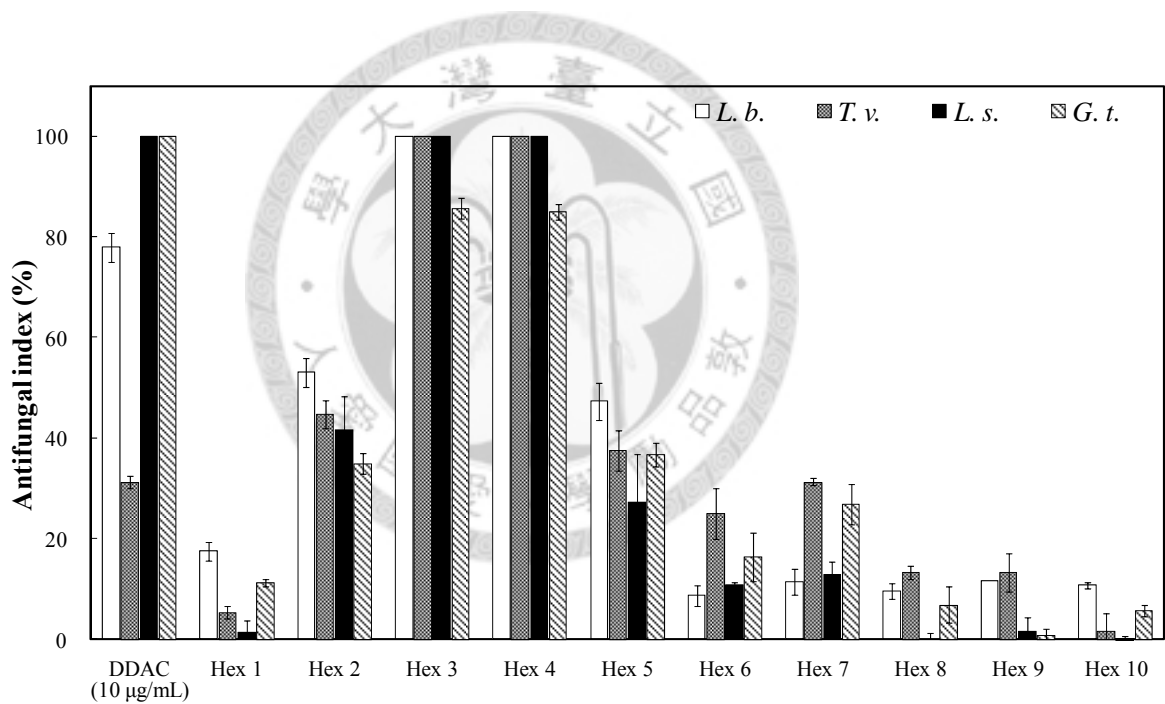


圖 10 臺灣杉心材正己烷可溶部之次分離部抗腐朽菌活性

Fig. 10 Antifungal activity from *n*-hexane subfractions of *T. cryptomerioides* heartwood against wood-rot fungi

(VI) 相思樹與臺灣杉心材乙醇抽出物活性成分分離與純化

相思樹心材乙醇抽出物乙酸乙酯可溶部之 EA1—EA8 抗氧化活性良好，而臺灣杉心材乙醇抽出物正己烷可溶部之 Hex2、Hex3、Hex4 及 Hex5 之抗腐朽菌活性良好，故對相思樹 EA1—EA8 及臺灣杉 Hex2—Hex5 進行化合物之純化與分離。

1. 相思樹心材乙酸乙酯可溶部活性成分之分離與鑑定

為了解相思樹心材乙酸乙酯可溶部中次分離部 (EA1—EA8) 的主成分，本研究利用 HPLC 分離及純化乙酸乙酯次分離部之主成分。EA1—EA8 共 8 個次分離部經由分離、純化及收集所得之化合物以光譜分析進行鑑定，即利用光譜圖上各個特性吸收比對本實驗室先前之研究結果 (吳志鴻, 2004) 及利用標準品進行共注射法來確定化合物結構。

經由鑑定後得知 EA1 主成分為 Protocatechuic acid (A1)，EA2 主成分為 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2)，EA4—8 主成分為 Melanoxetin (A3)，Transilitin (A4) 及 Okanin (A5)，共得 5 個純化合物，其結構如圖 11 所示。

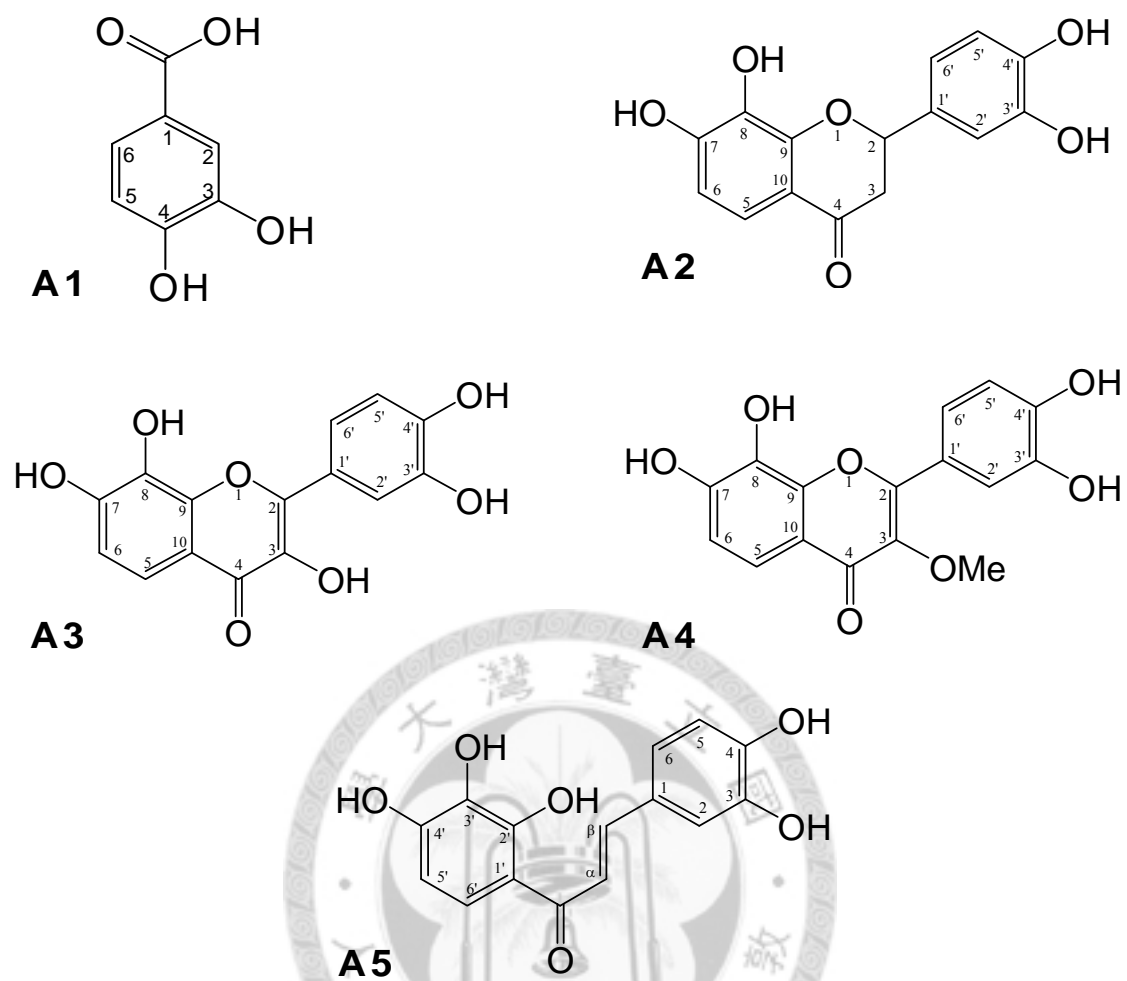
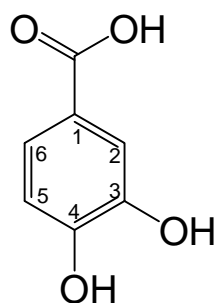


圖 11 由相思樹心材乙酸乙酯可溶部分離所得之 5 個化合物， A1：Protocatechuic acid, A2：7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone, A3：Melanoxetin, A4：Transilitin, A5：Okanin。

Fig. 11 Chemical structures of five phytochemicals isolated from the ethyl acetate fraction of *A. confusa* heartwood, A1: protocatechuic acid, A2: 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone, A3: melanoxetin, A4: transilitin, A5: okanin.

以下對 EA1–EA8 之分離純化後化合物光譜特性進行說明：

A1 : Protocatechuic acid



A1 是由 EA1 分離部分離純化後獲得，為一粉末狀固體，經質譜分析得知分子量為 154 (圖 12)，推測分子式為 $C_7H_6O_4$ 。分析 1H -NMR (圖 13) 結果得知，其具有苯環的 3 個氫，其中，ABX 分裂型態訊號為 δ 6.79 (d, $J = 8.1$ Hz, H-6) 及 δ 7.42 (d, $J = 8.1$ Hz, H-5)，而 δ 7.43 (s) 為苯環 C2 位置之氫訊號。此外， ^{13}C -NMR (圖 14) 分析結果亦可發現，共有 7 個碳訊號，分別為 1 組苯環訊號 δ 115.7 (C-5)、 δ 117.7 (C-2)、 δ 123.1 (C-1)、 δ 123.9 (C-6)、 δ 146.0 (C-3) 及 δ 151.5 (C-4)，1 個共軛酸基 δ 170.2 (Conj. -COOH)，因此，綜合上述分析圖譜結果並與文獻值結果 (Nechepurenko *et al.*, 2008) 均一致，確認 **A1** 為 Protocatechuic acid。

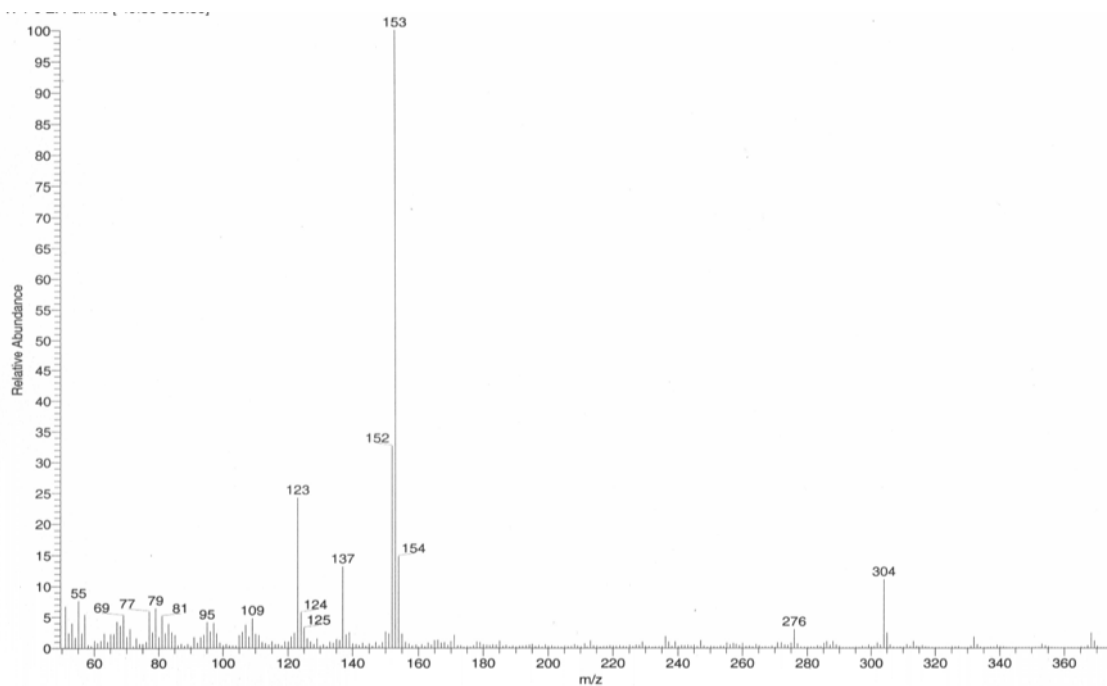


圖 12 Protocatechuic acid (A1) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 12 EI-MS (70 eV) spectrum of protocatechuic acid (A1)

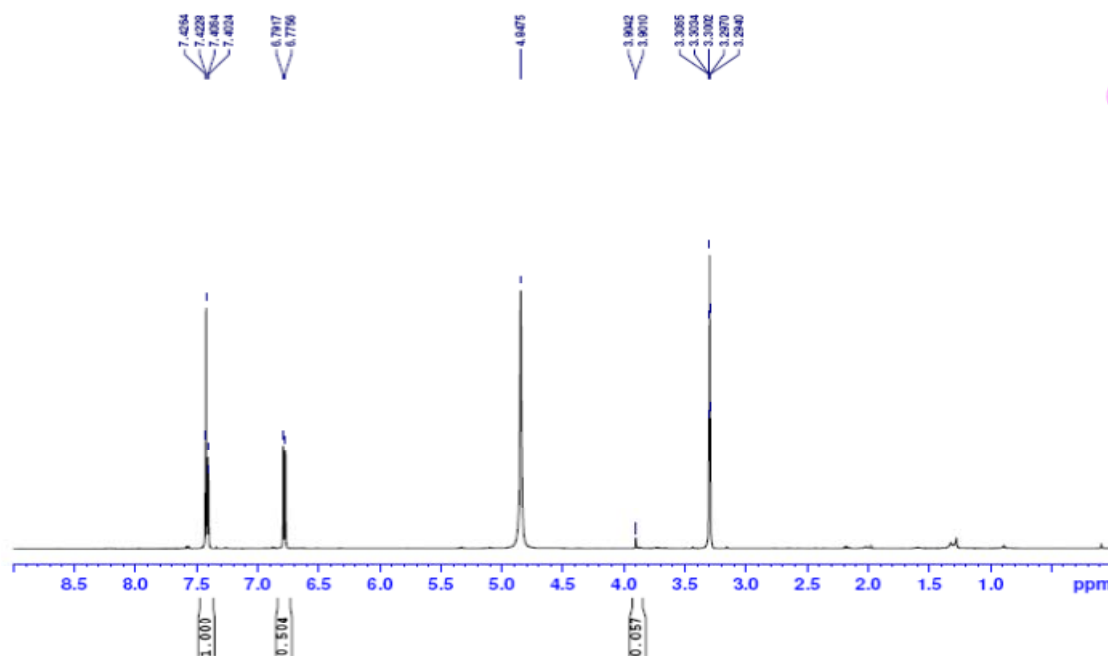


圖 13 Protocatechuic acid (A1) 之 ¹H-NMR 圖譜 (500 MHz, CD₃OD)

Fig. 13 ¹H-NMR spectrum of protocatechuic acid (A1) (500 MHz, CD₃OD)

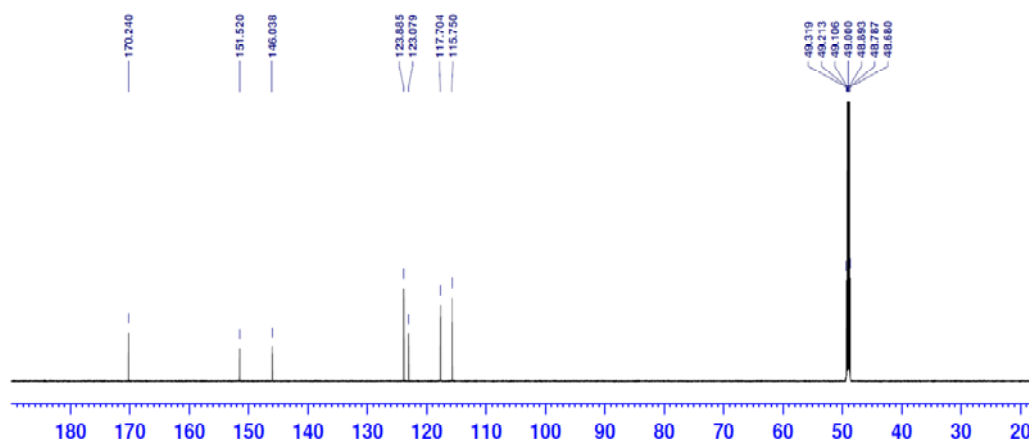
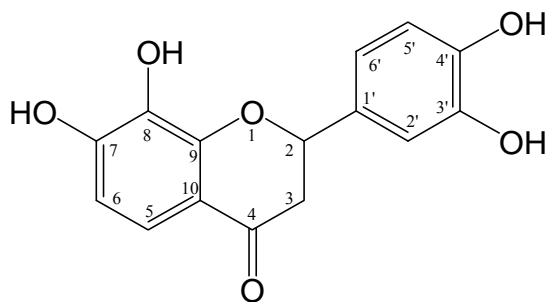


圖 14 Protocatechuic acid (A1) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)

Fig. 14 ^{13}C -NMR spectrum of protocatechuic acid (A1) (125 MHz, CD_3OD)



A2 : 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone



A2 是由 EA2 分離部分離純化後獲得，為一淡黃色晶狀固體，經質譜分析得知分子量為 288 (圖 15)，推測分子式為 $C_{15}H_{12}O_6$ 。分析 1H -NMR (圖 16) 結果得知，該化合物具有 2 組苯環的氫訊號，其分別為第 1 組具 AB 分裂型態訊號 δ 6.51 (d, $J = 7.3$ Hz, H-6)、 δ 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, H-5) 及第 2 組具 ABX 分裂型態訊號 δ 6.77 (d, $J = 8.1$ Hz, H-5')、 δ 6.84 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, H-6') 和 δ 6.98 (d, $J = 1.5$ Hz, H-2')。此外，氫譜中 δ 2.71 (dd, $J = 16.9, 2.9$ Hz, H_{eq} -3)、 δ 3.05 (dd, $J = 16.9, 12.4$ Hz, H_{ax} -3) 及 δ 5.35 (dd, $J = 12.4, 2.9$ Hz, H-2) 則為另一組 ABX 氫訊號。由 ^{13}C -NMR (圖 17) 分析結果更進一步發現，該化合物除具有 2 組苯環結構之外 (δ 110–160 \times 12)，另有一共軛羰基 (Conj. C=O) 訊號 (δ 194.1)、一個接氧次甲基 (δ 81.5) 及一個亞甲基 (δ 45.0)，因此，推論該化合物應為 Flavanone 類化合物。

為了進一步確認 **A2** 之碳-氫聯結關係，續利用二維核磁共振進行分析。由圖 18 HSQC 分析結果發現，第 1 組 δ 7.29 (H-5) 與 δ 6.51 (H-6) 之氫分別與 δ 119.4 (C-5) 及 δ 110.9 (C-6) 碳相聯結；而第 2 組 δ 6.98 (H-2')、 δ 6.84 (H-6') 和 δ 6.77 (H-5') 之氫則分別與 δ 115.0 (C-2')、 δ 119.6 (C-6') 及 δ 116.2 (C-5') 之碳聯結。此外，由圖 19 HMBC 耦合關係更確認每個氫與碳之相對應關係，其中， δ 5.35 (H-2) 氫與 δ 115.0 (C-2')、 δ 119.6 (C-6')、 δ 131.9 (C-1') 及 δ 152.7 (C-9) 之碳有長距離耦合關係，而 δ 3.05 (H_{ax} -3) 及 δ 2.71 (H_{eq} -3) 氫則分別與 δ 81.5 (C-2)、 δ 131.9 (C-1')、 δ 194.1 (C-4) 及 δ 115.7 (C-10)、 δ 131.9 (C-1')、 δ 194.1 (C-4) 之碳有長距離耦合關係。因此，綜合上述分析圖譜結果並與文獻值 (Foo, 1987) 比對後，確認 **A2** 為 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone。

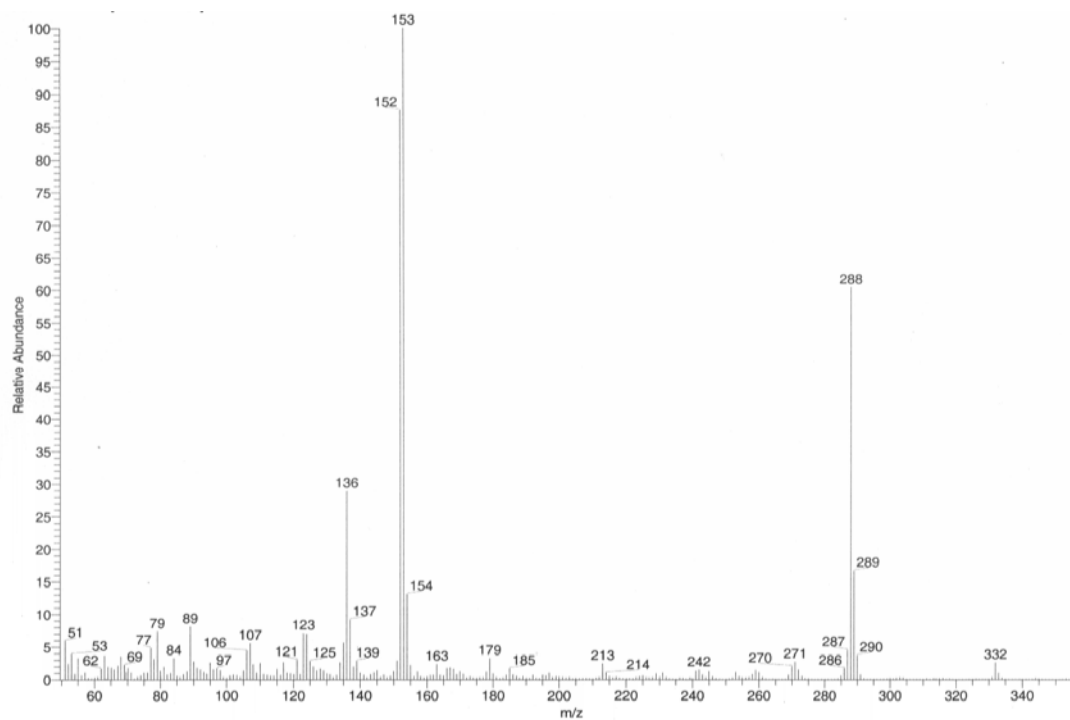


圖 15 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 15 EI-MS (70 eV) of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2)

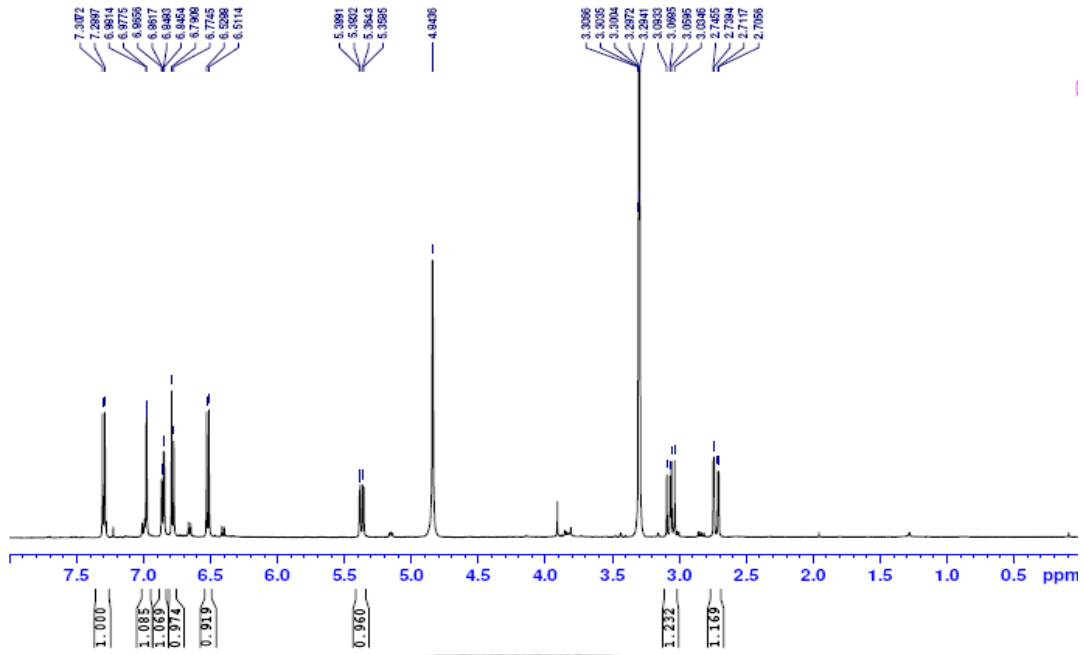


圖 16 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2) 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)
 Fig. 16 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (500 MHz, CD_3OD)

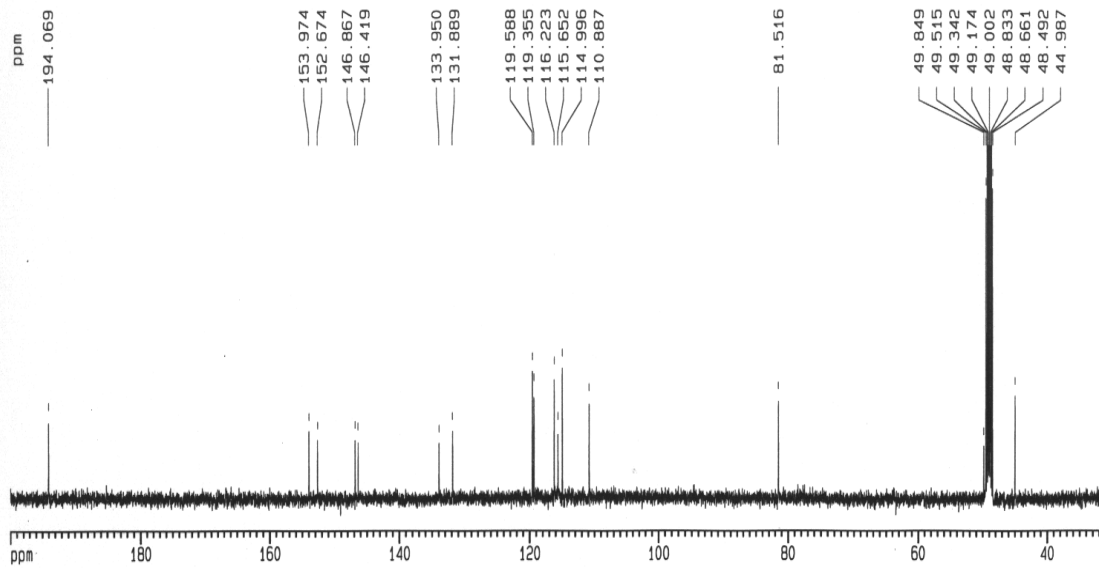


圖 17 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2) 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)
 Fig. 17 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (125 MHz, CD_3OD)

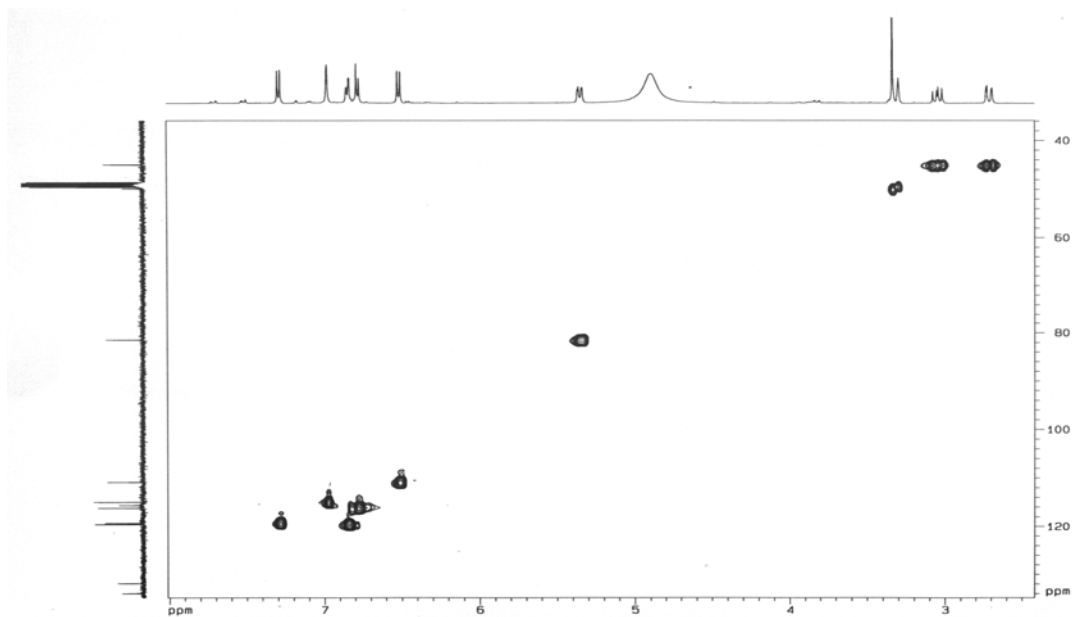


圖 18 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2) 之 HSQC 圖譜 (500 MHz, CD₃OD)

Fig. 18 HSQC spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (500 MHz, CD₃OD)

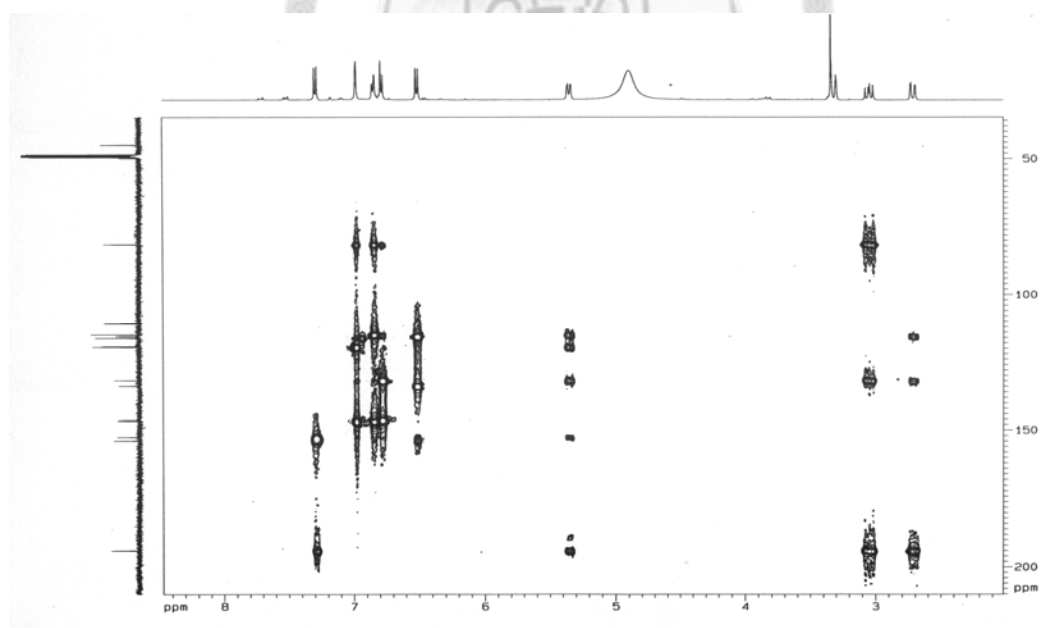
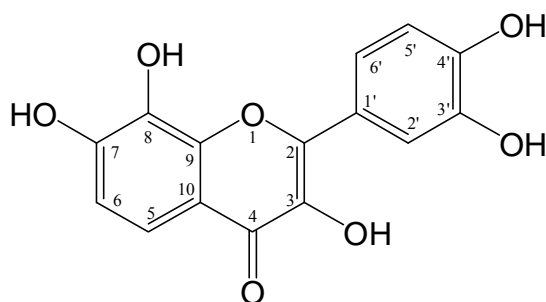


圖 19 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CD₃OD)

Fig. 19 HMBC spectrum of 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavanone (A2) (500 MHz, CD₃OD)

A3 : Melanoxetin



A3 是由 EA4 分離部分離純化後獲得，為一淡黃色粉末狀固體，經質譜分析得知分子量為 302 (圖 20)，推測分子式為 $C_{15}H_{10}O_7$ 。分析 1H -NMR (圖 21) 結果得知，此化合物具有 2 組苯環的氫訊號，第 1 組為 δ 6.93 (d, $J = 8.8$ Hz, H-6)、 δ 7.53 (d, $J = 8.8$ Hz, H-5) 及第 2 組為 ABX 型分裂訊號之 δ 6.89 (d, $J = 8.5$ Hz, H-5')、 δ 7.79 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, H-6') 和 δ 7.87 (d, $J = 2.1$ Hz, H-2')。 ^{13}C -NMR (圖 22) 分析結果得知，此化合物除具有 2 組苯環及 1 組雙鍵結構之外 (δ 110–160 \times 14)，另一 δ 174.8 有共軛羰基 (Conj. C=O) 上的訊號，因此，推論該化合物應為 Flavone 類化合物。

進一步利用二維核磁共振分析確認 **A3** 之碳-氫聯結關係。圖 23 HSQC 分析結果發現，第 1 組氫的訊號 δ 7.53 (H-5)、 δ 6.93 (H-6) 分別與 δ 116.6 (C-5) 及 δ 115.0 (C-6) 碳相聯；而第 2 組 ABX 型分裂訊號之氫 δ 7.87 (H-2')、 δ 7.79 (H-6') 和 δ 6.89 (H-5') 則分別與 δ 116.3 (C-2')、 δ 122.0 (C-6') 及 δ 116.2 (C-5') 之碳聯結。而由圖 24 HMBC 耦合關係更確認每個氫與碳之相對應關係，其中， δ 7.53 (H-5) 及 δ 6.93 (H-6) 之氫 (A-ring) 則分別與 δ 147.7 (C-9)、 δ 151.3 (C-7)、 δ 174.8 (C-4) 及 δ 116.3 (C-10)、 δ 134.1 (C-8)、 δ 151.3 (C-7) 的碳具有長距離耦合關聯，表 15 即為 **A3** 化合物碳、氫相對之化學位移及其 HMBC 關聯。綜合以上結果得知，**A3** 為 Melanoxetin，而比對先前文獻得知，此化合物曾在 *Acacia melanoxylon*、*Acacia nigrescens* 以及 *Albizia* spp. 等豆科 (Leguminisae) 植物中發現 (Foo, 1987; Fourie *et al.*, 1972; Lee and Chou, 2000)。此外，相思樹的根部亦含有 Melanoxetin 之成分 (Lee and Chou, 2000)。

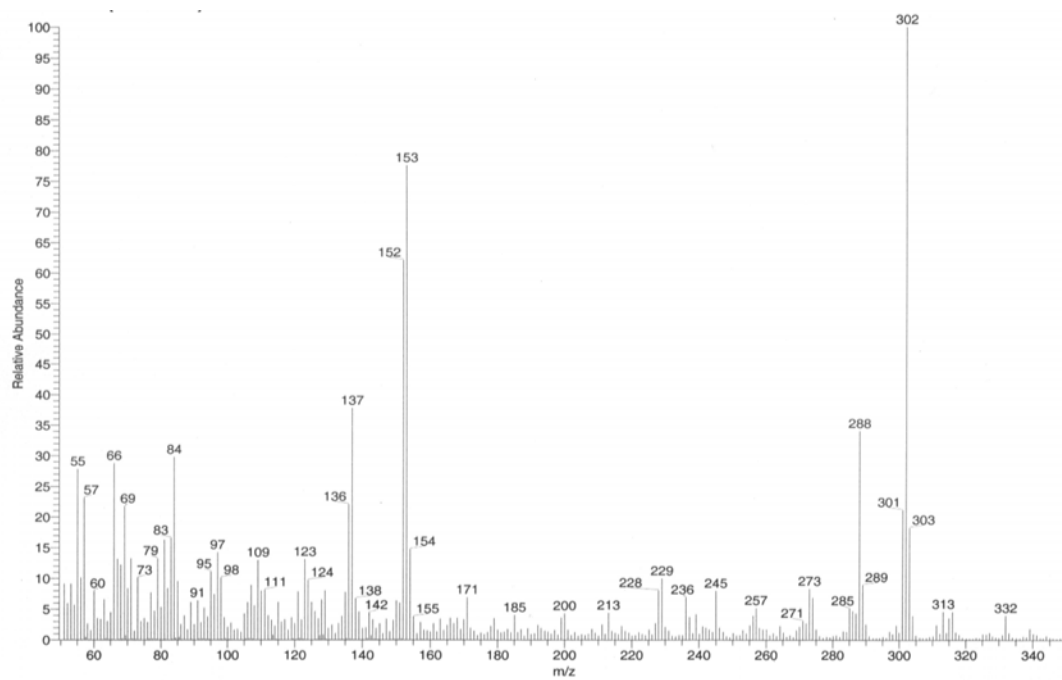


圖 20 Melanoxetin (A3) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 20 EI-MS (70 eV) spectrum of melanoxetin (A3)



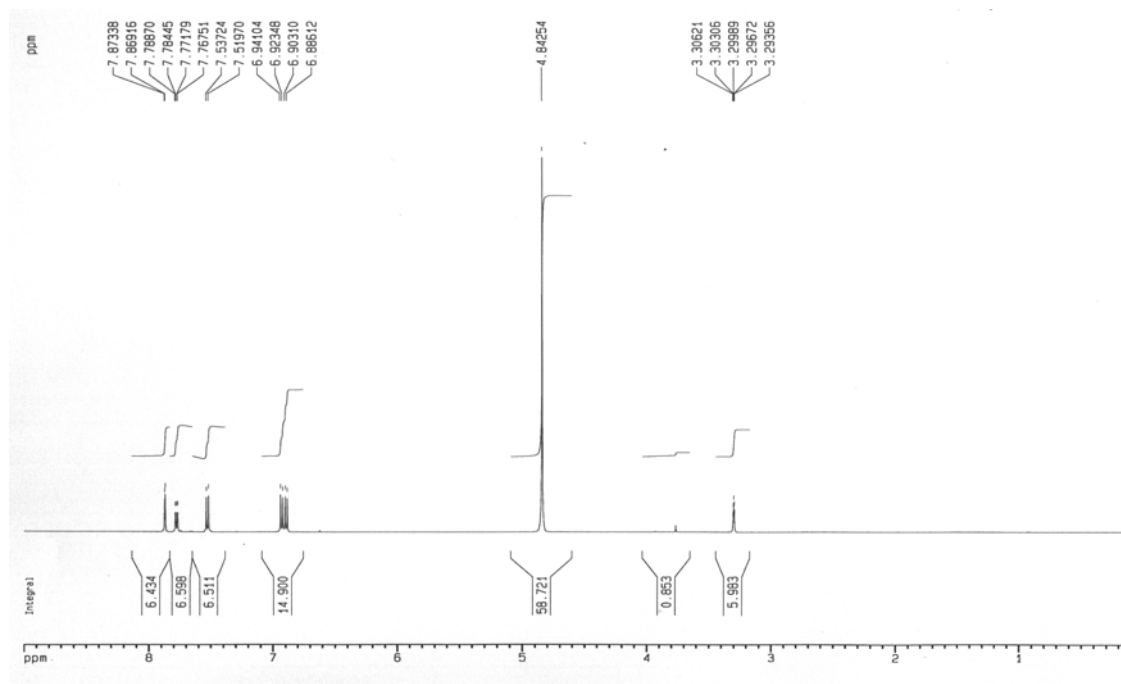


圖 21 Melanoxetin (A3) 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (400 MHz, CD_3OD)

Fig. 21 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of melanoxetin (A3) (400 MHz, CD_3OD)

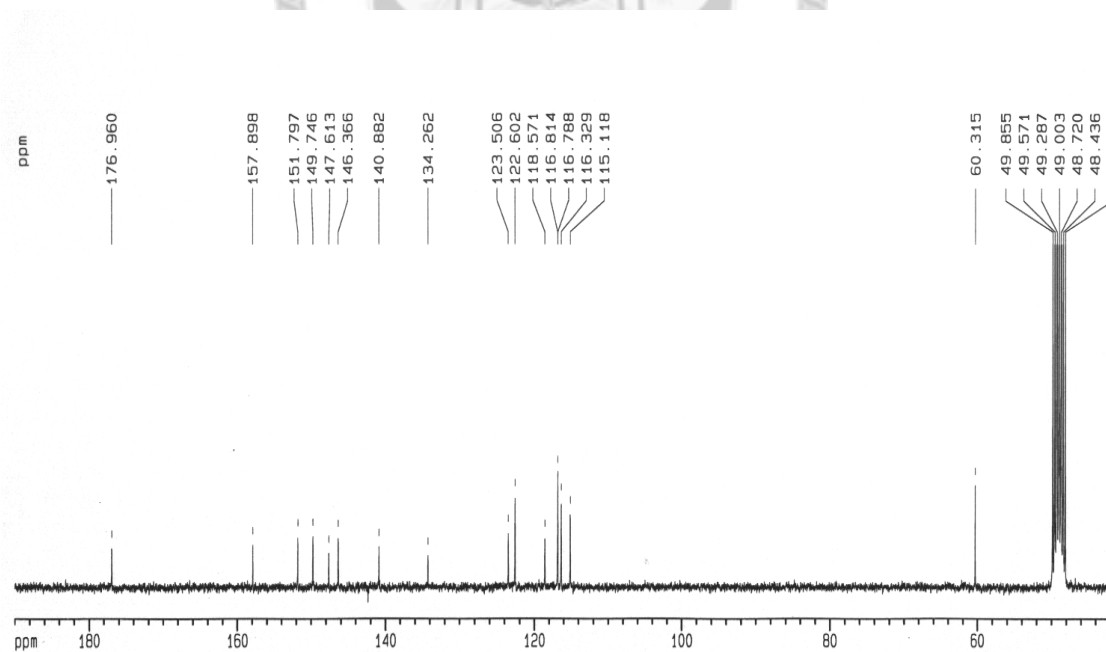


圖 22 Melanoxetin (A3) 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)

Fig. 22 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of melanoxetin (A3) (125 MHz, CD_3OD)

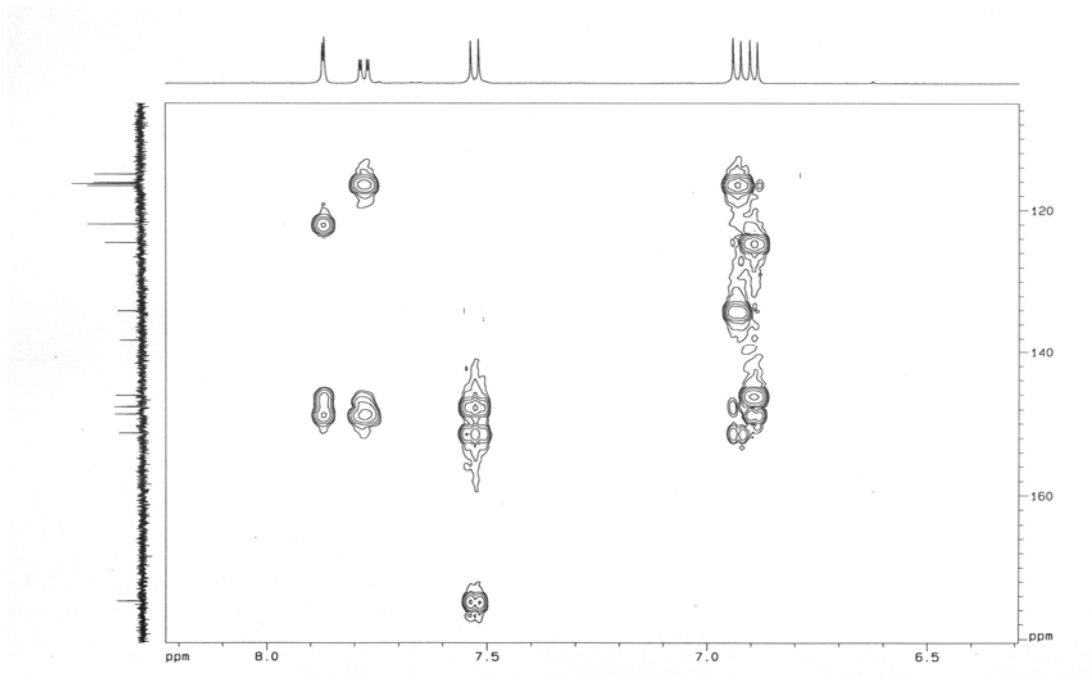


圖 23 Melanoxetin (A3) 之 HSQC 圖譜 (500 MHz, CD₃OD)

Fig. 23 HSQC spectrum of melanoxetin (A3) (500 MHz, CD₃OD)

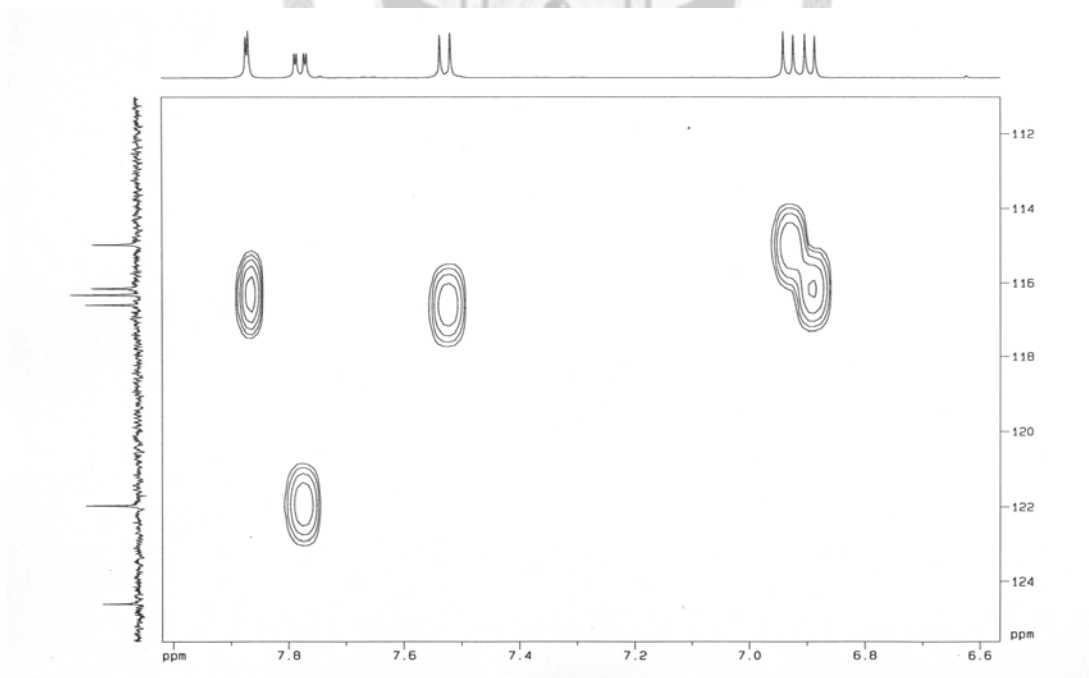


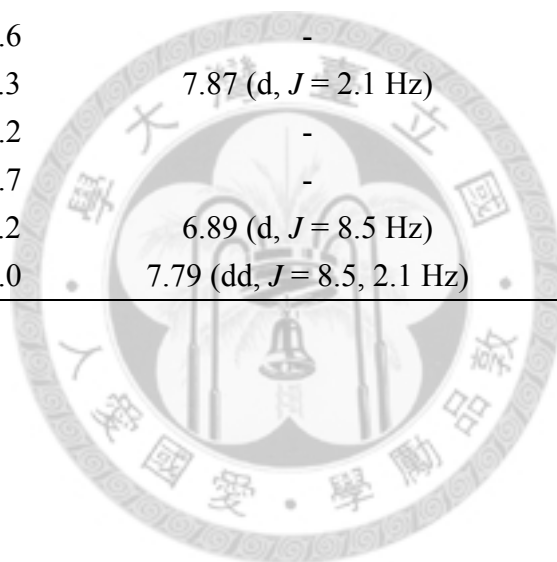
圖 24 Melanoxetin (A3) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CD₃OD)

Fig. 24 HMBC spectrum of melanoxetin (A3) (500 MHz, CD₃OD)

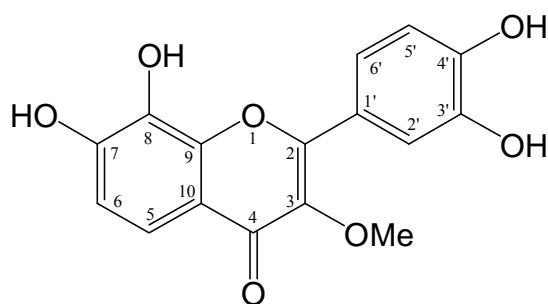
表 15 Melanoxetin (A3) 之氫譜與碳譜資料

Table 15 ^1H - and ^{13}C -NMR data of melanoxetin (A3)

Positions	δ_{C}	δ_{H}	HMBC
2	147.7	-	H-2', H-6'
3	138.2	-	-
4	174.8	-	H-5
5	116.6	7.53 (d, $J = 8.8$ Hz)	-
6	115.0	6.93 (d, $J = 8.8$ Hz)	-
7	151.3	-	H-5, H-6
8	134.1	-	H-6
9	147.7	-	H-5
10	116.3	-	H-6
1'	124.6	-	H-5'
2'	116.3	7.87 (d, $J = 2.1$ Hz)	H-6'
3'	146.2	-	H-5'
4'	148.7	-	H-2', H-6'
5'	116.2	6.89 (d, $J = 8.5$ Hz)	-
6'	122.0	7.79 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz)	H-2'



A4 : Transilitin



A4是由EA4分離部分離純化後獲得，經質譜分析得知分子量為316(圖25)，推測分子式為 $C_{16}H_{12}O_7$ 。分析 1H -NMR(圖26)結果得知，該化合物氫譜資料與A3(Melanoxetin)極為相似，二者均具有2組苯環的氫訊號，第1組為AB型態訊號 δ 6.94(d, J = 8.7 Hz, H-6)、 δ 7.53(d, J = 8.7 Hz, H-5)及第2組ABX分裂訊號 δ 6.91(d, J = 8.4 Hz, H-5')、 δ 7.66(dd, J = 8.4, 2.1 Hz, H-6')和 δ 7.74(d, J = 2.1 Hz, H-2')。而A4相較於A3在 δ 3.76(3H, s, H-3)多一甲氧基訊號，且可能是A3的衍生物。因此，推論A4應屬Flavone類化合物。

^{13}C -NMR(圖27)分析結果得知，共有16個碳訊號分別為有1個甲氧基訊號 δ 60.3及2組苯環及一雙鍵結構的訊號(δ 110–160 \times 14); 1個共軛羰基(Conj. C=O)訊號 δ 177.0。

進一步利用二維核磁共振進行分析，確認圖譜中甲氧基所接之位置，由HMBC圖譜(圖28)可得知，甲氧基中之氫(δ 3.76)與C-3(δ 140.9)具有偶合關聯，顯示此甲氧基連接在C-3位置。因此，綜合上述分析圖譜結果及與文獻資料(Kang *et al.*, 2008)比對後，確認該化合物為Transilitin。

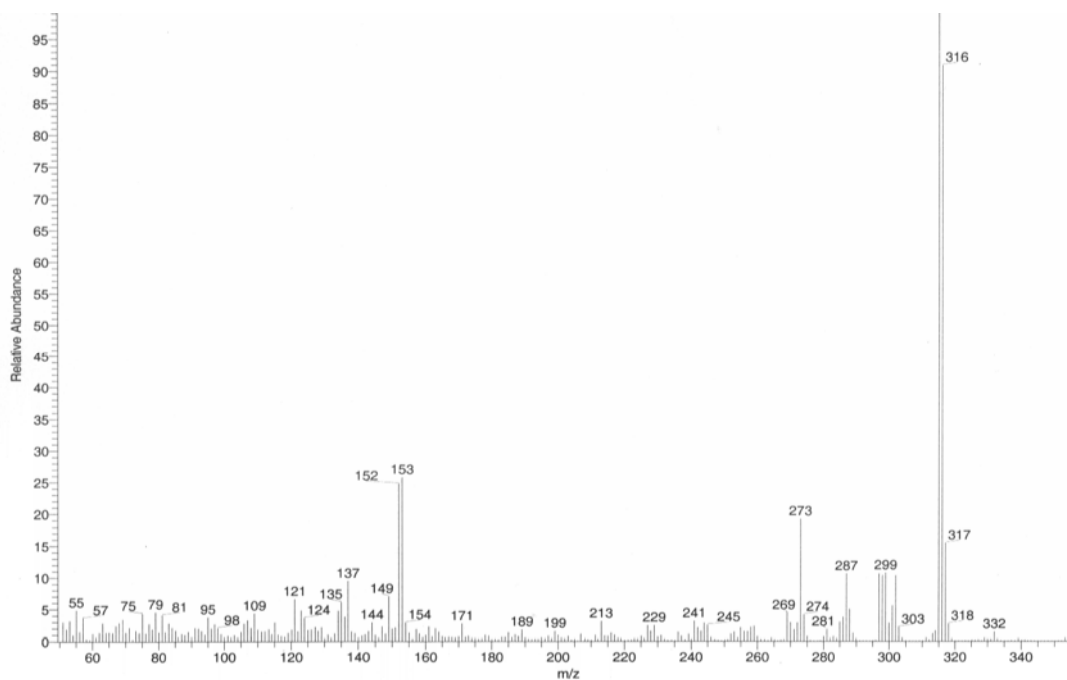


圖 25 Transilitin (A4) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 25 EI-MS (70 ev) spectrum of transilitin (A4)

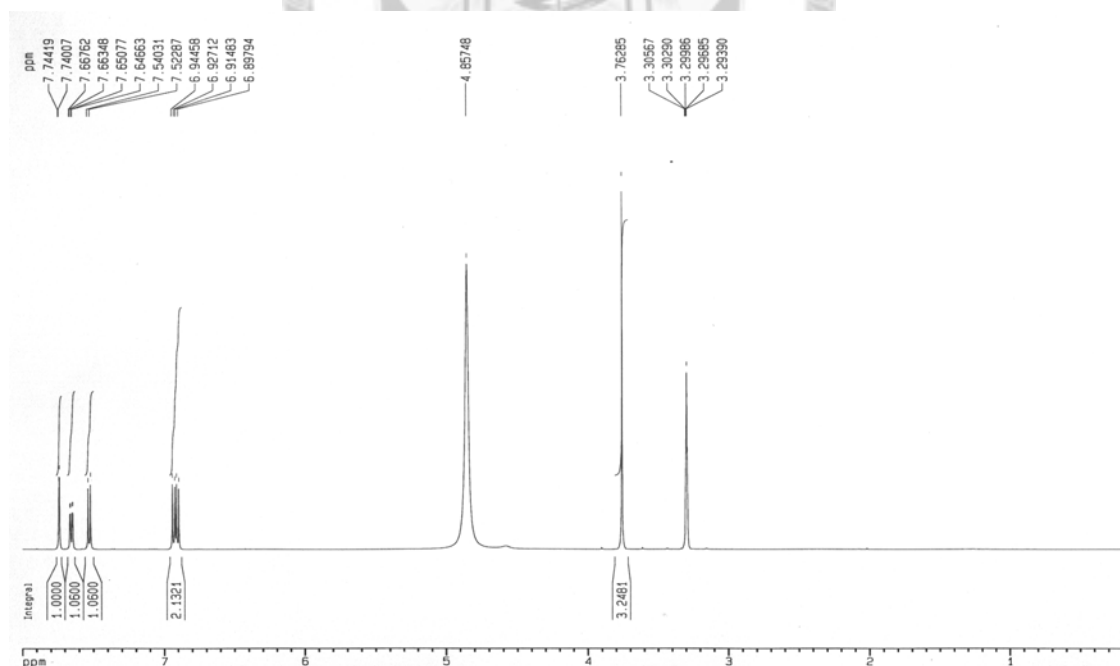


圖 26 Transilitin (A4) 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)

Fig. 26 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of transilitin (A4) (500 MHz, CD_3OD)

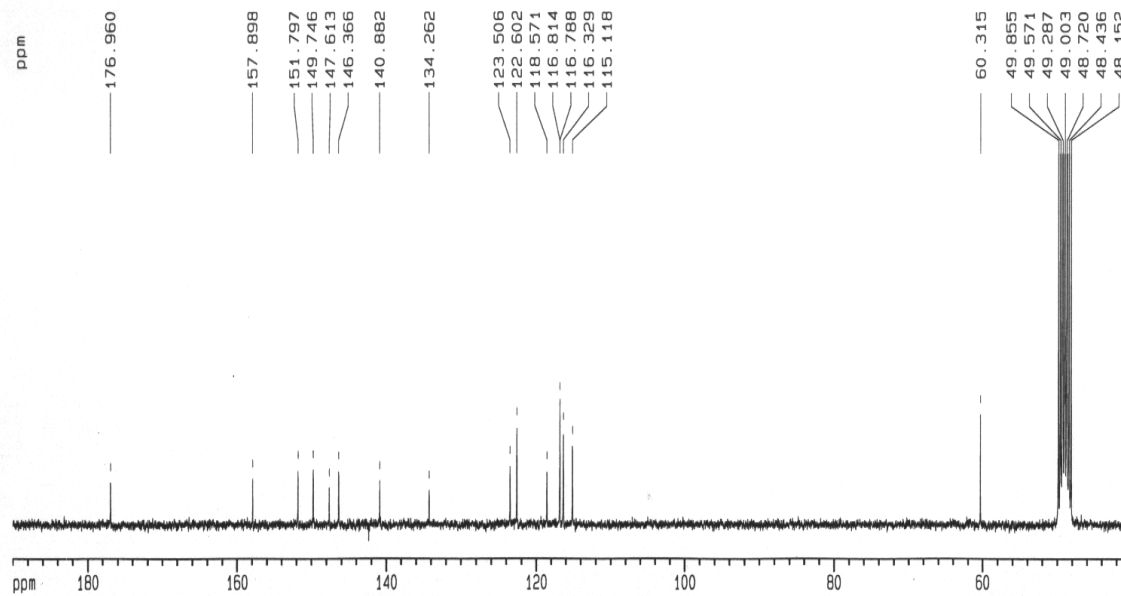


圖 27 Transilitin (A4) 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)

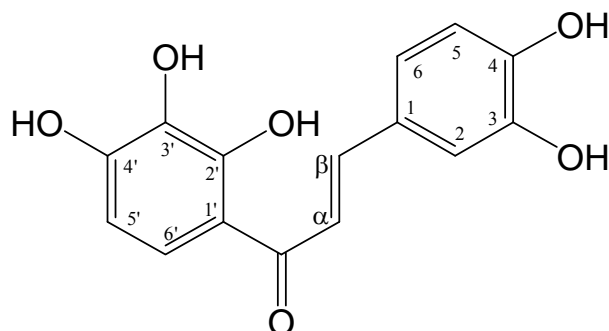
Fig. 27 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of transilitin (A4) (125 MHz, CD_3OD)



圖 28 Transilitin (A4) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)

Fig. 28 HMBC spectrum of transilitin (A4) (500 MHz, CD_3OD)

A5 : Okanin



A5 是由 EA5 分離部分離純化後獲得，為橘紅色粉末狀固體，經質譜分析得知分子量為 288 (圖 29)，推測分子式為 $C_{15}H_{12}O_6$ 。分析 1H -NMR (圖 30) 結果得知，該化合物具有 2 組苯環的氫訊號，第 1 組為 AB 分裂訊號 δ 6.46 (d, $J=9.0$ Hz, H-5')、 δ 7.52 (d, $J=9.0$ Hz, H-6') 及第 2 組 ABX 型分裂訊號之 δ 6.81 (d, $J=8.2$ Hz, H-5)、 δ 7.10 (dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, H-6) 和 δ 7.17 (d, $J=1.9$ Hz, H-2)。而在 δ 7.53 (d, $J=15.2$ Hz, H- α) 及 δ 7.72 (d, $J=15.2$ Hz, H- β) 則有 1 組反式 (*trans*) 二取代烯基訊號。 ^{13}C -NMR (圖 31) 分析結果得知，此化合物有 2 組苯環及一雙鍵結構 (δ 100–160 \times 14)，及一羰基 (Conj. C=O) 訊號 (δ 194.1)，因此，推論該化合物應為 Chalcone 類化合物。

進一步利用二維核磁共振分析確認 A5 之碳—氫聯結關係。分析圖 32 HSQC 結果發現，第 1 組 δ 7.52 (H-6') 及 δ 6.46 (H-5') 之氫分別與 δ 123.2 (C-6') 及 δ 108.6 (C-5') 碳相聯結；而第 2 組 ABX 型分裂訊號之氫 δ 7.17 (H-2)、 δ 7.10 (H-6) 及 δ 6.81 (H-5) 則分別與 δ 115.8 (C-2)、 δ 123.6 (C-6) 及 δ 116.7 (C-5) 之碳聯結。至於烯基之氫 δ 7.72 (H- β) 及 δ 7.53 (H- α)，則分別與 δ 146.0 (C- β) 及 δ 118.5 (C- α) 之碳聯結。此外，由圖 33 HMBC 耦合關係更確認每個氫與碳之相連接關係，7.52 (H-6') 及 δ 6.46 (H-5') 之氫則分別與 δ 153.3 (C-4')、 δ 154.4 (C-2')、 δ 194.1 (C=O) 及 δ 115.2 (C-3')、 δ 133.8 (C-1') 的碳具有長距離耦合關聯，表 16 即為該化合物碳、氫相對之化學位移及 HMBC 關聯。綜合以上之結果，確認 A5 為 Okanin。

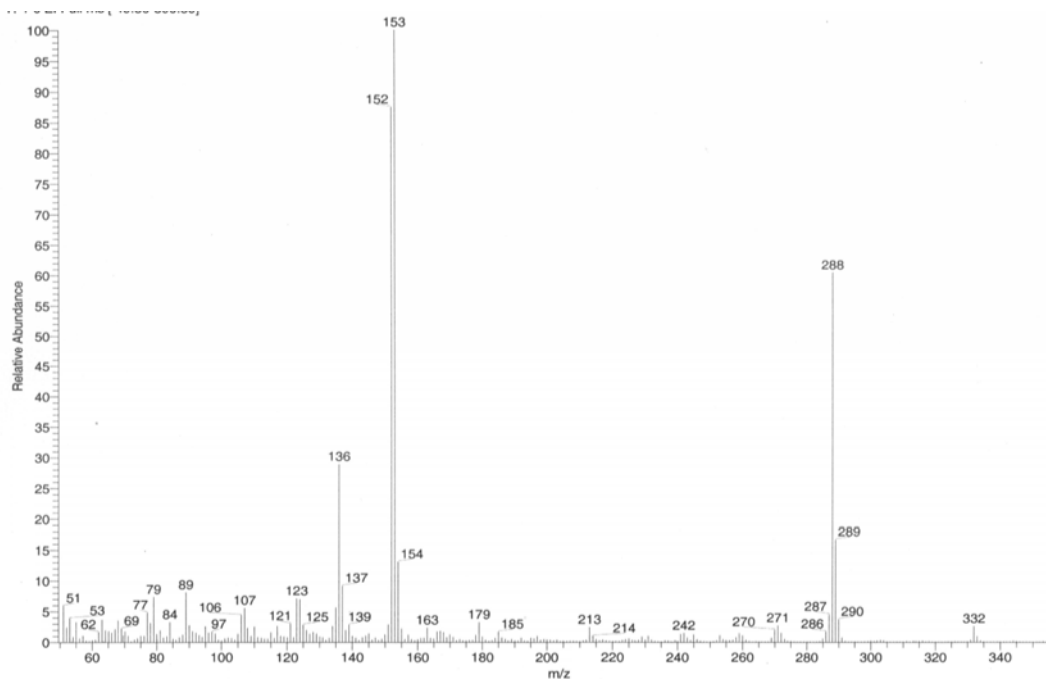


圖 29 Okanin (A5) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 29 EI-MS (70 ev) spectrum of okanin (A5)

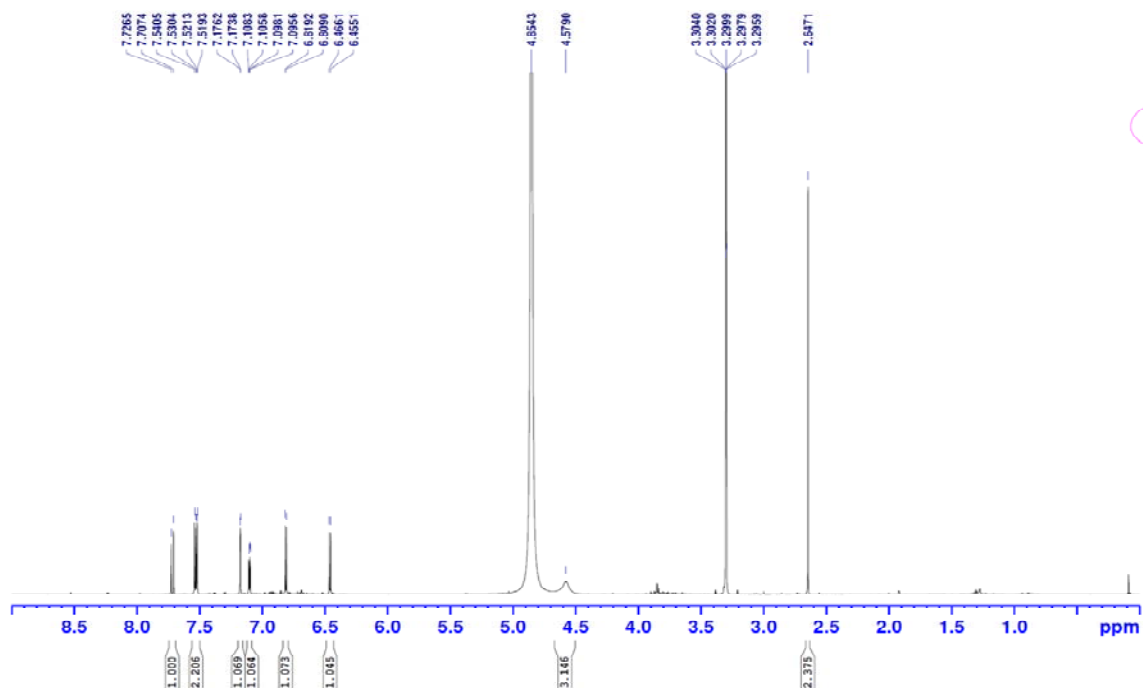


圖 30 Okanin (A5) 之 ¹H-NMR 圖譜 (800 MHz, CD₃OD)

Fig. 30 ¹H-NMR spectrum of okanin (A5) (800 MHz, CD₃OD)

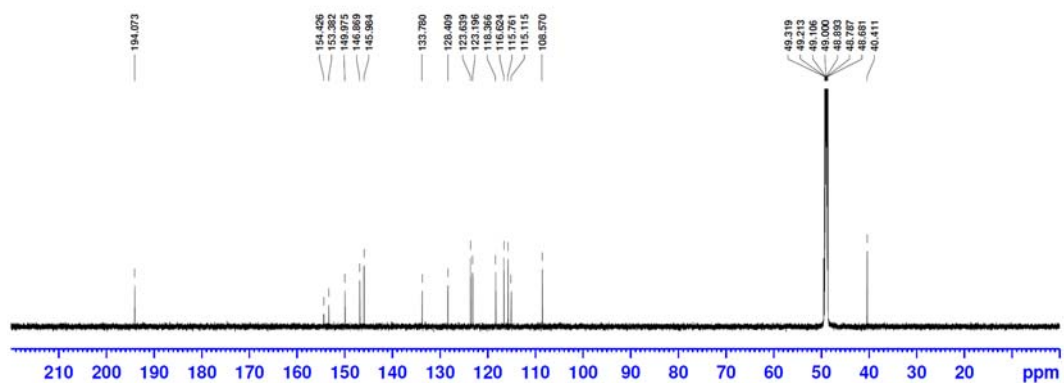


圖 31 Okanin (A5) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (200 MHz, CD_3OD)

Fig. 31 ^{13}C -NMR spectrum of okanin (A5) (200 MHz, CD_3OD)

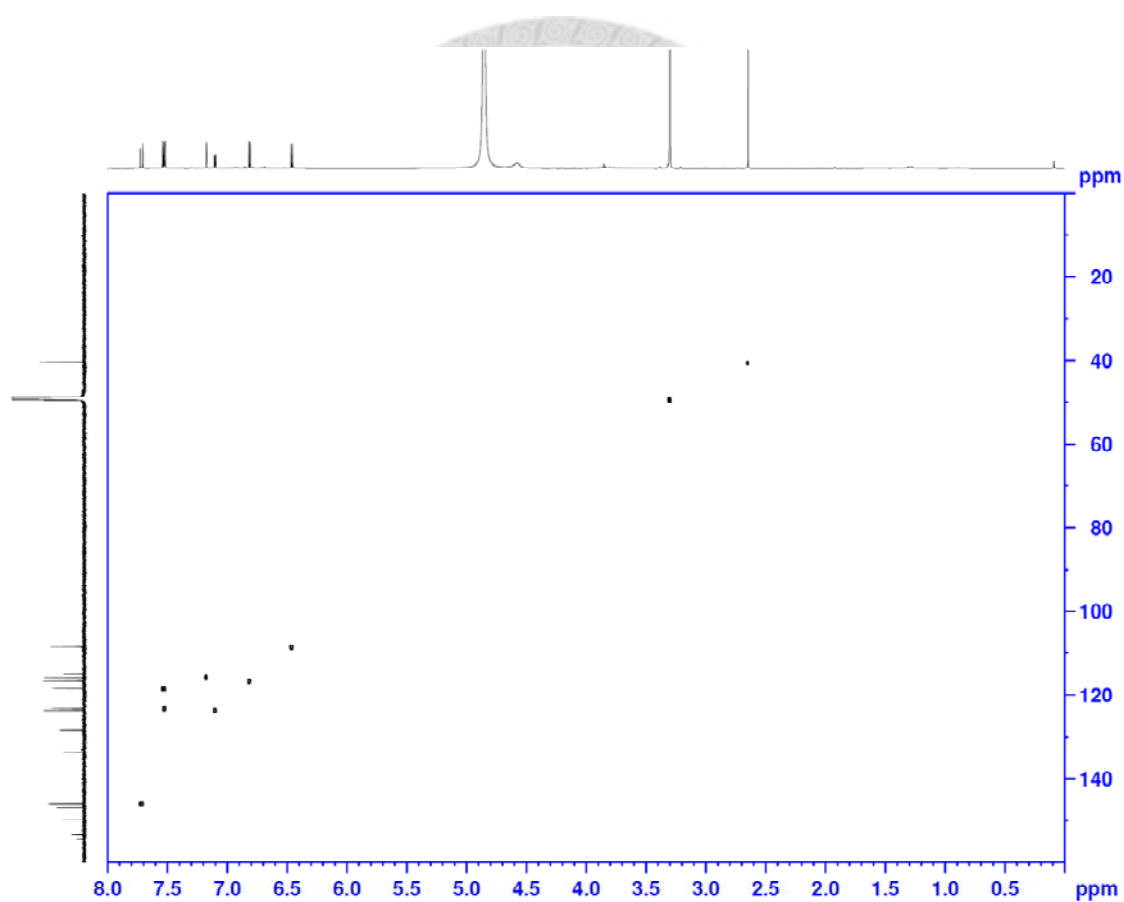


圖 32 Okanin (A5) 之 HSQC 圖譜 (800 MHz, CD_3OD)

Fig. 32 HSQC spectrum of okanin (A5) (800 MHz, CD_3OD)

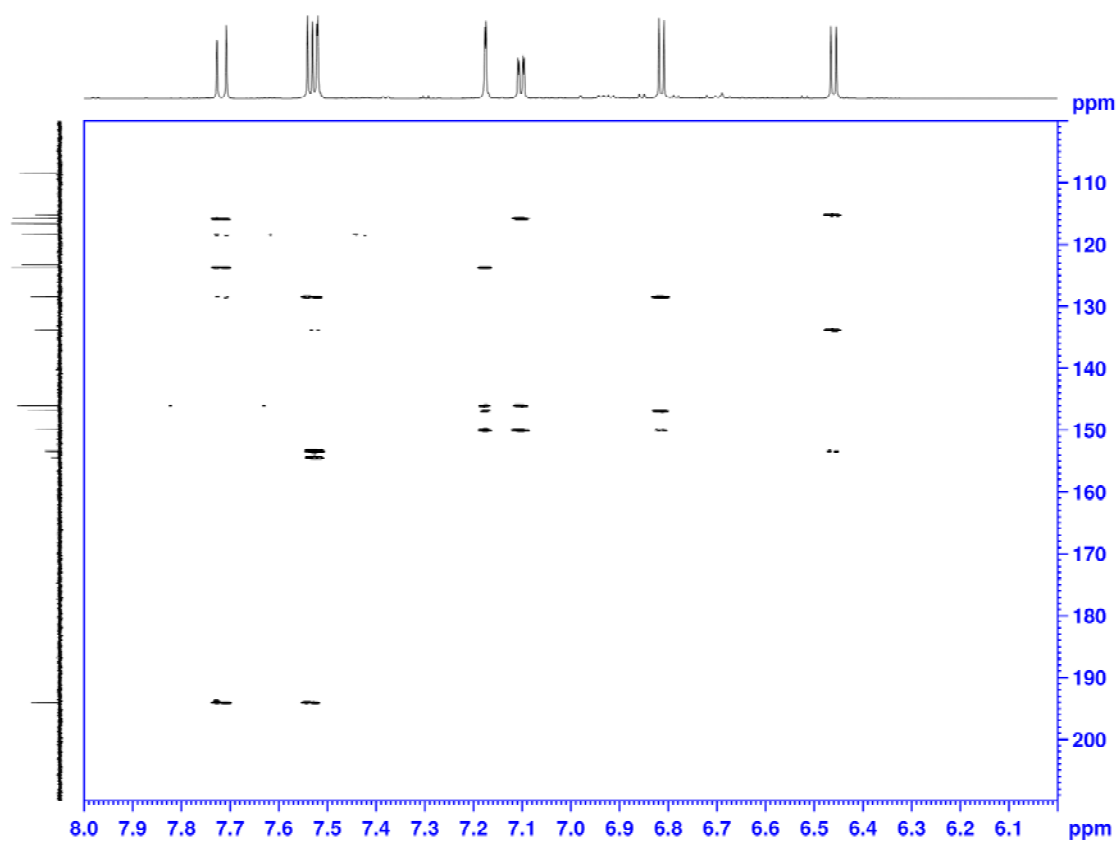


圖 33 Okanin (A5) 之 HMBC 圖譜 (800 MHz, CD₃OD)

Fig. 33 HMBC spectrum of okanin (A5) (800 MHz, CD₃OD)

表 16 Okanin (A5) 之氫譜與碳譜資料

Table 16 ^1H - and ^{13}C -NMR data of okanin (A5)

Positions	δ_{C}	δ_{H}	HMBC
1	128.5	-	H- α , H- β , H-5
2	115.8	7.17 (d, $J = 1.9$ Hz)	H- β , H-6
3	146.9	-	H-5
4	150.0	-	H-2, H-5, H-6
5	116.7	6.81 (d, $J = 8.2$ Hz)	-
6	123.6	7.10 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz)	H- β , H-2
1'	133.8	-	H- α , H-5'
2'	154.4	-	H-6'
3'	115.2	-	H-5'
4'	153.3	-	H-5', H-6'
5'	108.6	6.46 (d, $J = 9.0$ Hz)	-
6'	123.2	7.52 (d, $J = 9.0$ Hz)	-
α	118.5	7.53 (d, $J = 15.2$ Hz)	-
β	146.0	7.72 (d, $J = 15.2$ Hz)	H-2, H-6
C=O	194.1	-	H- β , H-6'

2. 臺灣杉心材正己烷可溶部活性成分之分離與鑑定

為了解臺灣杉心材正己烷可溶部中次分離部 (Hex2–Hex5) 之主成分，本研究利用 HPLC 分離及純化正己烷次分離部之主成分，將化合物以光譜分析進行鑑定，即利用 $^1\text{H-NMR}$ 光譜圖上各個特性吸收比對本實驗室先前的研究 (王升陽, 1999; 吳季玲, 2005) 及利用標準品進行共注射法來確定化合物結構。

經由鑑定後得知 Hex2 主成分為 Ferruginol (T1), Hex3 主成分為 Cedrol (T2)、T-Cadinol (T3) 及 T-Muurolol (T4), Hex4 主成分為 α -Cadinol (T5), Hex5 主成分為 Hinokinol (T6), 共得 6 個純化合物，其結構如圖 34 所示。



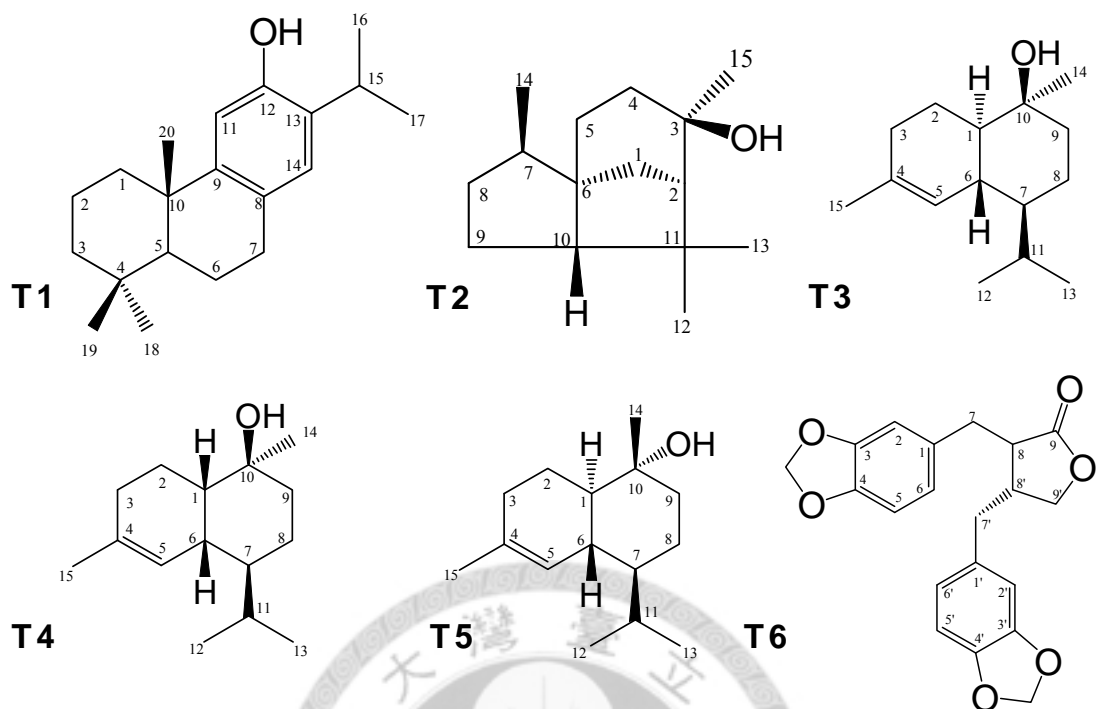
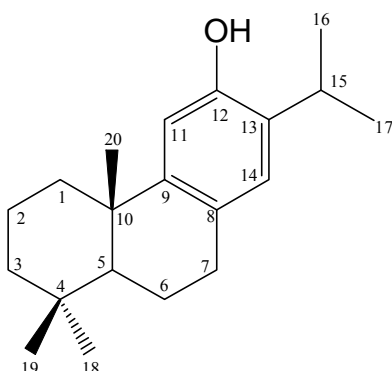


圖 34 由臺灣杉心材正己烷可溶部分離所得 6 個化合物，**T1**：Ferruginol, **T2**：Cedrol, **T3**：T-Cadinol, **T4**：T-Muurolol, **T5**： α -Cadinol, **T6**：Hinokinin。

Fig. 34 Chemical structures of six phytochemicals isolated from the *n*-Hex fraction of *T. cryptomerioides* heartwood, **T1**: ferruginol, **T2**: cedrol, **T3**: T-cadinol, **T4**: T-muurolol, **T5**: α -cadinol, **T6**: hinokinin.

以下對Hex2-Hex5之分離純化後化合物光譜特性進行說明：

T1 : Ferruginol



T1是由Hex2分離部分離純化後獲得，為一褐色油狀物，經質譜分析得知分子量為286（圖35），推測分子式為 $C_{20}H_{30}O$ 。分析 1H -NMR圖譜（圖36）結果得知， δ 3.11 (sep, $J = 7.0$ Hz, H-15) 為苄基 (Benzylic) 結構的氫，而 δ 6.62 (s, H-11) 及 δ 6.82 (s, H-14) 此2個氫則為苯環上對位氫的訊號，另有5個甲基訊號 δ 0.90 (s, H_3 -19)、 δ 0.92 (s, H_3 -18)、 δ 1.15 (s, H_3 -20)、 δ 1.20 (d, $J = 7.0$ Hz, H_3 -16) 及 δ 1.23 (d, $J = 7.0$ Hz, H_3 -17)。由1個次甲基結構 (H-15) 及2個二重峰 (d) 甲基結構訊號 (H_3 -16及 H_3 -17)，顯示T1具有1組異丙基結構。而由 ^{13}C -NMR圖譜（圖37）顯示T1具有1組苯環結構的碳 (δ 110.0–155.0 \times 6)，且其中1個苯酚基的碳 δ 151.0，由此推知T1可能為Abietane類之二萜類。由以上光譜數據及與文獻值 (Li *et al.*, 2008) 比對後，確認T1為Ferruginol。

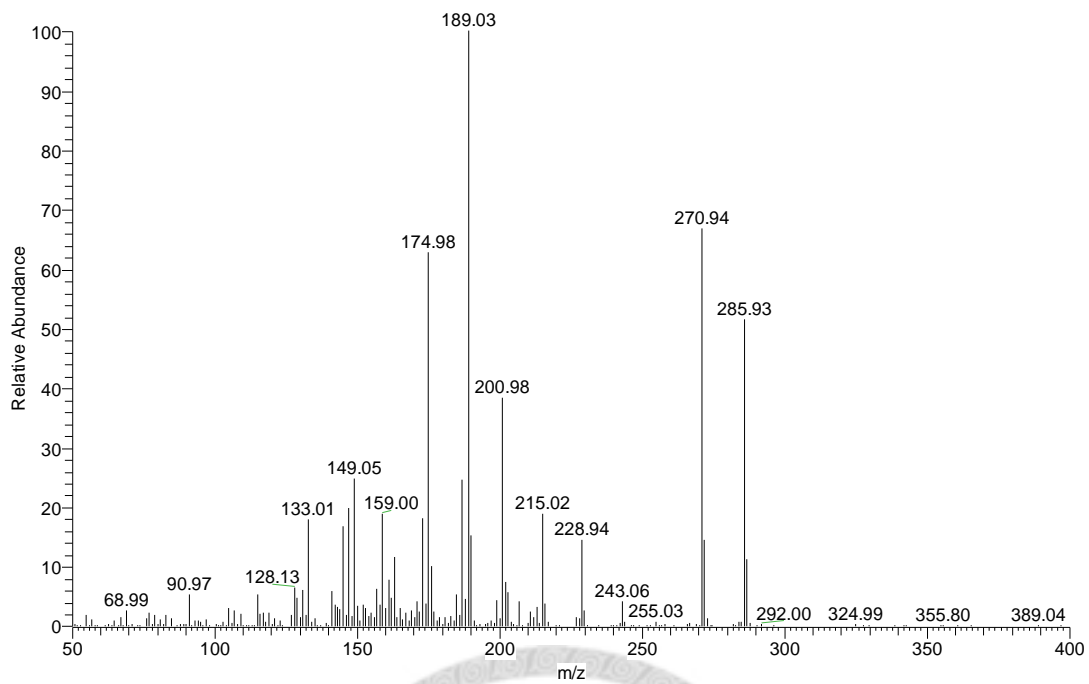


圖 35 Ferruginol (T1) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 35 EI-MS (70 eV) spectrum of ferruginol (T1)

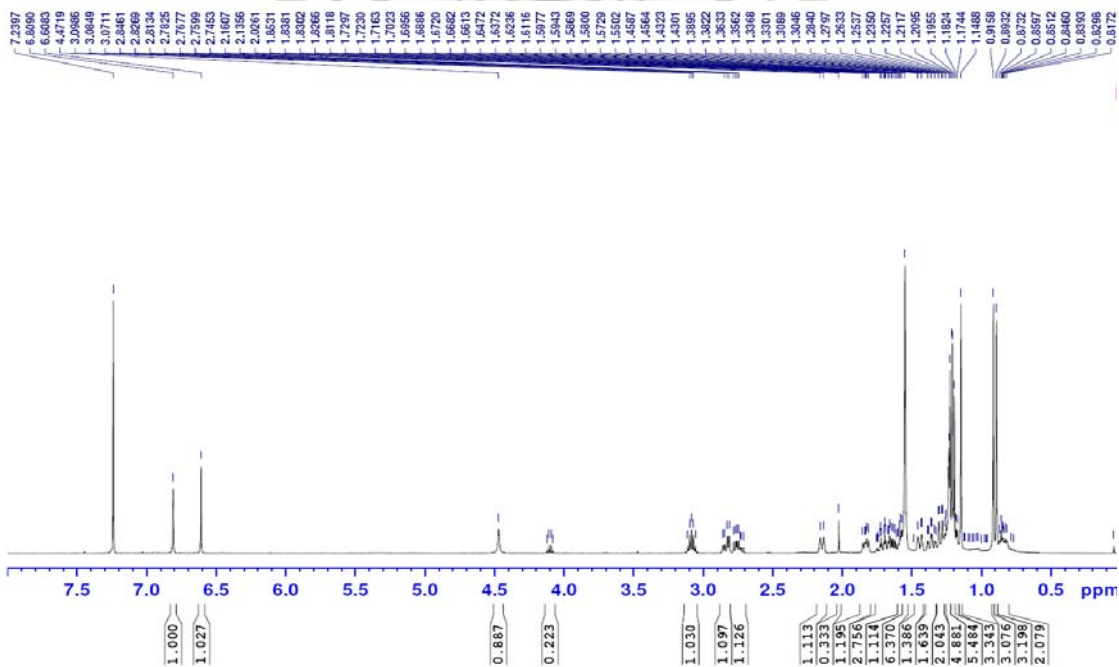


圖 36 Ferruginol (T1) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 36 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of ferruginol (T1) (500 MHz, CDCl_3)

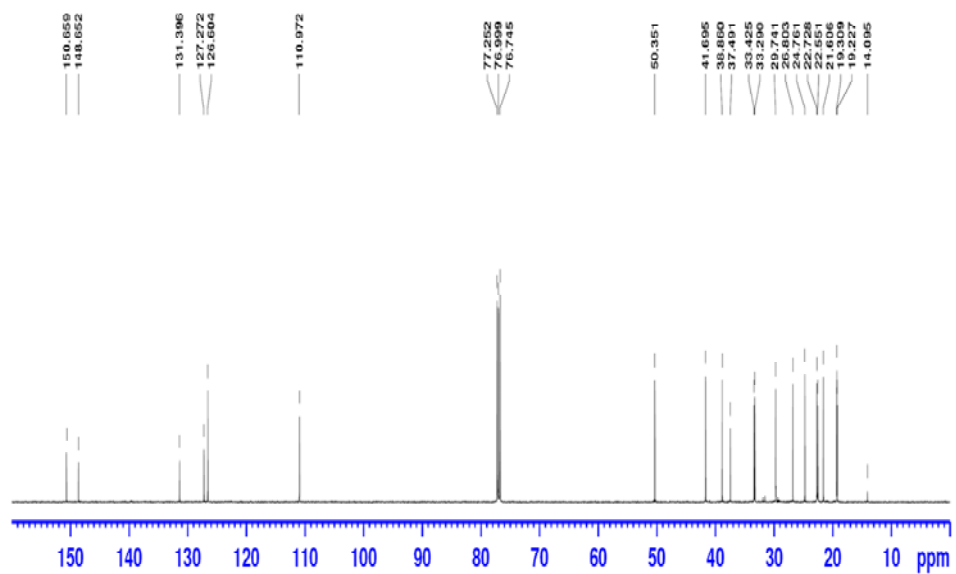
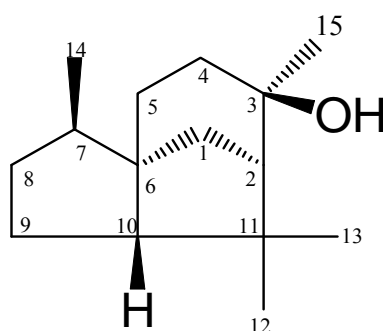


圖 37 Ferruginol (T1) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)

Fig. 37 ^{13}C -NMR spectrum of ferruginol (T1) (125 MHz, CDCl_3)



T2 : Cedrol



T2是由Hex3分離部分離純化後獲得，為一白色針狀結晶，經質譜分析得知脫一分子水 ($[M-H_2O]^+$, 18) 之分子量為204 (圖38)，推測分子式 $C_{15}H_{26}O$ 。分析 1H -NMR圖譜 (圖39) 結果得知，T2結構具有4個甲基特性的氫原子，分別位於 δ 0.81 (d, $J = 7.1$ Hz, H_3 -14)， δ 0.98 (s, H_3 -13)， δ 1.24 (s, H_3 -15) 及 δ 1.28 (s, H_3 -12)。由 ^{13}C -NMR (圖40) 分析得知共有15個碳 δ 15.6 (C-14)、 δ 25.3 (C-9)、 δ 27.6 (C-13)、 δ 28.9 (C-12)、 δ 30.2 (C-15)、 δ 31.6 (C-5)、 δ 35.3 (C-4)、 δ 37.0 (C-8)、 δ 41.4 (C-7)、 δ 41.9 (C-1)、 δ 43.4 (C-11)、 δ 54.1 (C-6)、 δ 56.5 (C-10)、 δ 61.0 (C-2) 及1個羥基碳 δ 75.1 (C-3)，其中與Cadinol類化合物最明顯的差異為不具有雙鍵的吸收峰。由以上光譜數據並比對文獻值 (Brown *et al.*, 2003)，確認T2為Cedrol。

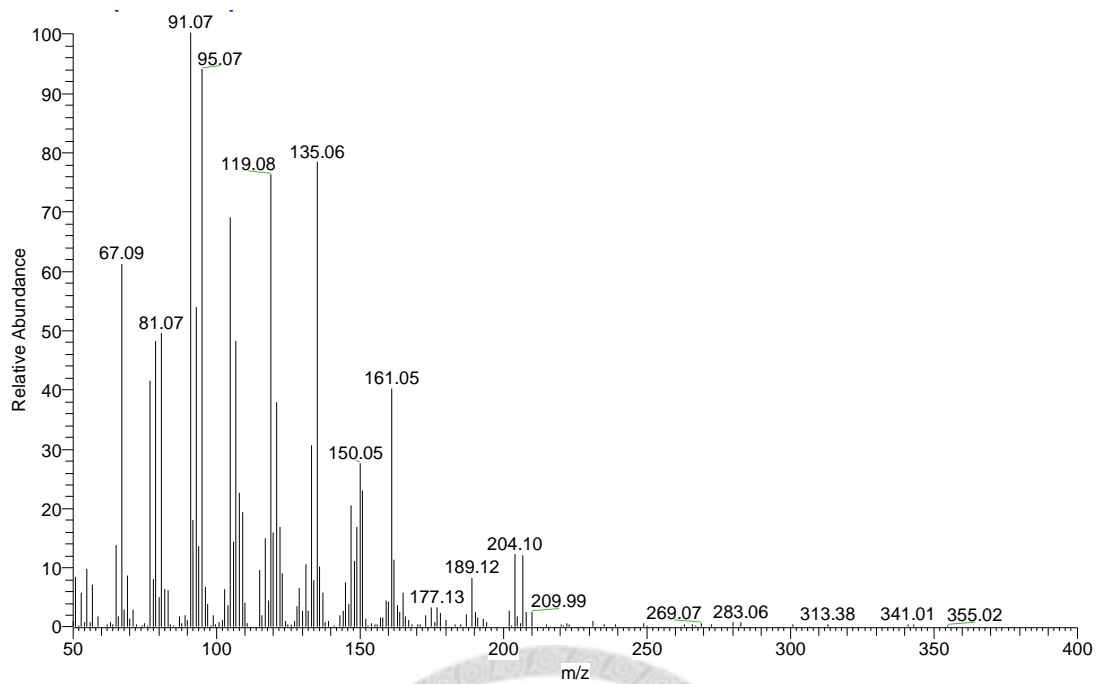


圖 38 Cedrol (T2) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 38 EI-MS (70 eV) spectrum of cedrol (T2)

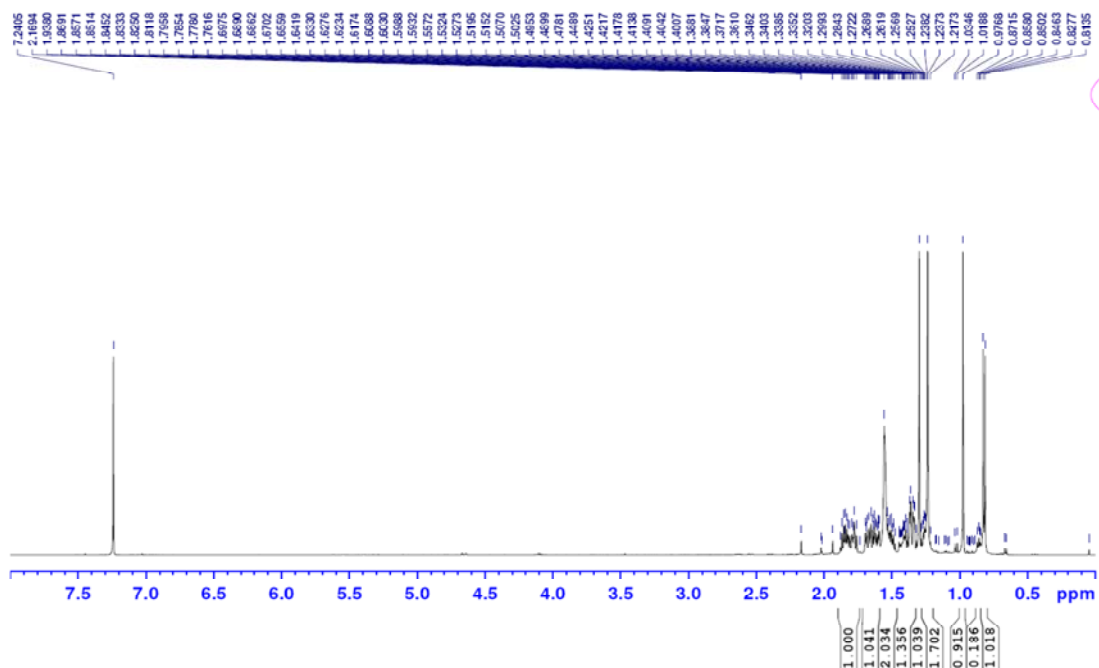


圖 39 Cedrol (T2) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 39 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of cedrol (T2) (500 MHz, CDCl_3)

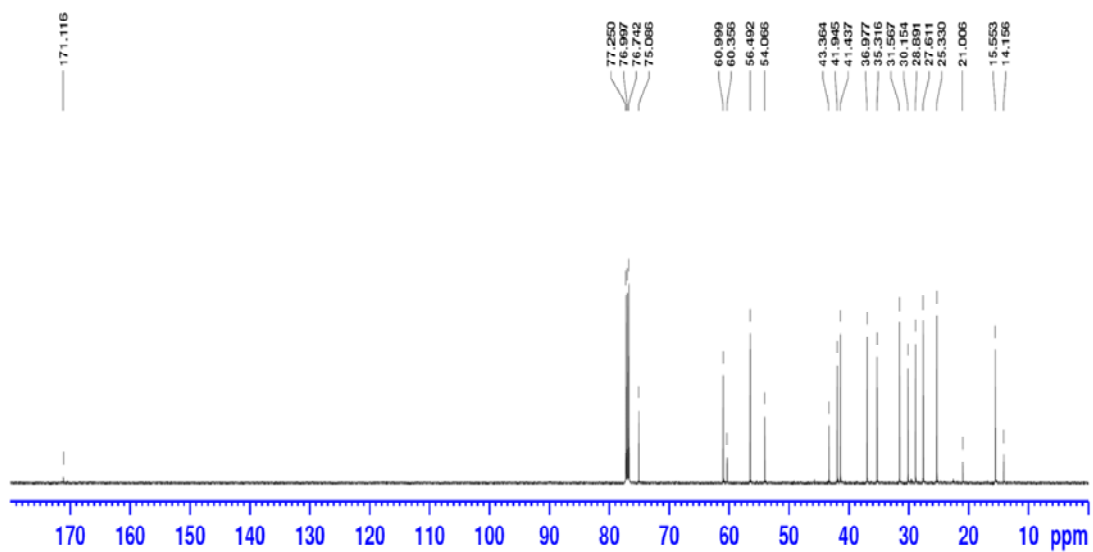
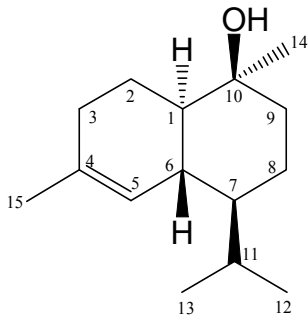
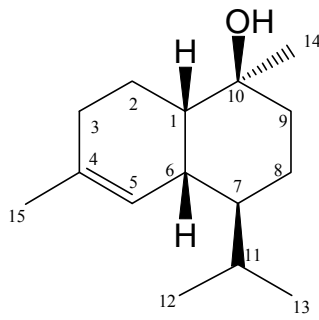
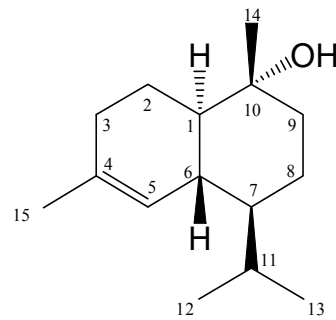


圖 40 Cedrol (**T2**) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)

Fig. 40 ^{13}C -NMR spectrum of cedrol (**T2**) (125 MHz, CDCl_3)



T3 : T-Cadinol**T4** : T-Muurolol**T5** : α -Cadinol

T3是由Hex3分離部分離純化後獲得，為一黃色油狀物，Hex4分離部則得2個主要化合物，分別為無色固體**T4**及無色針狀結晶**T5**，經質譜得知此3個化合物分子量皆為脫一分子水 ($[M-H_2O]^+$) 之分子量為204 (圖41、46及51)，推測3個化合物分子式都為 $C_{15}H_{26}O$ 。以下先就**T5**之光譜資料做探討，分析 1H -NMR圖譜 (圖52) 結果得知，**T5**結構具有 δ 0.74 (d, $J = 7.0$, H₃-12) 及 δ 0.89 (d, $J = 7.0$, H₃-13) 為2個二重峰甲基訊號，4個甲基結構訊號，其中 δ 2.13 (m, H-11) 為1個次甲基訊號，故推知**T5**具有1組異丙基的結構，第4個甲基結構訊號為接在烯基上的甲基 (δ 1.65, s, H₃-15)。綜合以上之分析結果判斷，**T5**可能為Cadinane骨架化合物。 ^{13}C -NMR圖譜 (圖53) 分析結果得知，共有15個碳的訊號，其中包含4個甲基碳的訊號 δ 15.1 (C-12)、 δ 20.7 (C-14)、 δ 21.5 (C-13) 及 δ 23.8 (C-15)，1個次甲基結構吸收 δ 26.0 (C-11)，環烷結構訊號 δ 22.0 (C-2)、 δ 22.7 (C-8)、 δ 30.9 (C-3)、 δ 40.0 (C-6)、 δ 42.2 (C-9)、 δ 46.7 (C-7)、 δ 50.0 (C-1)、 δ 72.4 (C-10)，1組烯基訊號 δ 122.3 (C-5) 及 δ 135.0 (C-4)。

進一步確認**T5**的碳—氫相連接關係，續利用二維核磁共振光譜進行分析。圖54及55為**T5**之HSQC及HMBC分析圖譜，藉由HSQC之分析即可確認每一個氫與碳相連結之關係， δ 5.47之氫 (H-5) 與 δ 122.3 (C-5) 之碳相連結 (圖54標示A之耦合訊號)，異丙基上之2組甲基上的氫 δ 0.89 (H-13) 及 δ 0.74 (H-12) 則分別與 δ 21.5 (C-13)、 δ 15.1 (C-12) 之碳相連結 (圖54標示B、C之耦合訊號)。又藉由碳氫長距離 (2J 及 3J) 耦合關係的測定，可再確認出每個氫與碳相對應關係，如與 δ 1.07 (H-14) 有長距離耦合關係之碳為 δ 42.2 (C-9)， δ 50.0 (C-1)，

δ 72.5 (C-10) 等3個碳 (圖55標示A、B、C之耦合訊號)。由以上所有光譜資料並與文獻值結果 (Chang *et al.*, 2000) 均一致，確認**T5**為 α -Cadinol。

此外，由表 17 **T3**、**T4** 及 **T5** 之 $^1\text{H-NMR}$ 化學位移比較得知，3 個化合物均具有 1 組異丙基結構及 4 個甲基結構的訊號，所以推知此 3 個化合物可能同為 Cadinane 骨架之異構物。此 3 個化合物之差異為 H-5 的氫，**T3** 和 **T5** 均為寬單峰 (br s)，分別位於 δ 5.53 及 δ 5.47，但 **T4** 的 H-5 則為二重峰 (δ 5.55, br d, $J=6.3$ Hz)。另一個最明顯的差別則是 H-14 之化學位移，**T3** (δ 1.20, s)、**T4** (δ 1.18, s)、**T5** (δ 1.07, s)，由以上結果並與文獻值結果 (Chang *et al.*, 2000) 均一致，確認 **T3** 為 T-Cadinol，**T4** 為 T-Muurolol。

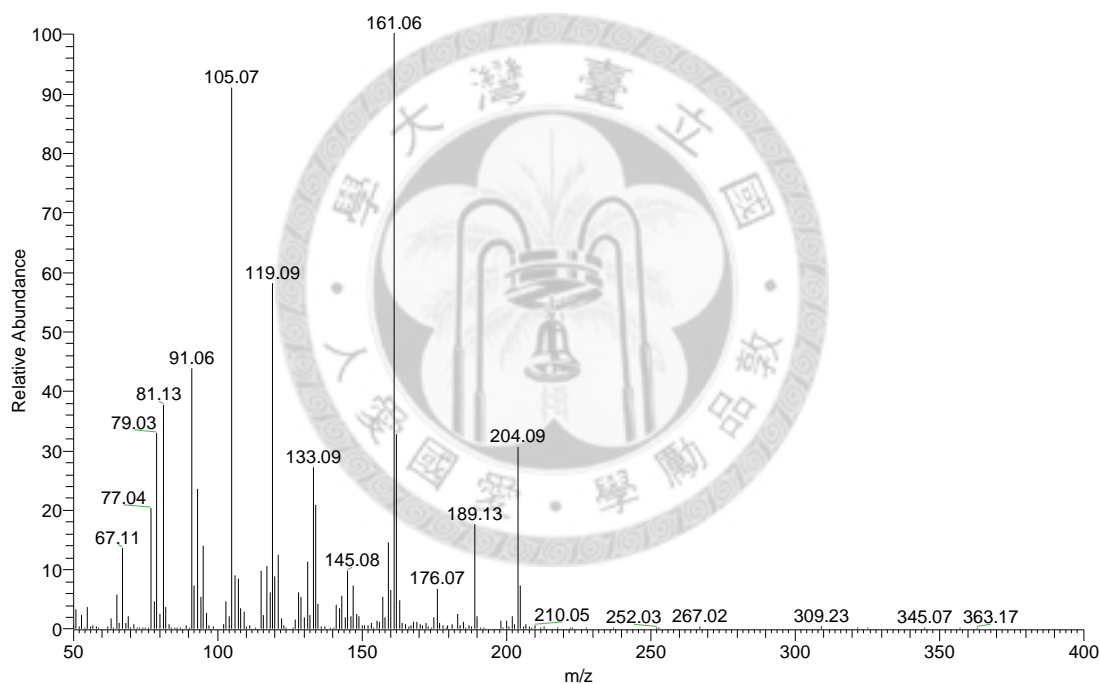


圖 41 T-Cadinol (**T3**) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 41 EI-MS (70 eV) spectrum of T-cadinol (**T3**)

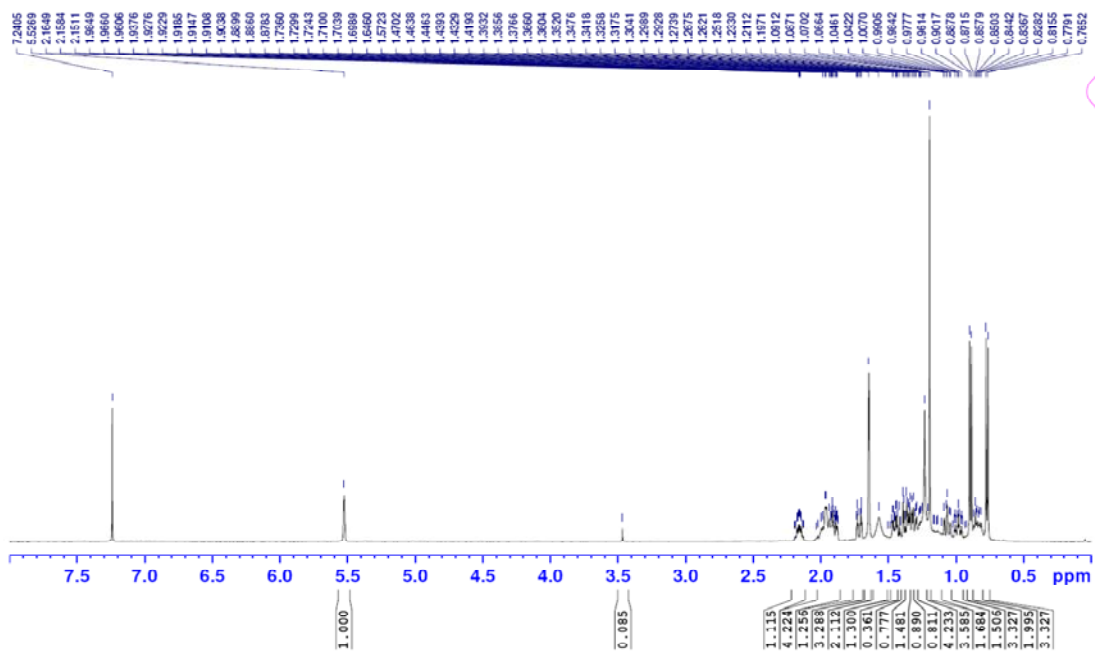


圖 42 T-Cadinol (**T3**) 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 42 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of T-cadinol (**T3**) (500 MHz, CDCl_3)

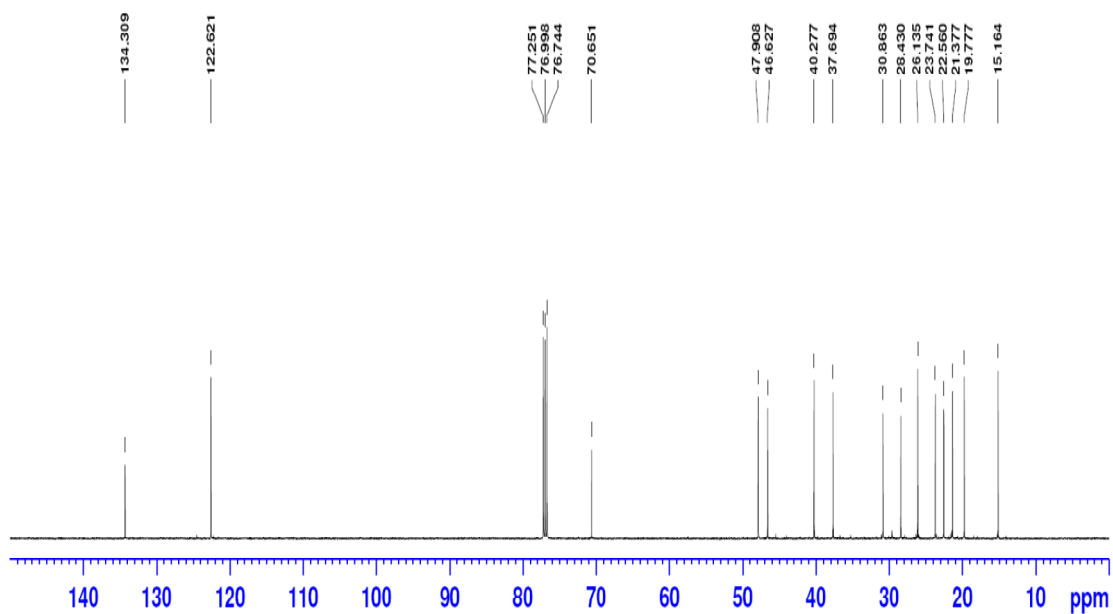


圖 43 T-Cadinol (**T3**) 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)

Fig. 43 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of T-cadinol (**T3**) (125 MHz, CDCl_3)

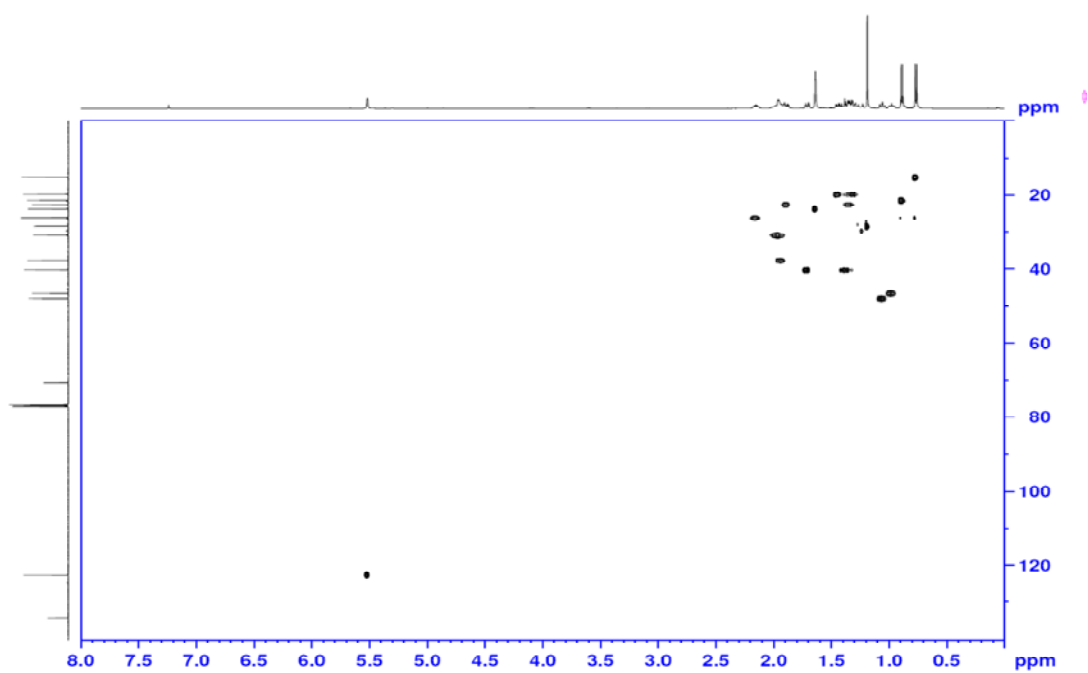


圖 44 T-Cadinol (T3) 之 HSQC 圖譜 (500 MHz, CDCl₃)

Fig. 44 HSQC spectrum of T-cadinol (T3) (500 MHz, CDCl₃)

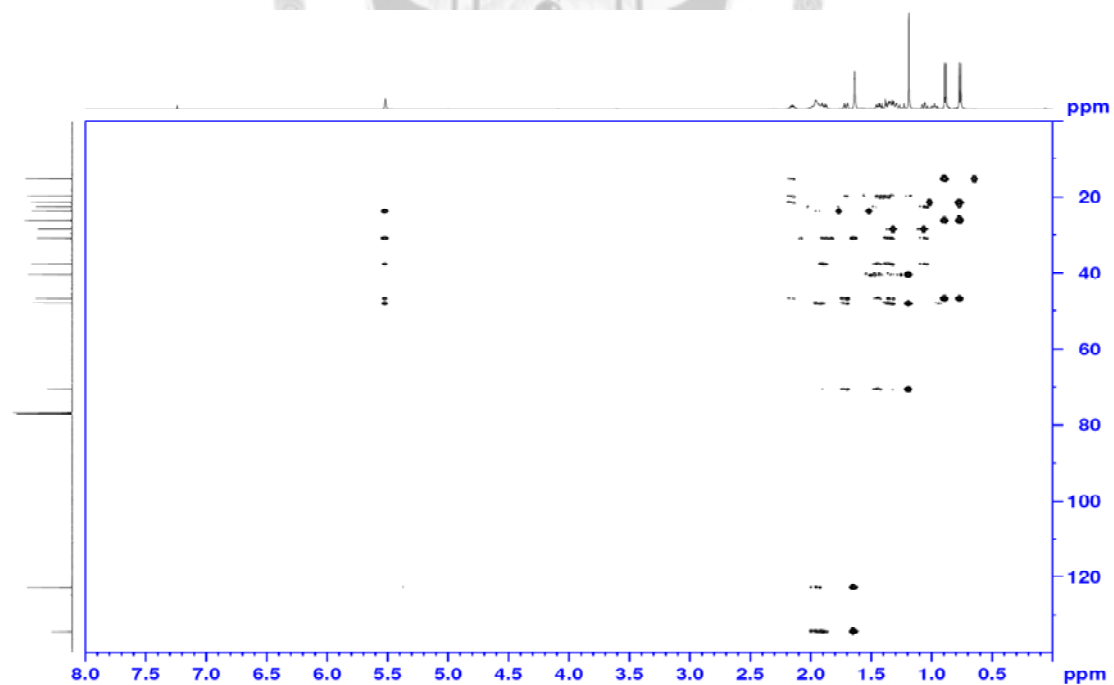


圖 45 T-Cadinol (T3) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CDCl₃)

Fig. 45 HMBC spectrum of T-cadinol (T3) (500 MHz, CDCl₃)

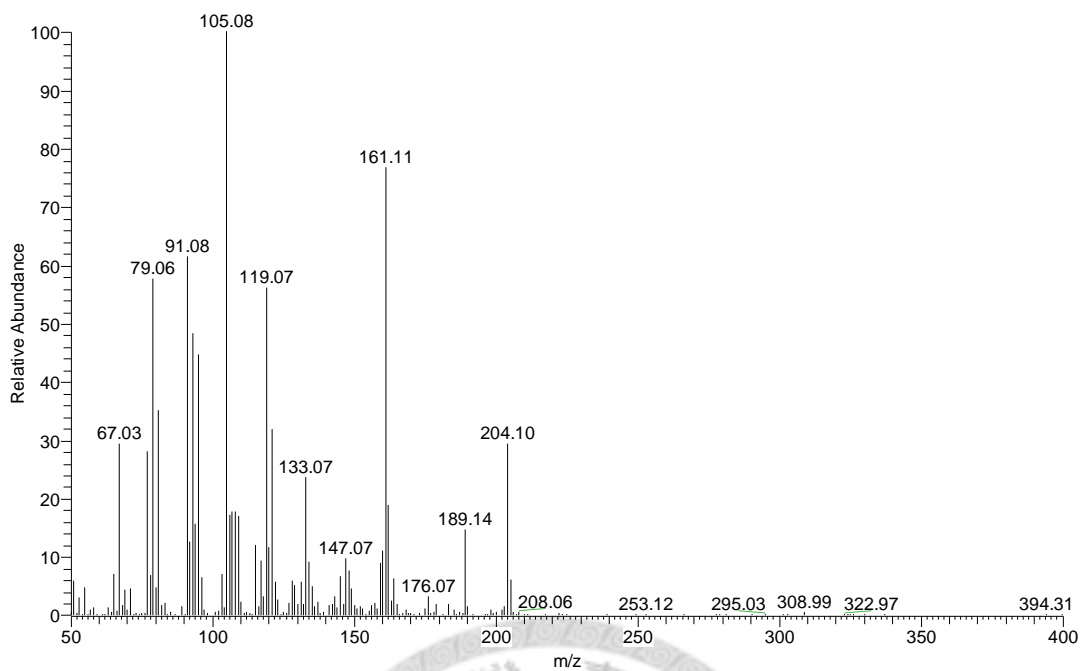


圖 46 T-Muurolol (T4) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 46 EI-MS (70 eV) spectrum of T-muurolol (T4)

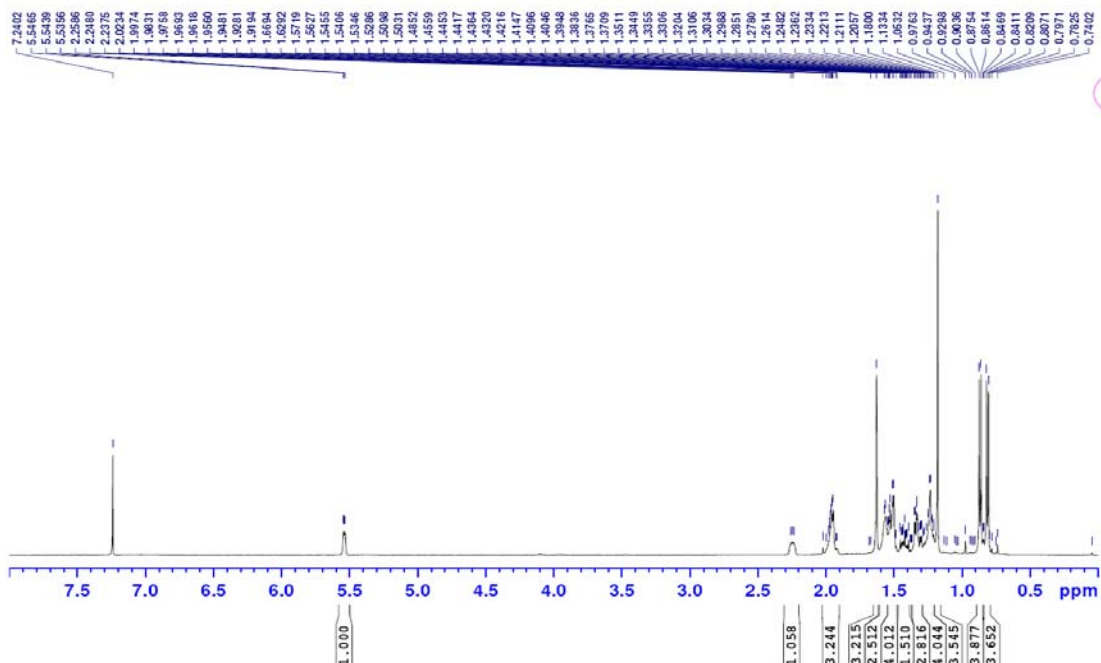


圖 47 T-Muurolol (T4) 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 47 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of T-muurolol (T4) (500 MHz, CDCl_3)

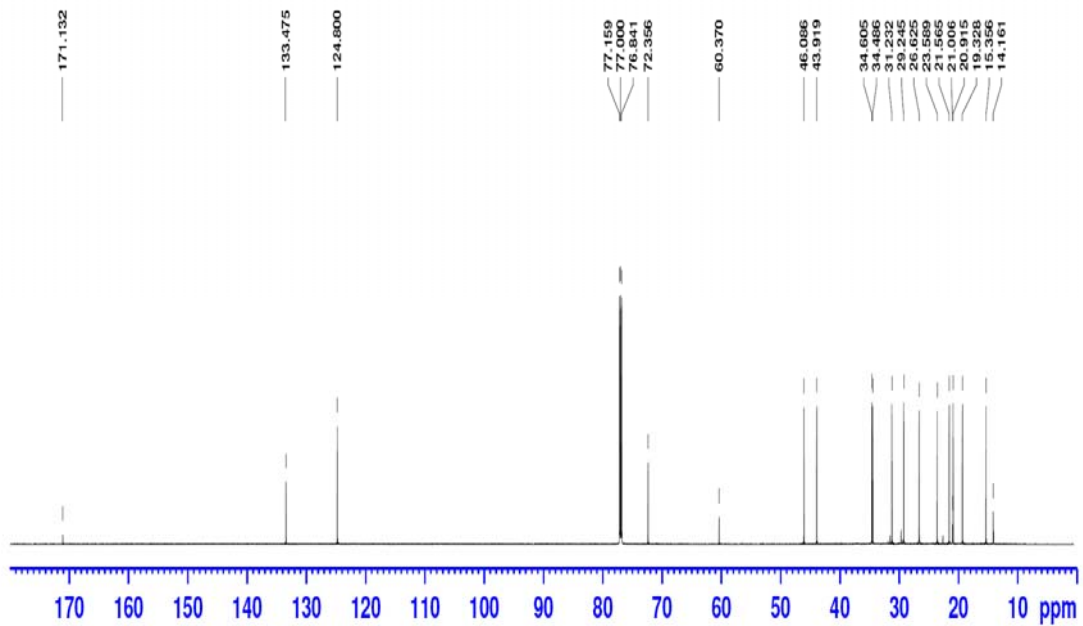


圖 48 T-Muurolol (T4) 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (200 MHz, CDCl_3)

Fig. 48 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of T-muurolol (T4) (200 MHz, CDCl_3)

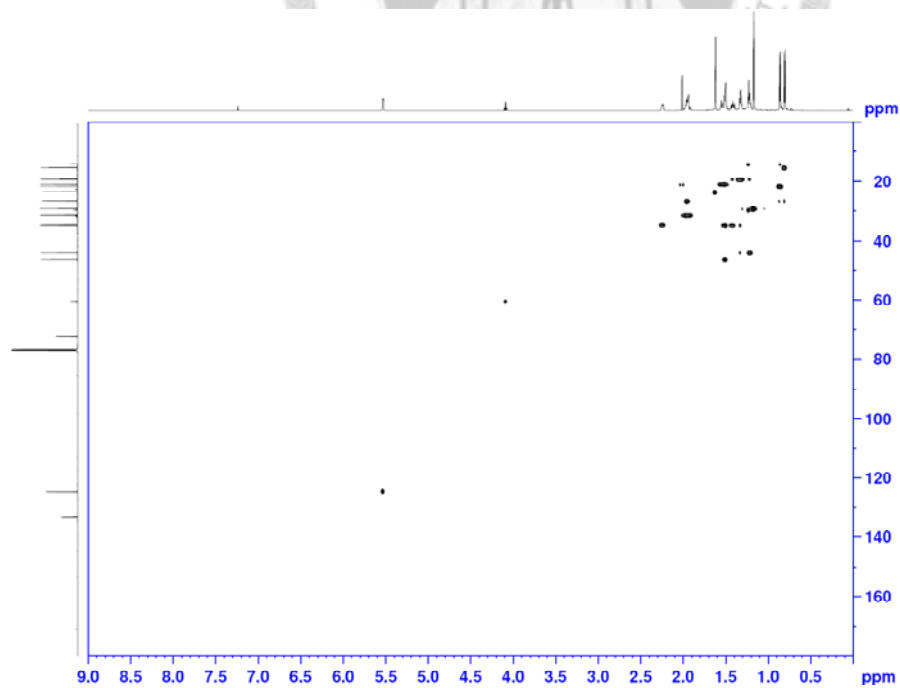


圖 49 T-Muurolol (T4) 之 HSQC 圖譜 (800 MHz, CDCl_3)

Fig. 49 HSQC spectrum of T-muurolol (T4) (800 MHz, CDCl_3)

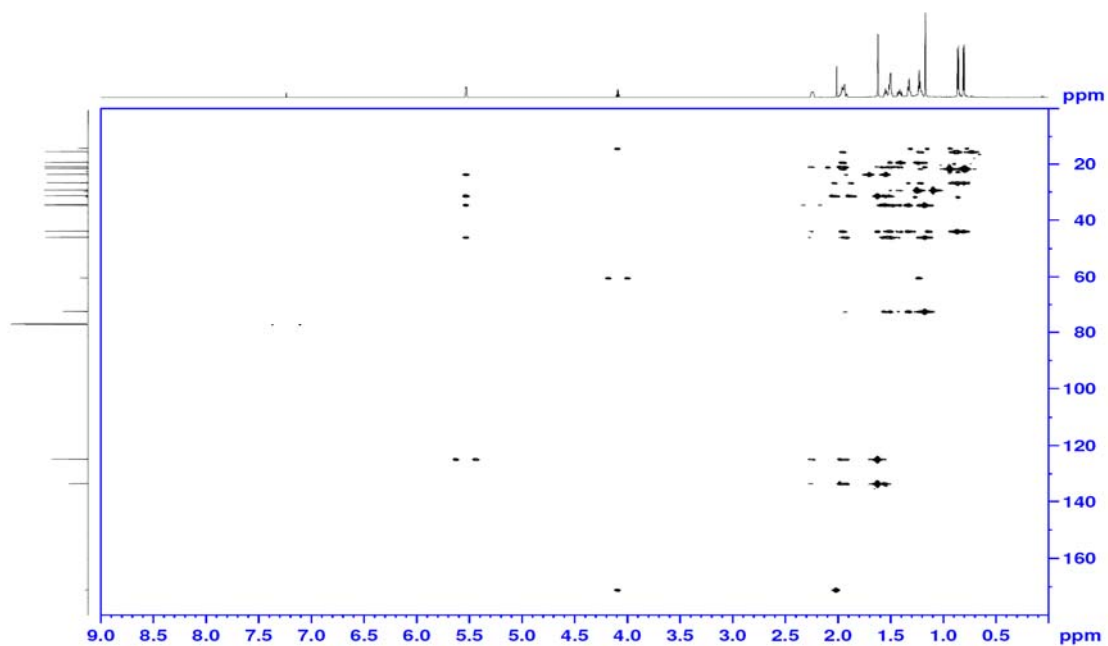


圖 50 T-Muurolol (**T4**) 之 HMBC 圖譜 (800 MHz, CDCl_3)

Fig. 50 HMBC spectrum of T-muurolol (**T4**) (800 MHz, CDCl_3)

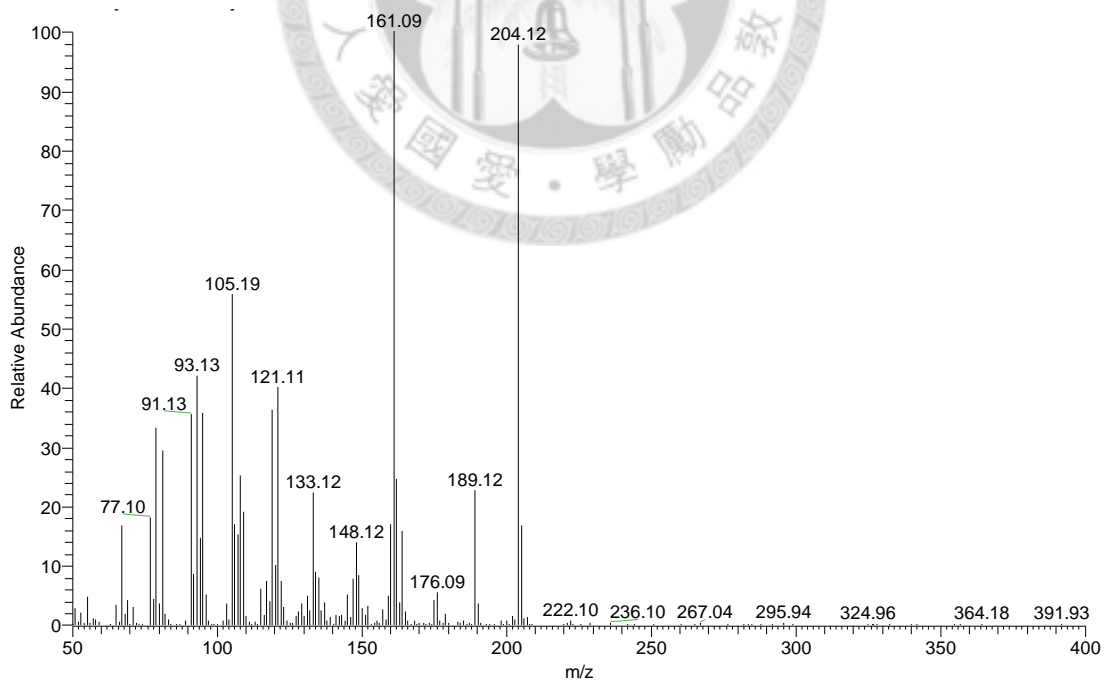


圖 51 α -Cadinol (**T5**) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 51 EI-MS (70 eV) spectrum of α -cadinol (**T5**)

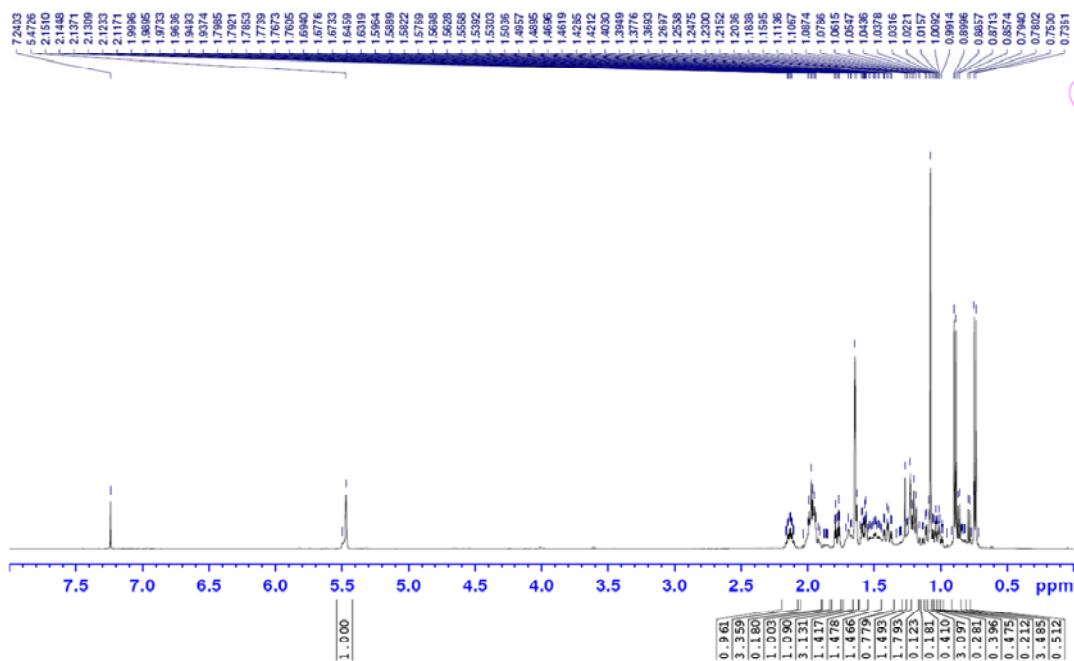


圖 52 α -Cadinol (**T5**) 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 52 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of α -cadinol (**T5**) (500 MHz, CDCl_3)

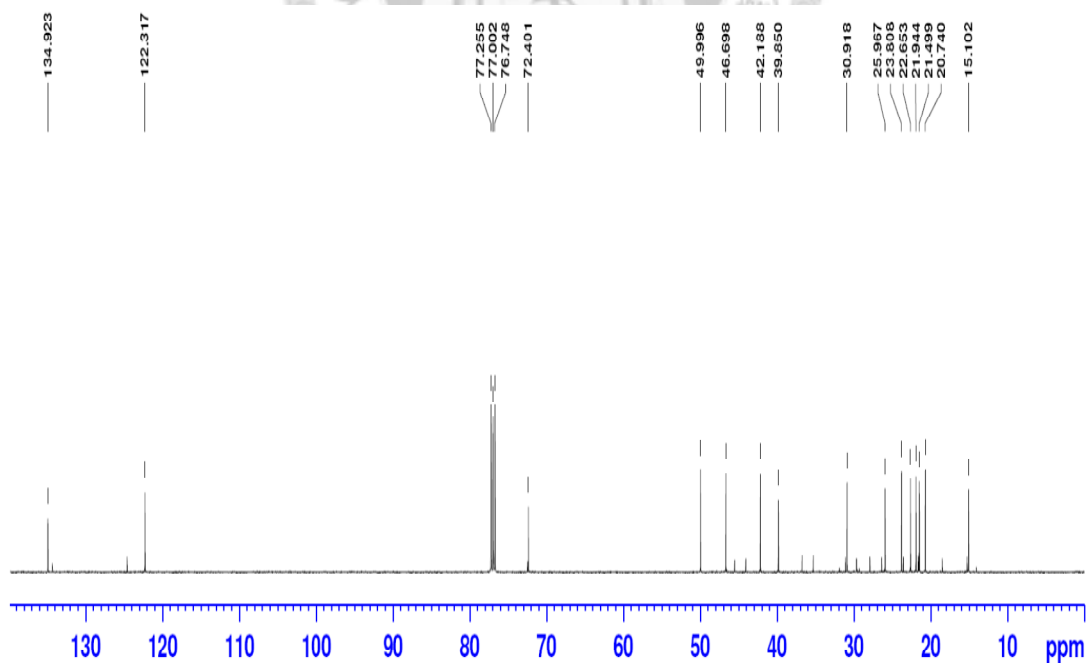


圖 53 α -Cadinol (**T5**) 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)

Fig. 53 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of α -cadinol (**T5**) (125 MHz, CDCl_3)

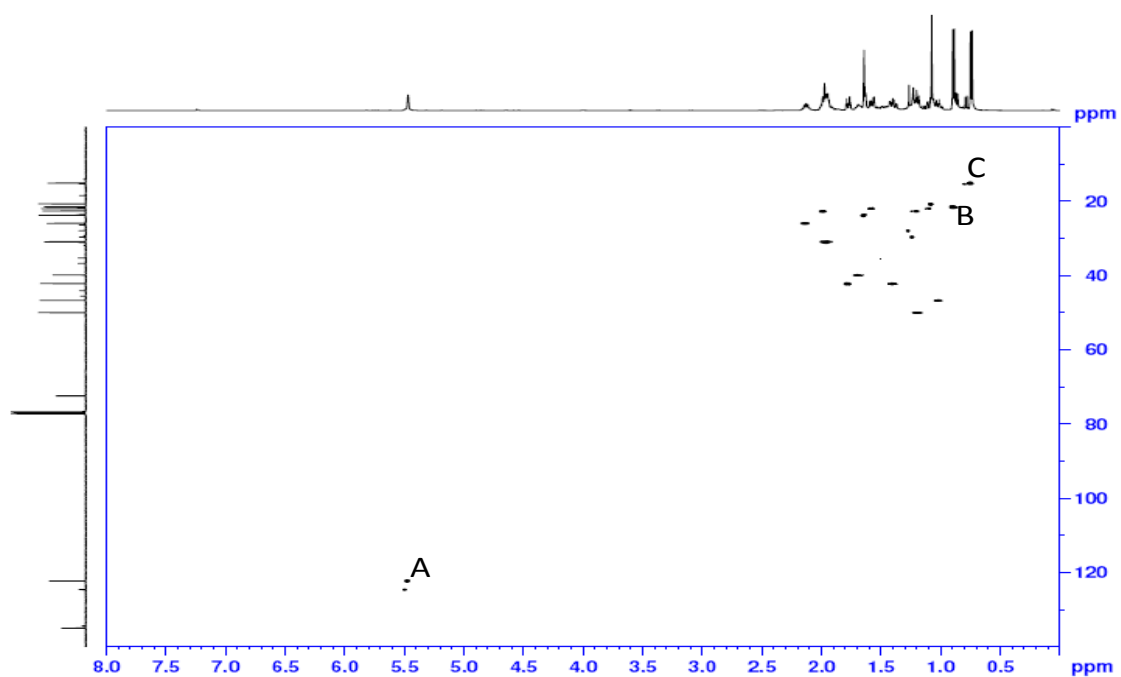


圖 54 α -Cadinol (T5) 之 HSQC 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 54 HSQC spectrum of α -cadinol (T5) (500 MHz, CDCl_3)

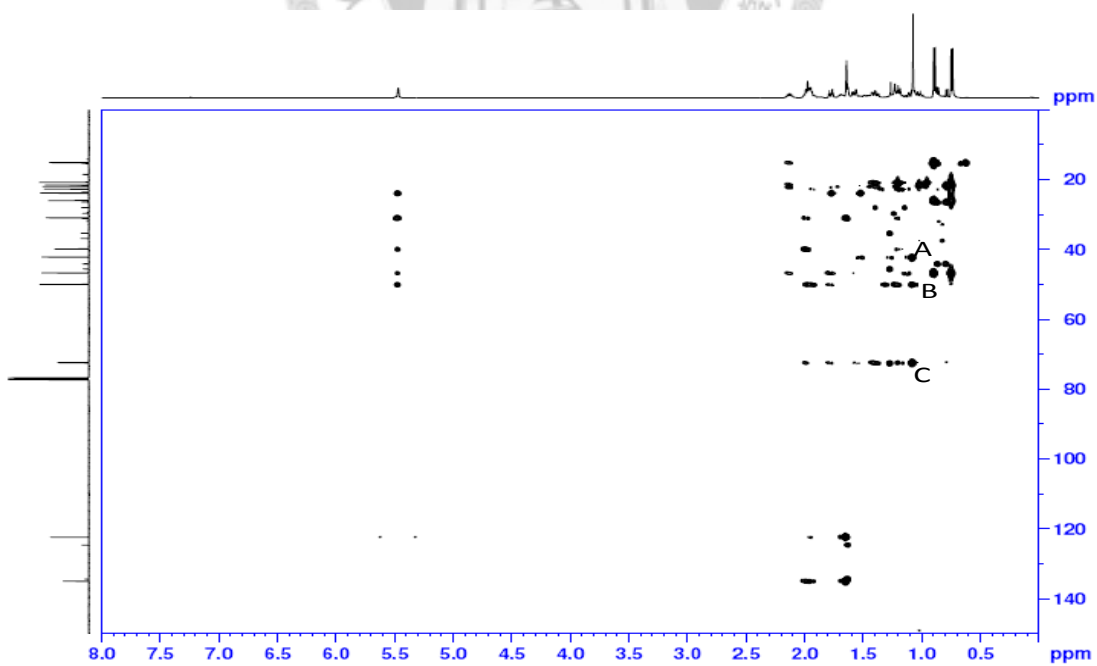


圖 55 α -Cadinol (T5) 之 HMBC 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 55 HMBC spectrum of α -cadinol (T5) (500 MHz, CDCl_3)

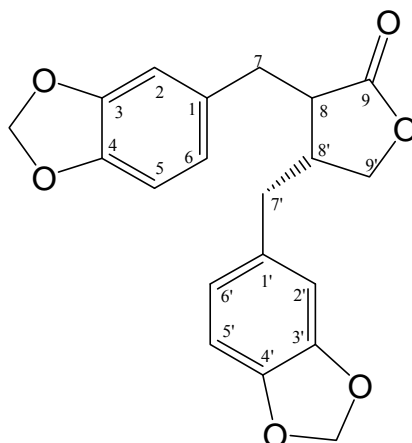
表 17 **T3**、**T4** 及 **T5** 之氫譜核磁共振光譜之化學位移 (δ ppm ; 溶劑 : CDCl_3)

Table 17 H^1 -NMR chemical shift data of **T3**, **T4** and **T5** (δ ppm ; solvent : CDCl_3)

Positions	T-Cadinol (T3)	T-Muurolol (T4)	α -Cadinol (T5)
5	5.53 (br s)	5.55 (br d, $J = 6.3$ Hz)	5.47 (br s)
11	2.16 (m)	2.25 (m)	2.13 (m)
12	0.77 (d, $J = 7.0$ Hz)	0.81 (d, $J = 7.0$ Hz)	0.74 (d, $J = 7.0$ Hz)
13	0.89 (d, $J = 7.0$ Hz)	0.87 (d, $J = 7.0$ Hz)	0.89 (d, $J = 7.0$ Hz)
14	1.20 (s)	1.18 (s)	1.07 (s)
15	1.65 (s)	1.63 (s)	1.65 (s)



T6 : Hinokinin



T6是由Hex5分離部分離純化後獲得，為一黃色油狀物，經質譜分析得知分子量為354（圖56），推測分子式為 $C_{20}H_{18}O_6$ 。分析 1H -NMR（圖57）結果得知，具有2個次甲基結構的氫吸收訊號 δ 2.44、 δ 2.53。3個亞甲基結構的6個氫訊號為 δ 2.58 (m, H-7'b)、 δ 2.45 (m, H-7'a)、 δ 2.82 (dd, $J = 14.1, 7.3$ Hz, H-7a)、 δ 2.97 (dd, $J = 14.1, 5.1$ Hz, H-7b)、 δ 3.84 (dd, $J = 9.2, 7.1$ Hz, H-9'a) 及 δ 4.10 (dd, $J = 9.2, 7.1$ Hz, H-9'b)。2組苯環上ABX型吸收訊號為 δ 6.44 (br s, H-2, 2')、 δ 6.60 (br d, $J = 8.3$ Hz, H-6, 6') 及 δ 6.71 (br d, $J = 8.3$ Hz, H-5, 5')。2組亞甲二氧基 (Methylenedioxy) 結構氫吸收訊號 δ 5.91 (m, OCH₂O)，顯示兩個苯基具有相同骨架。由 ^{13}C -NMR（圖58）分析結果亦可發現**T6**有20個碳的吸收，其中包含2個次甲基結構的碳(δ 41.3及 δ 46.5)，3個亞甲基結構的碳(δ 34.8、 δ 38.4及 δ 71.1)，2個亞甲二氧基結構的碳 (δ 101.0及 δ 101.0)，2組苯環結構的12個碳 (δ 108.0—150.0 \times 12) 及羰基結構的1個碳 (δ 178.4)。因此，綜合上述圖譜分析結果並與文獻值 (Carter *et al.*, 2006) 結果均一致，確認**T6**為Hinokinin。

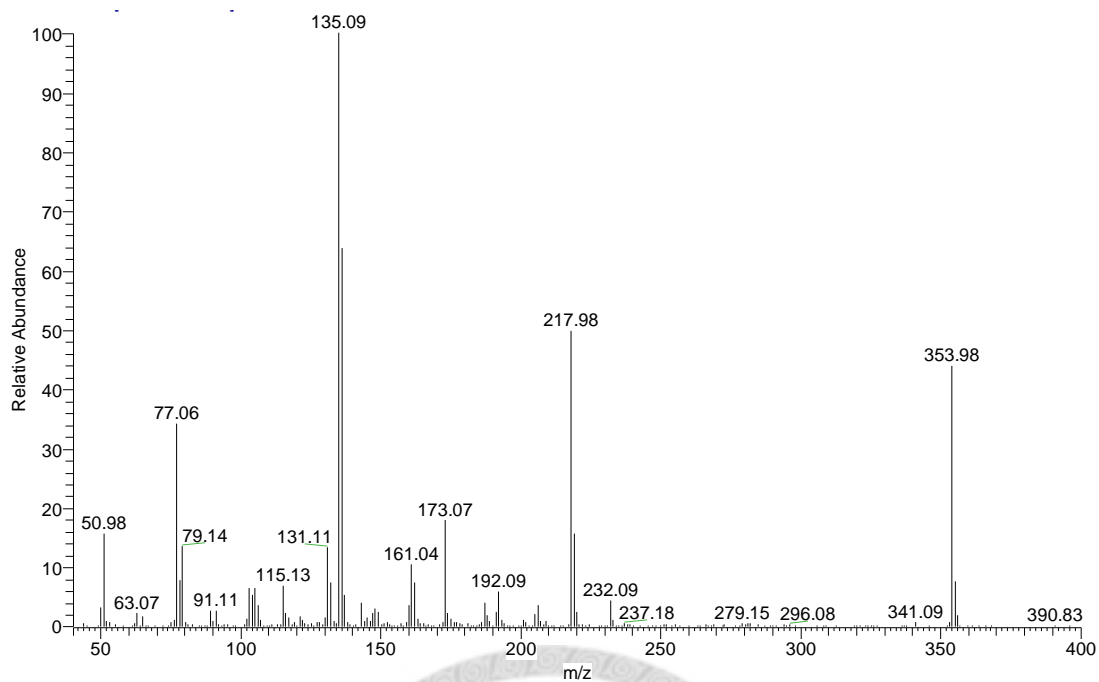


圖 56 Hinokinin (T6) 之 EI-MS (70 eV) 圖譜

Fig. 56 EI-MS (70 eV) spectrum of hinokinin (T6)

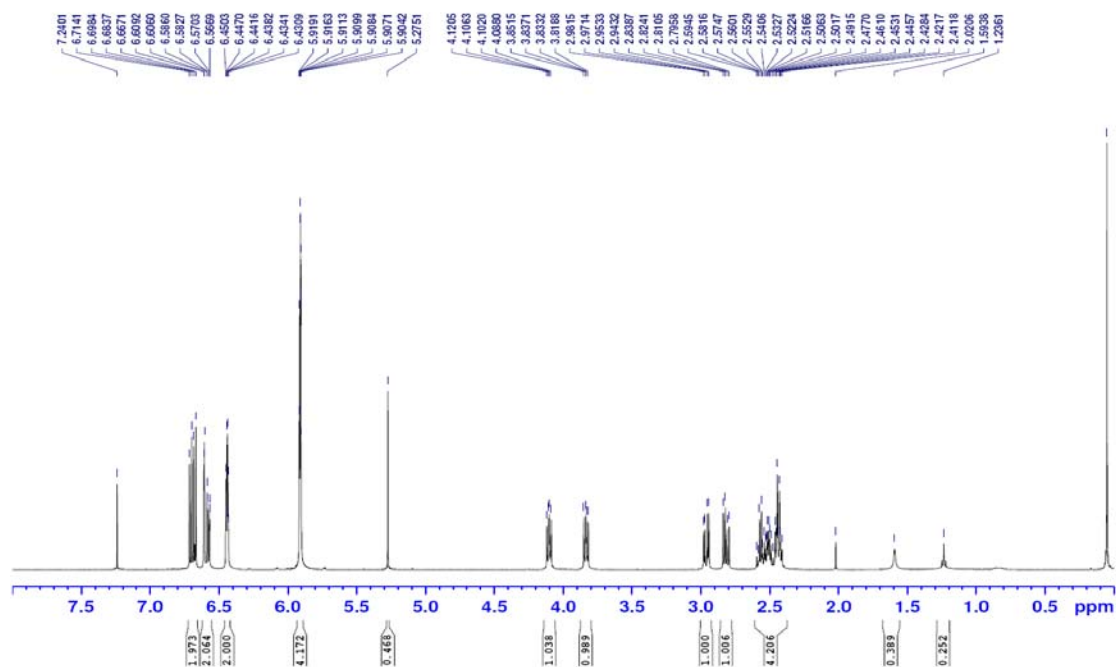


圖 57 Hinokinin (T6) 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CDCl_3)

Fig. 57 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of hinokinin (T6) (500 MHz, CDCl_3)

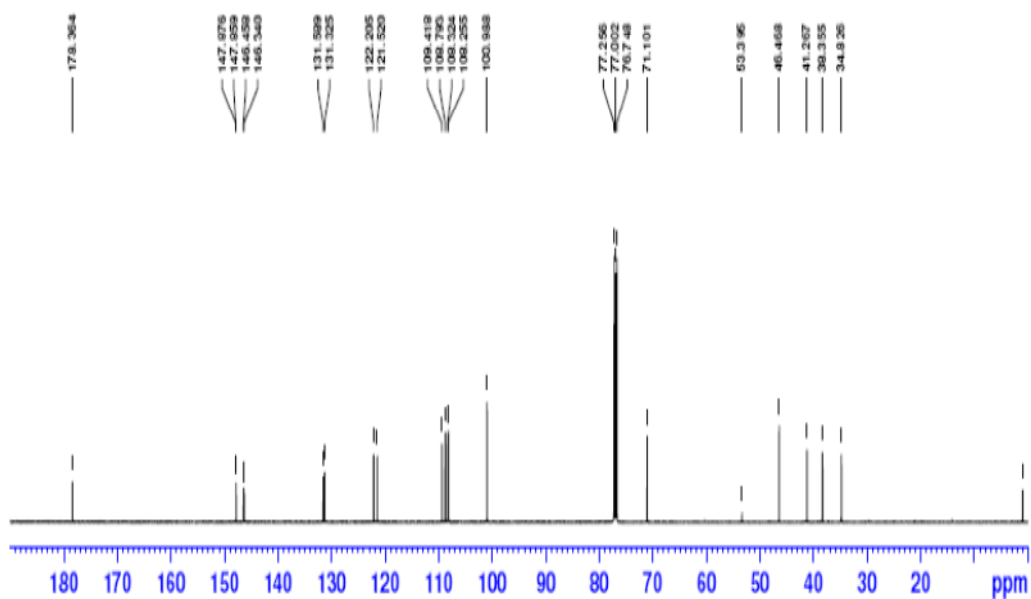
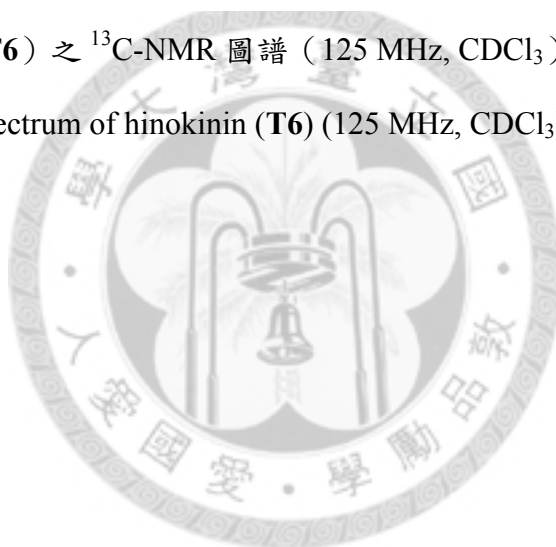


圖 58 Hinokinin (T6) 之 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CDCl_3)

Fig. 58 ^{13}C -NMR spectrum of hinokinin (T6) (125 MHz, CDCl_3)



(VII) 相思樹與臺灣杉材天然耐腐朽機制探討

不同溶劑萃取後之相思樹心材木塊，經由白腐菌 (*L. b.*) 和褐腐菌 (*L. s.*) 木塊耐腐朽試驗得知，心材之重量損失率隨著抽出物萃取率或是溶劑極性增高而上升，亦表示耐腐朽性隨之下降，經 *L. b.* 腐朽後，未萃取組重量損失率為 2.6%，而水萃取組為 7.8%；經褐腐菌 *L. s.* 腐朽後，未萃取組重量損失率為 4.8%，而水萃取組高達 26.8%。然而，邊材萃取組與未萃取組的重量損失率無顯著性差異。在抗腐朽菌試驗中，將心材抽出物依照不同極性劃分成 3 個可溶部，由試驗結果得知，使用濃度為 100 µg/mL 之抑菌指數皆小於 10%，顯示無任何抑菌能力，而將 3 個可溶部含浸於柳杉邊材中，經 *L. s.* 腐朽後，其 3 個處理組之重量損失率比控制組低，且有顯著性差異；含浸於楓木邊材，經 *L. b.* 腐朽後，3 個處理組之重量損失率與控制組皆無顯著性差異。

臺灣杉心材在木塊耐腐朽性試驗中，不同溶劑萃取組經 *L. b.* 和 *L. s.* 腐朽後之結果得知，未萃取、正己烷萃取及水萃取組之重量損失率皆為 5% 以下，且與醇苯萃取組有顯著性差異，而邊材組無論有無萃取，其重量損失率無顯著性差異。而在抗腐朽菌試驗中，心材抽出物依照不同極性劃分成 4 個可溶部，由試驗結果得知，以正己烷可溶部效果最佳，使用濃度為 100 µg/mL 時，對 *L. b.* 和 *L. s.* 之抑菌指數分別為 28.7% 及 75.6%，將 3 個可溶部含浸於柳杉邊材中，經 *L. s.* 腐朽後，正己烷可溶部幾乎無重量損失率 (0.1%)，顯示正己烷可溶部之耐腐朽活性最佳；含浸於楓木邊材中，3 個處理組經 *L. b.* 腐朽後，3 個處理組之重量損失率則皆與控制組無顯著性差異

由上述結果得知，相思樹天然耐腐朽活性顯然與抽出物有相關，雖然其抽出物不具抑菌效果，但仍具耐腐朽能力，由圖 59 及 60 得知，無論 *L. b.* 或 *L. s.* 腐朽相思樹木塊時，腐朽菌之生長狀況相當茂盛 (A1，重量損失率與醇苯萃取組有顯著性差異)，不同於腐朽臺灣杉木塊之情形，腐朽臺灣杉木塊時，腐朽菌生長力極差 (T1，重量損失率與醇苯萃取組有顯著性差異)，菌絲沒有生長至木塊上，甚至無法覆蓋木塊，顯示相思樹抽出成分雖不會抑制腐朽菌生長，但仍有減緩真菌腐朽木材之效果，這可能與相思樹抽出物具有大量抗氧化化合物有相關。Hsu 等人 (2009) 利用不同鏈長沒食子酸酯類的抗氧化化合物進行抗腐朽菌及木塊土

壤試驗，其中 *n*-Propyl gallate 無抗腐朽菌活性，但含浸於木材中時，卻具保護木材能力，此結果與本研究中相思樹天然耐腐朽活性的結果為一致。因為腐朽菌腐朽木材時，會藉由芬頓反應產生自由基，而這些自由基會更加速降解木材的速度，而在 Xie 等人 (2010) 研究指出，在進行芬頓反應時，木材中若具有一些低分子量之酚類化合物，如 Protocatechuic acid 及 Hydroquinone 等，則可清除氫氧自由基以降低對木材的破壞，進而維持木材的力學強度。因此可以推知相思樹心材抽出物中之抗氧化化合物若能清除這些自由基，則能達到保護木材的效果，或是還有其他因素，則有待進一步之探究。

臺灣杉天然耐腐朽活性與抽出物亦有相當大之相關性，無論是由木塊耐腐朽試驗、抗腐朽菌試驗還是含浸木塊耐腐朽試驗之結果，都顯示正己烷可溶部具有相當良好之耐腐朽能力。由試驗結果得知，臺灣杉抽出物之耐腐朽活能力主要是來自於抑菌效果，與其抗氧化活性較無相關性（各可溶部無顯著抗氧化活性），而且這些具抑菌作用之化合物應屬於較低極性，故本研究也進一步分離鑑定此可溶部活性化合物，結果與本實驗室先前研究一致（張上鎮等，1998），且吳季玲（2005）研究指出，正己烷可溶部中活性化合物 α -Cadinol 使 *T. v.* 菌絲體受傷害有關的蛋白質表現量皆增加，且藉由免疫轉漬結果證實 α -Cadinol 會引發 *T. v.* 程式性細胞死亡，進而達到抗腐朽菌的效果，所以推知臺灣杉主要天然抗腐朽能力應來自於正己烷可溶部中之主要成分。

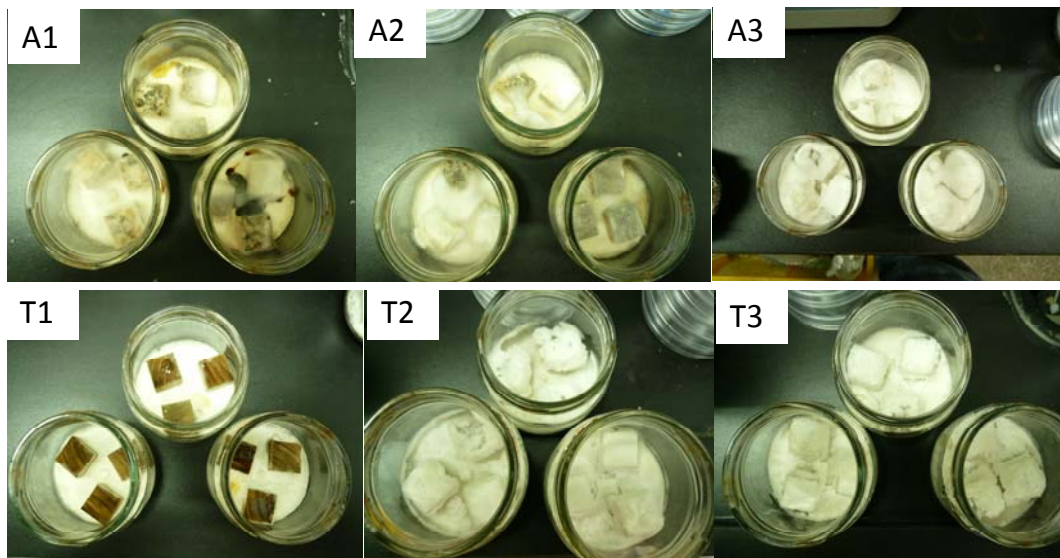


圖 59 不同溶劑萃取相思樹及臺灣杉心材經白腐菌 (*L. b.*) 12 週耐腐朽試驗後之照片

Fig. 59 Photos of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* heartwood extracted by different solvents after 12 weeks decay resistance test with white rot fungus (*L. b.*). A1: *A. confusa* (Non-extracted) ; A2: *A. confusa* (Ethyl acetate extracted) ; A3: *A. confusa* (EtOH-toluene extracted). T1: *T. cryptomerioides* (Non-extracted) ; T2: *T. cryptomerioides* (Ethyl acetate extracted) ; T3: *T. cryptomerioides* (EtOH-toluene extracted).

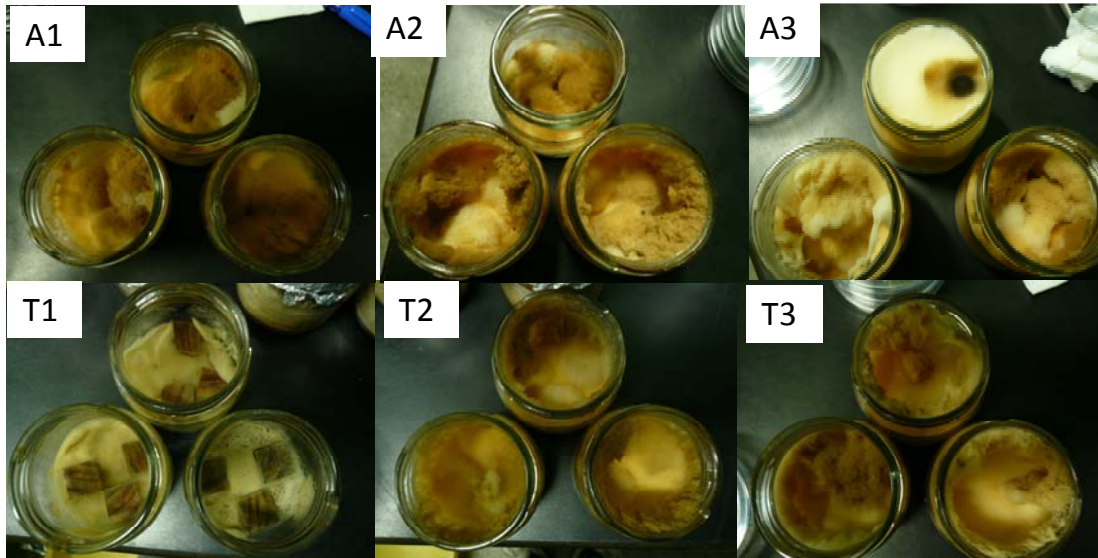


圖 60 不同溶劑萃取相思樹及臺灣杉心材經褐腐菌 (*L. s.*) 12 週耐腐朽試驗後之照片

Fig. 60 Photos of *A. confusa* and *T. cryptomerioides* heartwood extracted by different solvents after 12 weeks decay resistance test with brown rot fungus (*L. s.*). A1: *A. confusa* (Non-extracted) ; A2: *A. confusa* (Ethyl acetate extracted) ; A3: *A. confusa* (EtOH-toluene extracted). T1: *T. cryptomerioides* (Non-extracted) ; T2: *T. cryptomerioides* (Ethyl acetate extracted) ; T3: *T. cryptomerioides* (EtOH-toluene extracted).

V、結論

本研究取用臺灣本土具有天然耐腐朽性之樹種—相思樹 (*Acacia confusa* Merr.) 及臺灣杉 (*Taiwania cryptomerioides* Hay.) 為試驗材料，針對木材耐腐朽活性及抽出物之抗腐朽菌和抗氧化活性進行分析，探討其天然耐腐朽機制。首先，利用木材耐腐朽試驗評估相思樹與臺灣杉之天然耐腐朽性，由結果得知，心材之重量損失率隨著萃取率或是溶劑極性增高而上升，無論白腐菌 (*L. b.*) 或褐腐菌 (*L. s.*)，未萃取組之重量損失率都相當低，分別為 2.6% 與 4.8%，皆與醇萃萃取組有顯著差異，顯示相思樹抽出物應具有耐腐朽能力。而臺灣杉也有類似結果，未萃取組之重量損失率分別為 1.7% (*L. b.*) 及 1.3% (*L. s.*)；而兩種邊材無論萃取或未萃取組之重量損失率無顯著性差異，顯示兩種邊材皆不具耐腐朽性。

進一步評估兩種心材乙醇抽出物及各可溶部之抗腐朽菌及抗氧化能力，結果得知，相思樹乙醇抽出物及 3 個可溶部之抗腐朽菌能力不佳，使用濃度為 100 $\mu\text{g/mL}$ 時，對 4 株腐朽菌 (*L. b.*、*T. v.*、*L. s.* 及 *G. t.*) 之抑菌指數皆小於 10%。臺灣杉則以正己烷可溶部具較佳抗腐朽菌能力，使用濃度為 100 $\mu\text{g/mL}$ 時，對 4 株腐朽菌 (*L. b.*、*T. v.*、*L. s.* 及 *G. t.*) 的抑菌指數分別為 28.7%、50.9%、75.6% 及 73.3%，所以進一步分離正己烷可溶部，共得 10 個次分離部，其中以 Hex2—Hex5 具最佳抗腐朽菌能力。使用濃度為 100 $\mu\text{g/mL}$ 時，Hex3 和 Hex4 對 4 株腐朽菌之抑制能力極佳，對 *L. b.*、*L. s.* 及 *T. v.* 的抑制效果皆為 100%，而對 *G. t.* 之抗菌指數則分別為 85.7% 和 85.1%；其次為 Hex2 及 Hex5，對 *L. b.* 白腐菌抑菌指數分別為 53.1% 及 47.2%。為瞭解其中活性化合物，經由分離鑑定此 5 個次分離部，共得 6 個化合物分別為 1 個二萜類 Ferruginol (**T1**)，4 個倍半萜類 Cedrol (**T2**)、T-Cadinol (**T3**)、T-Muurolol (**T4**)、 α -Cadinol (**T5**) 及 1 個木酚素 Hinokinin (**T6**)。

抗氧化能力試驗結果得知，臺灣杉乙醇抽出物及 4 個可溶部抗氧化能力不佳，但以乙酸乙酯可溶部抗氧化能力較佳，清除 DPPH 自由基能力之 IC_{50} 值為 35.1 $\mu\text{g/mL}$ ，總酚含量為 242.2 mg/g，總黃酮含量為 22.8 mg/g，而亞鐵離子螯合能力則以水可溶部最佳 ($\text{IC}_{50} = 480.6 \mu\text{g/mL}$)。相思樹則顯示極佳抗氧化能力，其中以乙酸乙酯可溶部清除 DPPH 自由基之能力 ($\text{IC}_{50} = 1.4 \mu\text{g/mL}$) 最佳，總酚類化合物 (665.9 mg/g) 及總黃酮類化合物 (242.2 mg/g) 含量最高，而亞鐵離

子螯合能力則以水可溶部最佳 ($IC_{50} = 687.1 \mu\text{g/mL}$)，所以進一步分離乙酸乙酯可溶部，共得 10 個次分離部，其中 EA1—EA8 具較佳抗氧化活性，清除 DPPH 自由基之能力 ($IC_{50} = 1.3-3.3 \mu\text{g/mL}$) 最佳，總酚類化合物 (653.5—960.6 mg/g) 及總黃酮類化合物 (8.3—309.7 mg/g) 含量最高，亞鐵離子螯合能力也不錯 ($IC_{50} = 282.2 \sim >2500 \mu\text{g/mL}$)，為瞭解其中活性化合物，經由分離鑑定此 8 個次分離部，共得 5 個化合物分別為 1 個酚酸類 Protocatechuic acid (A1)，1 個 Flavanone 類 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (A2)，2 個 Flavone 類 Melanoxetin (A3)，Transilitin (A4) 及 1 個 Chalcone 類 Okanin (A5)。

將兩樹種各可溶部之抽出物分別含浸至柳杉及楓木邊材木塊，再進行木塊耐腐朽試驗，由結果得知，含浸之柳杉邊材經 *L. s.* 腐朽後，相思樹 3 個可溶部比控制組重量損失率低且有顯著性差異；含浸之楓木邊材經 *L. b.* 腐朽後，3 個可溶部重量損失率皆與控制組無顯著性差異。臺灣杉各可溶部含浸之柳杉邊材經 *L. s.* 腐朽後，正己烷可溶部幾乎無重量損失率 (0.1%)，顯示正己烷可溶部有最佳耐腐朽活性；含浸之楓木邊材經 *L. b.* 腐朽後，重量損失率則皆與控制組無顯著性差異。

本研究結果證實，相思樹抽出成分中具極佳抗氧化活性，不具抗腐朽菌活性，但在木塊耐腐朽性試驗得知，相思樹本身或以其抽出成分含浸之木材，皆具有耐腐朽效果，由此得知相思樹天然耐腐朽機制應與本身抽出成分相關，但由於其抽出成分與抑菌效果無明顯相關性，可能與抗氧化化合物能夠抑制腐朽菌腐朽木材時，芬頓反應 (Fenton reaction) 所產生的自由基，進而減緩對木材被破壞，此仍需進一步證實。

臺灣杉天然耐腐朽機制與抽出物有則有相當大之相關性，臺灣杉抽出物主要是屬於抑菌效果，與其抗氧化能力較無相關性。正己烷可溶部之抽出物為臺灣杉耐腐朽能力的主要來源之一，其中的活性成分也與先前研究結果相符，皆具有抗腐朽菌活性，所以推知臺灣杉天然耐腐朽活性主要來自正己烷中具抑菌作用之活性成分。

VI、參考文獻

- 王升陽 (1999) 臺灣杉心材之成分變色機制與抑制方法。國立臺灣大學森林環境暨資源學系博士論文。171 pp。
- 吳志鴻 (2004) 相思樹心材具抗氧化及抗發炎成分之分析與鑑定。國立臺灣大學森林環境暨資源學系博士論文。191 pp。
- 吳季玲 (2005) 臺灣杉心材抗真菌成分之分析、鑑定及其抑菌機制。國立臺灣大學森林環境暨資源學系博士論文。162 pp。
- 林亞立 (1997) 相思樹心材天然耐腐朽性之測定。林產工業 16(1):1-7。
- 張上鎮、吳季玲、王升陽、蘇裕昌、郭悅雄 (1998) 臺灣杉心材抗菌性成分之初探。林產工業 17(2):287-304。
- Bajpai, M., A. Pande, S. K. Tewari and D. Prakash (2005) Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 56(4):287-291.
- Binbuga, N., C. Ruhs, J. K. Hasty, W. P. Henry and T. P. Schultz (2008) Developing environmentally benign and effective organic wood preservatives by understanding the biocidal and non-biocidal properties of extractives in naturally durable heartwood. *Holzforschung* 62(3):264-269.
- Brown, G. D., G. Y. Liang and L. K. Sy (2003) Terpenoids from the seeds of *Artemisia annua*. *Phytochemistry* 64(1):303-323.
- Cantrell, C. L., K. K. Schrader, L. K. Mamonov, G. T. Sitpaeva, T. S. Kustova, C. Dunbar and D. E. Wedge (2005) Isolation and identification of antifungal and antialgal alkaloids from *Haplophyllum sieversii*. *J. Agric. Food Chem.* 53(20):7741-7748.
- Carter, N. B., R. Mabon, R. Walmsley, A. M. E. Richecoeur and J. B. Sweeney (2006) Double coupling reactions of 3,4-bis(stannyl)furanone: facile preparation of diaryl- and dibenzylfuranones. *Synlett* 11:1747-1749.
- Chang, S. T., J. H. Wu, S. Y. Wang, P. L. Kang, N. S. Yang and L. F. Shyur (2001) Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *J. Agric. Food Chem.* 49(7):3420-3424.
- Chang, S. T., S. Y. Wang, C. L. Wu, P. F. Chen and Y. H. Kuo (2000) Comparison of the antifungal activity of cadinane skeletal sesquiterpenoids from *Taiwania (Taiwania cryptomerioides Hayata)* heartwood. *Holzforschung* 54(3):241-245.
- Chang, S. T., S. Y. Wang, C. L. Wu, Y. C. Su and Y. H. Kuo (1999) Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of *Taiwania (Taiwania cryptomerioides Hayata)* heartwood. *Holzforschung* 53(5):487-490.
- Cooposamy, R. M. and M. L. Magwa (2007) Traditional use, antibacterial activity and antifungal activity of crude extract of *Aloe excelsa*. *Afr. J. Biotechnol.* 6(20):2406-2410.

- Dudareva, N., S. Andersson, I. Orlova, N. Gatto, M. Reichelt, D. Rhodes, W. Boland and J. Gershenzon (2005) The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102(3):933-938.
- Eaton, R. A. and M. D. C. Hale (1993) Natural durability. pp.311-313. *In* R. A. Eaton and M. D. C. Hale, eds. *Wood: Decay, Pests, and Protection*. Chapman & Hall, London. 546 pp.
- Eberhardt, T. L., J. S. Han, J. A. Micales and R. A. Young (1994) Decay resistance in conifer seed cones — Role of resin acids as inhibitors of decomposition by white-rot fungi. *Holzforschung* 48(4):278-284.
- Foo, L. Y. (1987) Configuration and conformation of dihydroflavonols from *Acacia melanoxylon*. *Phytochemistry* 26(3):813-817.
- Fourie, T. G., I. C. Du Preez and D. G. Roux (1972) 3',4',7,8-Tetrahydroxyflavonoids from the heartwood of *Acacia nigrescens* and their conversion products. *Phytochemistry* 11(5):1763-1770.
- Gao, H., T. F. Shupe, T. L. Eberhardt and C. Y. Hse (2007) Antioxidant activity of extracts from the wood and bark of Port Orford cedar. *J. Wood Sci.* 53(2):147-152.
- Green, F. and T. L. Highley (1997) Mechanism of brown-rot decay: Paradigm or paradox. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 39(2-3):113-124.
- Green, F. and T. P. Schultz (2003) New environmentally-benign concepts in wood protection: the combination of organic biocides and non-biocidal additives. pp.378-389 *In* B. Goodell, D. D. Nicholas and T. P. Schultz, eds. *Wood Deterioration and Preservation: Advances in Our Changing World*. American Chemical Society, Washington, D.C. 465 pp.
- Hart, J. H. (1989) The role of wood exudates and extractives in protecting wood from decay. pp.861-878. *In* J. W. Rowe, ed. *Natural Products of Woody Plants*. Springer-Verlag, Berlin. 1243 pp.
- Hawley, L. F., L. C. Fleck and C. A. Richards (1924) The relation between natural durability and chemical composition in wood. *Ind. Eng. Chem.* 16:699-706.
- Hsu, F. L., P. S. Chen, H. T. Chang and S. T. Chang (2009) Effects of alkyl chain length of gallates on their antifungal property and potency as an environmentally benign preservative against wood-decay fungi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 63(5):543-547.
- Inamori, Y., Y. Sakagami, Y. Morita, M. Shibata, M. Sugiura, Y. Kumeda, T. Okabe, H. Tsujibo and N. Ishida (2000) Antifungal activity of hinokitiol-related compounds on wood-rotting fungi and their insecticidal activities. *Biol. Pharm. Bull.* 23(8):995-997.
- Kai, Y. (1991) Chemistry of extractives. pp.215-255. *In* D. N. S. Hon and N. Shiraish, eds. *Wood and Cellulosic Chemistry*. Marcell Dekker, New York. 1020 pp.
- Kang, W. Y., J. M. Wang and Z. Q. Ji (2008) Flavonoids in *Luculia pinceana*. *Chem.*

Nat. Compd. 44(5):644-645.

- Kawamura, F., S. Ohara and A. Nishida (2004) Antifungal activity of constituents from the heartwood of *Gmelina arborea*: Part 1. Sensitive antifungal assay against basidiomycetes. *Holzforschung* 58(2):189-192.
- Koenigs, J. W. (1974) Hydrogen peroxide and iron: a proposed system for decomposition of wood by brown-rot basidiomycetes. *Wood Fiber Sci.* 6(1):66-80.
- Kondo, R. and H. Imamura (1986) Antifungal compounds in heartwood extractives of hinoki (*Chamaecyparis obtusa* Endl). *Mokuzai Gakkaishi* 32(3):213-217.
- Kujala, T. S., J. M. Lojonen, K. D. Klika and K. Pihlaja (2000) Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48(11):5338-5342.
- Lee, T. H. and C. H. Chou (2000) Flavonoid aglycones and indole alkaloids from the roots of *Acacia confusa*. *J. Chin. Chem. Soc.* 47(6):1287-1290.
- Leonowicz, A., A. Matuszewska, J. Luterek, D. Ziegenhagen, M. Wojtaś-Wasilewska, N. S. Cho, M. Hofrichter and J. Rogalski (1999) Biodegradation of lignin by white rot fungi. *Fungal Genet. Biol.* 27(2-3):175-185.
- Li, W. H., S. T. Chang, S. C. Chang and H. T. Chang (2008) Isolation of antibacterial diterpenoids from *Cryptomeria japonica* bark. *Nat. Prod. Res.* 22(12):1085-1093.
- Matsushita, Y. I., Y. H. Hwang, K. Sugamoto and T. Matsui (2006) Antimicrobial activity of heartwood components of sugi (*Cryptomeria japonica*) against several fungi and bacteria. *J. Wood Sci.* 52(6):552-556.
- Micklewright, J. T. (1998) Wood preservation statistics 1997. American Wood Preservers' Association, Granbury, TX. 25 pp.
- Mihara, R., K. M. Barry, C. L. Mohammed and T. Mitsunaga (2005) Comparison of antifungal and antioxidant activities of *Acacia mangium* and *A. auriculiformis* heartwood extracts. *J. Chem. Ecol.* 31(4):789-804.
- Nechepurenko, I. V., M. P. Polovinka, N. I. Komarova, D. V. Korchagina, N. F. Salakhutdinov and S. B. Nechepurenko (2008) Low-molecular-weight phenolic compounds from *Hedysarum theinum* roots. *Chem. Nat. Compd.* 44(1):31-34.
- Pilotti, C. A., R. Kondo, K. Shimizu and K. Sakai (1995) An examination of the antifungal components in the heartwood extracts of *Pterocarpus indicus*. *Mokuzai Gakkaishi* 41(6):593-597.
- Preston, A. F. (2000) Wood preservation — trends of today that will influence the industry tomorrow. *For. Prod. J.* 50(9):12-19.
- Rudman, P. (1965) The causes of natural durability in timber. XVIII. Further notes on the fungi toxicity of wood extractives. *Holzforschung* 19(2):57-58.
- Scheffer, T. C. and E. B. Cowling (1966) Natural resistance of wood to microbial

- deterioration. *Annu. Rev. Phytopathol.* 4(1):147-168.
- Schultz, T. P. and D. D. Nicholas (1998) Enhanced wood preservative composition. U.S. Patent, 5,730,907.
- Schultz, T. P. and D. D. Nicholas (2000) Naturally durable heartwood: evidence for a proposed dual defensive function of the extractives. *Phytochemistry* 54(1):47-52.
- Schultz, T. P., W. B. Harms, T. H. Fisher, K. D. McMurtrey, J. Minn and D. D. Nicholas (1995) Durability of angiosperm heartwood - the importance of extractives. *Holzforschung* 49(1):29-34.
- Shimada, M. and T. Higuchi (1991) Microbial, enzymatic, and biomimetic degradation of lignin. pp.557-619. *In* D. N. S. Hon and N. Shiraishi, eds. *Wood and Cellulosic Chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York. 1020 pp.
- Tung, Y. T., J. H. Wu, C. Y. Hsieh, P. S. Chen and S. T. Chang (2009a) Free radical-scavenging phytochemicals of hot water extracts of *Acacia confusa* leaves detected by an on-line screening method. *Food Chem.* 115(3):1019-1024.
- Tung, Y. T., J. H. Wu, C. Y. Huang, Y. H. Kuo and S. T. Chang (2009b) Antioxidant activities and phytochemical characteristics of extracts from *Acacia confusa* bark. *Bioresour. Technol.* 100(1):509-514.
- Wu, J. H., Y. T. Tung, S. Y. Wang, L. F. Shyur, Y. H. Kuo and S. T. Chang (2005) Phenolic antioxidants from the heartwood of *Acacia confusa*. *J. Agric. Food Chem.* 53(15):5917-5921.
- Xie, Y. J., Z. F. Xiao, B. Goodell, J. Jellison, H. Militz and C. Mai (2010) Degradation of wood veneers by Fenton's reagents: Effects of wood constituents and low molecular weight phenolic compounds on hydrogen peroxide decomposition and wood tensile strength loss. *Holzforschung* 64(3):375-383.
- Zhong, Y. and Y. Chen (1986) Deterioration and termite prevention in ancient buildings. pp.303-304. *In* Y. Zhong and Y. Chen, eds. *History and Development of Ancient Chinese Architecture*. Science Press, Beijing, China. 545 pp.