

柳杉木醋液之抗木材腐朽菌活性

莊純琍* 盧崑宗**

關鍵字：柳杉，木醋液，分配法，木材腐朽菌，抗腐朽菌活性

摘要

本研究探討以機械窯產之柳杉木醋液靜置 6 個月後，再以分配法分離成乙醚萃取木醋液、酸性物質、酚性物質與中性物質等 4 大類，以 GC-MS 鑑定其有機成分，發現乙醚萃取木醋液有機成分以醋酸含量最多；酸性物質中以醋酸含量最高，丙酸及丁酸次之；酚性物質均以酚含量最高，其他尚有 2-甲氧基酚、3-甲基酚等；中性物質之主要成分為呋喃類及環戊烯酮類衍生物為主。再以固態平板試驗法評估此 4 類物質之抗木材腐朽菌活性，其中木材腐朽菌包括 2 種白腐菌之樺褶孔菌(*Lenzites betulina*)及雲芝菌(*Trametes versicolor*)與 2 種褐腐菌之硫磺菌(*Laetiporus sulphureus*)及密粘褶菌(*Gloeophyllum trabeum*)；試驗結果發現，在濃度 800 µg/mL 時，乙醚萃取木醋液及酚性物質對木材腐朽菌抑制效果最佳，但略遜於市售 ACQ 防腐劑；當濃度提高至 1200 µg/mL 時，乙醚萃取木醋液可完全抑制白腐菌之生長，而酚性物質則可完全抑制白腐菌及褐腐菌之生長，且防腐效能均不亞於市售 ACQ 者。

Antifungal Activity of Wood Vinegar Produced from *Cryptomeria japonica*

Chun-Li Chung* Kun-Tsung Lu**

KEYWORDS: *Cryptomeria Japonica*, Wood Vinegar, Partition Method, Wood Decay Fungi, Antifungal Activity

ABSTRACT

In this study, the wood vinegar was made from *Cryptomeria japonica* using steel kiln and standing for 6 months. The 4 kinds of fractions including ether-extracted wood vinegar, acidic, phenolic and neutral fractions of wood vinegars were obtained by partition method. By the GC-MS analysis, the main organic component was the acidic compounds for the ether-extracted wood vinegar; in acidic fraction was acetic acid, followed by propanoic acid and butanoic acid; in phenolic fraction was phenol, followed by 2-methoxy-phenol and 3-methy-lphenol; in the neutral fractions were furfural and cyclopentenone derivatives. According to agar plate assay, the antifungal activity of organic compounds against four wood decay fungi including 2 white-rot fungi *Lenzites betulina* and *Trametes versicolor* and 2 brown-rot fungi *Laetiporus sulphureus* and *Gloeophyllum trabeum* demonstrated that the ether-extracted wood vinegar and phenolic fraction had the highest antifungal index at the concentration of 800 µg/mL, however, they were still inferior to the commercial wood preservative ACQ. When the concentration was increased to 1,200 µg/mL, the white-rot fungi could be completely inhibited by the ether-extracted wood vinegar as well as the white-rot fungi and brown-rot fungi by the phenolic fraction, Furthermore, the antifungal efficiency of ether-extracted wood vinegar and phenolic fraction stood comparison with the commercial ACQ.

收件日期：2016.03.30；接受日期：2016.07.07

*國立中興大學森林學系碩士

Master, Department of Forestry, National Chung Hsing University, Taiwan

**國立中興大學森林學系教授 (通訊作者 Email:lukt@nchu.edu.tw)

Professor, Department of Forestry, National Chung Hsing University, Taiwan

DOI:10.3966/101632122016120098005

一、前言

木材是天然可再生並具固碳功能的材料，其質輕而強、容易加工、可調節濕度、美觀自然，自古以來即為最佳的建材，然而木材是由纖維素、半纖維素及木質素等有機體組成，在保存不良的環境下，例如充分的食物供給、適當的溫度（25~30℃）、適當的氧氣含量、適當的含水率（35~50%）及適當的酸鹼值（pH 4.5~5.5）容易受生物劣化，亦即易受木材腐朽菌侵蝕而瓦解，此為台灣在推廣木構建築最易受詬病之處，而利用木材防腐劑使木材具有毒性，而切斷了菌類的食物來源則是有效的木材保存方法。以往為保存木材而使用的防腐劑如焦油型防腐劑的雜酚油類，因其含有致癌性的多環芳香烴；油溶性防腐劑如五氯酚，不僅處理成本比較高，而且對人的健康有害，這兩種防腐劑已禁止使用，而水溶性防腐劑雖具有毒性低、效果佳、無異味的特點，但以往最常使用的鉻砷酸銅（CCA）防腐劑，因含具毒性的砷，在美國、歐盟已頒佈法規於 2004 年禁止或限制使用，在台灣亦於 2016 年 1 月 1 日起全面禁止使用作為木材防腐劑。目前最常使用者為銅、烷基銨化合物系（Alkaline copper quatary, ACQ），或銅唑化合物系（Copper azole, CuAz），雖然防腐效果良好，但屬石化資源產品，其耗能之製造及對環境污染的疑慮，因此由高效、低毒及環保的觀點，從天然木質材料化學成分中提取和開發的生物防腐劑是今後木材防腐劑的發展重點。

木醋液為製備木炭過程中，將所產生之濕煙加以冷凝收集之液體，呈現透明黃褐色液體，主要成分中 80-90% 為水，其它尚包含 10-20% 有機成分，其中又以醋酸為主，其餘約 200 種有機成分（Mu, et al., 2003; Sulaiman, et al., 2005），有機成分大致可分為酸性物質、酚性物質及中性物質等三大類。在木醋液應用之相關文獻中，提及木醋液具有抑菌性（Lu, et al., 2007; Nakai, et al., 2007; Velmurugan, et al., 2009），又木醋液組成分之酚性物質如 4-乙基-2-甲氧基酚（4-Ethyl-2-methoxyphenol）及 4-丙基-2-甲氧基酚

（4-Propyl-2-methoxyphenol）已被證實具有良好之抗真菌活性（池上文雄等，1998），但甚少文獻提及木醋液對於抗木材腐朽菌之活性，僅見 Kartal et al. (2004) 以柳杉木醋液評估抗木材腐朽菌活性，結果顯示木醋液濃度為 0.1% 時，對白腐菌 *Trametes versicolor* 及褐腐菌 *Fomitopsis palustris* 之抑制率分別為 27.5 及 47.5%。為進一步了解木醋液中之酸性、酚性及中性物質中以何種物質對抗木材腐朽菌具有功效，本研究將國產柳杉以機械窯製造之木醋液靜置 6 個月後，再經乙醚萃取後之不含水分木醋液，及將木醋液以分配法（杉浦銀治，1995）萃取分成酸性物質、酚性物質與中性物質等分離部，以固態平板試驗法評估乙醚萃取木醋液及各分離部之抗木材腐朽菌活性，探討其作為木材防腐劑之可行性。

二、試驗材料與方法

2.1 柳杉

本試驗使用柳杉（*Cryptomeria japonica*）採自中興大學惠蓀林場，20-30 年生，將試材裁切成 2 cm × 2 cm × 10 cm（L×W×H），並乾燥至含水率約為 10%。

2.2 木材腐朽菌

本研究採用 4 種木材腐朽菌，分別為屬白腐菌的樺褶孔菌（*Lenzites betulina*, BCRC35296）及雲芝菌（*Trametes versicolor*, BCRC35253）與屬褐腐菌的硫磺菌（*Laetiporus sulphureus*, BCRC35305）及密粘褶菌（*Gloeophyllum trabeum*, BCRC31614），以上 4 種菌種均購自生物資源保存及研究中心（Bioresource Collection and Research Center）。

2.3 培養基

馬鈴薯葡萄糖瓊脂（Potato dextrose agar, 簡稱 PDA）購自於 Merck（Germany）公司。

2.4 木材防腐劑

依據中華民國國家標準 CNS14495 規定之防腐藥

劑，採用銅、烷基銨化合物系 (Alkaline Copper Quaternary, ACQ) 為對照組，ACQ 組成分為 N-烷基苯甲基二甲基氯化銨 (N-alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride; BKC) 與氧化銅 (Copper oxide)，外觀為深藍色，由正昌製材有限公司所提供。

2.5 木醋液之製造與收集

2.5.1 熱解設備

本試驗所使用之試驗設備為電熱式機械窯(如圖 1 所示)，此系統由高 1 m 和直徑 1 m 之電熱爐爐體、電控加溫面板設定儀和水冷式冷凝塔所組成；電熱爐爐體由容量 0.064 m³ 內鍋和耐熱級 A1 鎳鉻絲加熱器外爐構成，溫度則由電控加溫面板設定儀控制。其中，第一及第二收集桶是以空氣冷卻其濕煙，所收集之液體主要以高分子量物質最多。而第三與第四收集桶則是利用 10°C 的冷水收集，主要收集之液體多為低分子量者。

2.5.2 木材炭化

將約 10 kg 木材置入電熱式機械窯之內鍋中，封口以防火棉密封後，將內鍋置入外爐中，以升溫速率 100°C/hr，加熱至 500°C，並持溫 1 hr。當溫度上升至 150°C 時，調整逆止閥使熱解氣體穩定釋出，經冷凝後，將第一、二、三及四收集桶中之木醋液混合可得木醋液，冷卻至室溫後，解開爐體可得木炭。本研究之台灣產柳杉木醋液係經靜置 6 個月。

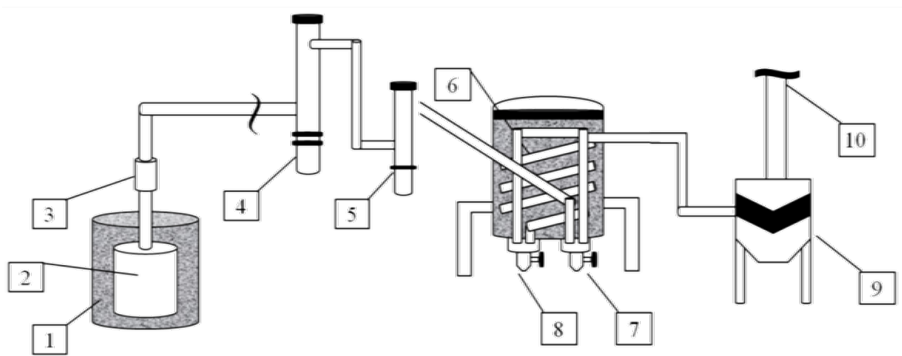
2.6 木醋液之分離及組成分析

2.6.1 木醋液分離法

本研究採用分配法 (杉浦銀治, 1995)，將木醋液以乙醚+氯化鈉萃取，分成乙醚層及水層；乙醚層再以 5% NaHCO₃ 萃取，分成乙醚層及水層；其中，水層以 30% 硫酸及乙醚萃取可得酸性物質，乙醚層以 2 N NaOH 萃取可得水層及乙醚層；水層再以 30% 硫酸及乙醚萃取可得酚類物質，而乙醚層部分則為中性物質，再以常壓蒸餾法回收乙醚，即得到酸性物質、酚性物質及中性物質。

2.6.2 有機成分分析

先將木醋液及其分離部以乙醚萃取後，再使用 Nylon 0.45 μm 過濾器過濾，取上層乙醚可溶部，接著利用 Perkin-Elmer Clarus 600D 氣相層析質譜儀 (Gas chromatography Mass spectrometer, GC-MS) 分析；取 1.0 μL 木醋液及其分離部注入氣相層析儀中，注射口溫度 (Injector temperature) 為 250°C，分離管柱 (Column) 採用 Stabilwax-DA 毛細管柱 (30 m × 0.25 mm ID, 0.25 μm film thickness)，載送氣體 (Carrier gas) 為 99.999 % 高純氦氣 (He)，流速 (Flow rate) 為 1.4 mL/min；溫度設定為起始溫度 40°C，持溫 5 min 後，再以 5 °C/min 之升溫速率，由 40 °C 上升至 110°C，之後再以 3°C/min 之升溫速率上升至 150°C，最後以 5°C/min 之升溫速率上升至 220°C，持



(1)機械窯爐體、(2)內膽鍋、(3)逆止閥、(4)第一收集桶、(5)第二收集桶、(6)冷卻水塔、
(7)第三收集桶、(8)第四收集桶、(9)放大收集槽(濾網)、(10)排氣口(含抽風設備)

圖 1 機械窯之收集及冷卻系統

溫 5 min；偵測器溫度為 280 °C，以 40~425 *m/z* 掃描模式進行偵測，將所得之木醋液 GC-MS 層析圖譜，以系統中 NIST library search 鑑定波峰加以比對。

2.7 抗木材腐朽菌活性分析

採用瓊脂固態平板試驗法(Agar plate assay)，將馬鈴薯葡萄糖瓊脂加入去離子水調配成濃度 39 g/L 的培養基，將乙醚萃取木醋液及酸性、酚性及中性物質，分別以 95%乙醇稀釋至所需濃度，加入培養基中，並混合均勻，待培養基凝固後，經滅菌處理，再將試驗菌種接種於培養基上，接菌完成後放入 26±2°C 及相對濕度 70%的生長箱，逐日測量其生長直徑，待對照組的菌絲長滿培養皿時，紀錄實驗組的生長直徑，計算各成分的抗菌指數 (Antifungal index)，試驗重複 3 次，抗菌指數的公式如下所示。

抗菌指數(%)=[1-(實驗組生長直徑/對照組生長直徑)]×100

2.8 統計分析

本試驗採用SPSS套裝軟體進行變異數分析，透過 Tukey's HSD檢定(Tukey's honest significant difference, HSD)，評估各組間之差異性(信賴區間95%)。

三、結果與討論

3.1 乙醚萃取木醋液及分離部有機成分

乙醚萃取木醋液、酸性、酚性及中性物質有機成分，以 GC-MS 分析結果將其有機成分整理如表 1。乙醚萃取木醋液之有機成分以酸性物質之 31.77% 為最高，其次為酚性物質之 31.31%，而中性物質 28.82% 為最低。酸性物質又以醋酸含量最高達 25.94%，丙酸 (2.57%) 及丁酸 (2.40%) 含量次之；酚性物質以 2-甲氧基酚 (2-Methoxy-phenol)、酚、2-甲氧基-6 甲基酚 (2-Methoxy-6-methylphenol) 及鄰-苯二酚 (1,2-Benzenediol) 為主，分別佔 8.94、6.03、4.84 及 4.13%。中性物質主要為 2-羥基-3-甲基-2-環戊烯-1-酮 (2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one)、1,6-

庚二烯-4-醇 (1,6-heptadien-4-ol)、2-甲氧基四氫呋喃 (2-Methoxytetrahydrofuran) 為主，分別佔 5.16、4.08 及 2.72%。將乙醚萃取木醋液分離為酸性、酚性及中性物質等三大成分；其中，酸性部分之酸性物質濃度由乙醚萃取木醋液之 31.77% 提高至之 85.16%，其中仍以醋酸之 60.26% 含量最高，丙酸及丁酸次之，其濃度提高至 13.04% 及 10.39%，但酸性物質中仍有少量的酚 (1.60%) 及環戊烯酮無法進一步分離。酚類部分之酚類物質濃度由乙醚萃取木醋液之 31.31% 提高至 90.26%，主要成分為酚、2-甲氧基酚、3-甲基酚 (3-Methyl-phenol) 及 2-甲氧基-6 甲基酚，分別佔 32.86、31.43、11.74 及 10.44%，但仍有少量約 1.48% 之醋酸以及 2.69% 之中性物質未能分離。又中性部分的中性物質濃度可由乙醚萃取木醋液之 28.82% 提高至 79.22%，以呋喃類及環戊烯酮類為主，其中以 2-甲氧基四氫呋喃與 2-甲基-2-環戊烯-1-酮 (2-methyl-2-cyclopenten-1-one) 含量最高，均達 10.09%，但仍有約 2.92% 之酚類物質無法分離。

3.2 乙醚萃取木醋液及酸性、酚性及中性物質之抗木材腐朽菌活性

本研究採用固態平板試驗法，以不同濃度 (800 及 1200 µg/mL) 評估乙醚萃取木醋液及各分離部之抗腐朽菌活性。乙醚萃取木醋液與酸性、酚性及中性物質以及市售防腐藥劑 ACQ 在濃度 800 µg/mL 下，對 2 株白腐菌 *L. betulina*、*T. versicolor* 及 2 株褐腐菌 *L. sulphureus*、*G. trabeum* 之抗木材腐朽菌活性如圖 2 所示。試驗結果顯示，乙醚萃取木醋液對白腐菌 *L. betulina* 和 *T. versicolor* 及褐腐菌 *L. sulphureus* 和 *G. trabeum* 之抑菌指數分別為 48.2、75.3、0.0 及 53.2%；酸性物質之抑菌指數則分別為 3.1、23.7、-7.3 及 18.4%；酚性物質之抑菌指數分別為 23.5、88.6、68.6 及 78.4%；而中性物質之抑菌指數分別為 11.4、62.9、51.3 及 21.2%；ACQ 之抑菌指數為 74.9、87.5、100.0 及 100.0%。由上述結果得知，在濃度 800 µg/mL，乙醚萃取木醋液及中性物質，僅對白腐菌 *T. versicolor*

表 1 柳杉乙醚萃取木醋液、酸性物質、酚性物質及中性物質之有機成分

滯留時間 (min)	有機成分	乙醚萃取 木醋液	酸性物質	酚性物質	中性物質
	酸性化合物*	31.77	85.16	1.48	—
19.67	acetic acid	25.94	60.26	1.48	—
21.11	formic acid	0.43	—	—	—
22.13	propanoic acid	2.57	13.04	—	—
24.83	butanoic acid	2.40	10.39	—	—
29.51	isocrotonic acid	0.43	1.47	—	—
	酚性化合物*	31.31	2.71	90.26	2.92
29.19	2-methoxy-phenol	8.94	1.60	31.43	—
33.69	2-methoxy-6-methylphenol	4.84	—	10.44	0.31
35.05	phenol	6.03	1.11	32.86	1.34
35.73	4-ethyl-2-methoxy-phenol	1.44	—	2.06	0.15
36.42	3-methyl-phenol	3.61	—	11.74	—
38.11	2,5-dimethyl-phenol	—	—	—	1.12
38.59	4-ethyl-phenol	0.32	—	0.89	—
40.13	2,6-dimethoxy-phenol	1.33	—	—	—
45.64	vanillin	0.67	—	0.84	—
49.52	1,2-benzenediol	4.13	—	—	—
	中性化合物*	28.82	6.26	2.69	79.22
5.32	butanoic acid methyl ester	1.00	—	—	5.38
5.41	3-methyl-3-buten-2-one	—	—	—	0.49
6.20	2-methoxytetrahydrofuran	2.72	—	—	10.09
6.84	1-propanol	—	—	—	0.11
6.96	2,5-dihydro-furan	0.35	—	—	1.09
7.28	3-hexanone	—	—	—	0.25
9.41	2-propen-1-ol	0.29	—	—	0.48
9.76	3-penten-2-one	—	—	—	0.79
11.61	cyclopentanone	0.96	1.03	—	6.34
11.85	2-methyl-cyclopentanone	—	—	—	1.53
11.96	tetrahydro-2,5-dimethoxy-furan	—	—	—	3.79
12.13	1-cyclobutyl-ethanone	—	—	—	0.37
14.78	1-hydroxy-2-propanone	1.07	—	—	—
14.63	2-cyclopenten-1-one	1.53	0.62	—	—
14.87	2-hydroxy-2-cyclopenten-1-one	—	—	—	0.33
15.48	2-methyl- 2-cyclopenten-1-one	1.14	1.08	—	10.09
16.89	1-hydroxy-2-butanone	0.50	—	—	—
19.99	furfural	1.80	1.14	—	7.82
20.31	3,4-dimethyl-2- cyclopenten-1-one	—	—	—	2.27
21.13	1-(2-furanyl)-ethanone	1.14	—	—	8.53
21.36	3-methyl-2-cyclopenten-1-one	1.06	—	—	3.93
21.99	2,3-dimethyl-2-cyclopenten-1-one	0.41	—	—	6.03
23.13	5-methyl-2-furancarboxaldehyde	0.35	—	—	2.44
23.32	3-furancarboxylic acid methyl ester	—	—	—	0.71
24.38	2-acetyl-5-methylfuran	—	—	—	0.35
24.62	3-ethyl-2-cyclopenten-1-one	0.67	—	—	1.08
25.38	2,5-dihydro-3,5-dimethyl-2-furano ne	0.64	—	—	2.89

表 1 柳杉乙醚萃取木醋液、酸性物質、酚性物質及中性物質之有機成分(續)

滯留時間 (min)	有機成分	乙醚萃取 木醋液	酸性物質	酚性物質	中性物質
27.49	1-(2-methylcyclopropyl)-ethanone	—	—	—	0.45
27.74	4,5-dimethyl-4-hexen-3-one	—	—	—	0.65
27.89	1,2-dimethoxy-benzene	—	—	—	0.23
28.50	2-hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one	5.16	2.39	1.70	—
30.48	3,4-dimethoxytoluene	—	—	—	0.71
39.50	1,6-heptadien-4-ol	4.08	—	—	—
42.93	1,2,4-trimethoxybenzene	0.31	—	—	—
47.34	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-ethanone	1.50	—	0.99	—
48.37	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propanone	2.14	—	—	—
總計		91.90	94.13	94.43	82.14

*數字為各化合物百分比之總合

“—” 表示含量些微至無法檢出

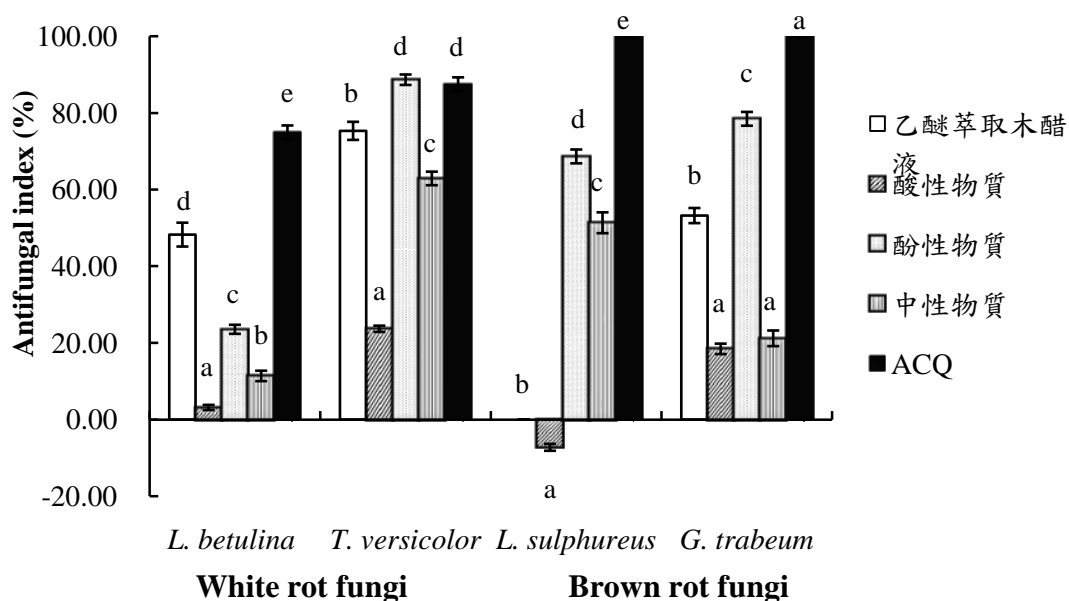


圖 2 柳杉乙醚萃取木醋液及酸性、酚性及中性物質之抗腐朽菌活性 (濃度 800 µg/mL)
 (同菌株中不同英文字母代表有顯著差異, 使用 Tukey's HSD 檢定, 信賴區間 95%)

具有較佳的抑菌活性; 依圖 2 顯示酸性物質則無法抑制 4 種腐朽菌之生長, 其中, 對褐腐菌 *L. sulphureus* 具有促進菌絲生長現象, Seo et al. (2010) 指出 pH 2-3 之酸性環境會促進 *L. sulphureus* 菌絲生長, 推測是因酸性物質具有酸性而促進其生長; 而酚性物質對白腐菌 *T. versicolor* 及褐腐菌 *L. sulphureus* 和 *G. trabeum* 均有良好的抑菌活性, 其中又以抑制白腐菌 *T.*

versicolor 及褐腐菌 *G. trabeum* 的效果最佳, 其抑菌指數分別為 88.6 及 78.4%, 但對白腐菌 *L. betulina* 無顯著抑制效果。而市售 ACQ 在 800 µg/mL 濃度下, 對白腐菌及褐腐菌皆有優良之抑菌活性, 其中, 又以抑制褐腐菌之效果最佳, 可完全抑制菌絲生長。

將濃度提高至 1200 µg/mL 時, 乙醚萃取木醋液與中性、酚性、酸性物質以及市售防腐藥劑 ACQ, 對 2

株白腐菌 *L. betulina*、*T. versicolor* 及 2 株褐腐菌 *L. sulphureus*、*G. trabeum* 之抗菌活性如圖 3 所示。結果顯示，乙醚萃取木醋液對白腐菌 *L. betulina* 和 *T. versicolor* 及褐腐菌 *L. sulphureus* 和 *G. trabeum* 之抑菌指數分別為 100.0、100.0、100.0 及 81.9%，其中，白腐菌 *L. betulina* 和 *T. versicolor* 及褐腐菌 *L. sulphureus* 可以完全抑制生長。酸性物質之抑菌指數則分別為 12.4、48.2、-1.7 及 26.3%，雖濃度提高至 1200 $\mu\text{g/mL}$ ，但酸性物質仍對白腐菌及褐腐菌無抑制效果。酚性物質之抑菌指數分別為 100.0、94.5、100.0 及 99.0%，顯示對於 4 種木材腐朽菌幾乎可完全抑制生長。而中性物質之抑菌指數分別為 100.0、74.9、100.0 及 48.2%，其中，對白腐菌 *L. betulina* 及褐腐菌 *L. sulphureus* 可完全抑制生長。ACQ 之抑菌指數為 86.3、100.0、100.0 及 100.0%，顯示 ACQ 對於腐朽菌之抑菌效果優良。

綜合上述之抗腐朽菌試驗，由統計分析觀點，在濃度 800 $\mu\text{g/mL}$ 時，乙醚萃取木醋液、酸性中性物質對於 4 種木材腐朽菌之抑菌指數均低於 ACQ 者，對白腐菌 *L. betulina* 之抑制效果，以乙醚萃取木醋液優於酸性、酚性及中性物質三大物質，且具有顯著差異。至於抑制白腐菌 *T. versicolor* 效果則以酚性物質優於 ACQ 及其他物質，但與 ACQ 並無顯著差異。對褐腐菌 *L. sulphureus* 之抑菌效果亦以酚性物質之抑菌指數最高，中性物質次之，且具有顯著差異。而對褐腐菌 *G. trabeum* 之效果，則以酚性物質優於其他物質者，且呈顯著差異。

以統計分析觀點，在濃度 1200 $\mu\text{g/mL}$ 時，對白腐菌 *L. betulina* 之抑菌效果以乙醚萃取木醋液、酚性物質及中性物質優於 ACQ，且呈顯著差異。對白腐菌 *T. versicolor* 抑制效果以乙醚萃取木醋液與 ACQ 之抑菌指數均為 100.0%，酚性物質次之，且無顯著差異。對褐腐菌 *L. sulphureus* 之抑菌效果除了酸性物質之外，乙醚萃取木醋液、酚性物質、中性物質及 ACQ 皆可完全抑制生長，且無顯著差異。在抑制褐腐菌 *G. trabeum* 之效果以 ACQ 優於酚性物質，且無顯著差異。

綜合上述結果得知，整體利用乙醚萃取木醋液對白腐菌 *L. betulina* 具有抑制功效，而三大組成中，以酚

性物質對 4 種木材腐朽菌均具抑制效果且可比擬市售 ACQ，因此可以推測木醋液之抗腐朽菌活性係來自其組成成分中的酚性物質。諸多文獻曾探討木醋液之抗真菌活性 (Masoor & Ali, 1992; Hwang, et al., 2005; Velmurugan, et al., 2009)，並將木醋液之抗菌活性歸因於酚性物質，而本試驗結果亦得到相同結果。Voda et al. (2004) 更指出酚性物質之抗真菌活性主要是與酵素催化的氧化作用 (Enzymatic oxidation) 有關，酚性物質會與真菌酵素的氫硫基 (-SH) 作用，改變真菌細胞膜滲透性，造成其正常功能損壞，導致酵素變性而產生抑菌作用。但在苯環上第 2 位置具有甲基或甲氧基之取代基者，如愈瘡木酚 (Guaiacol) 及鄰位甲酚 (*o*-Cresol) 含量多者，因真菌酵素受到立體化學 (Stereochemical) 障礙而降低抗真菌活性。

表 2 為乙醚萃取木醋液及酸性、酚性及中性物質對於 4 種木材腐朽菌之半數抑制濃度 (IC_{50})。 IC_{50} 值可代表抑制 50% 菌絲生長的濃度，當 IC_{50} 濃度值愈小，其抗菌活性愈強。由抗菌結果顯示，對白腐菌 *L. betulina* 而言，以乙醚萃取木醋液具有最強的抗菌活性，其 IC_{50} 值僅 824.1 $\mu\text{g/mL}$ 。對白腐菌 *T. versicolor* 方面，則以酚性物質具有最強抗菌活性，其 IC_{50} 僅 515.5 $\mu\text{g/mL}$ ，但與乙醚萃取木醋液 (520.6 $\mu\text{g/mL}$) 相似，因此，實際應用上可考慮直接使用乙醚萃取木醋液即可，以符合成本效益。而對於 2 株褐腐菌 *L. sulphureus* 和 *G. trabeum*，則均以酚性物質具有顯著抗菌活性，其 IC_{50} 值分別 622.8 及 570.7 $\mu\text{g/mL}$ 。由上述結果顯示，除白腐菌 *L. betulina* 稍劣於乙醚萃取木醋液外，木醋液組成成分中之仍以酚性物質對於本研究所採用之木材腐朽菌具有最佳之抗菌活性。

四、結論

本研究係將國產柳杉以機械窯製造之木醋液，再經乙醚萃取後之不含水分木醋液，及將木醋液以分配法萃成分成酸性物質、酚性物質與中性物質等分離部，GC-MS 鑑定其有機成分。試驗結果顯示，乙醚萃取木醋液之有機成分以酸性物質最多，其次為酚性物質而中性物質含量為最低。酸性物質中均以醋酸含

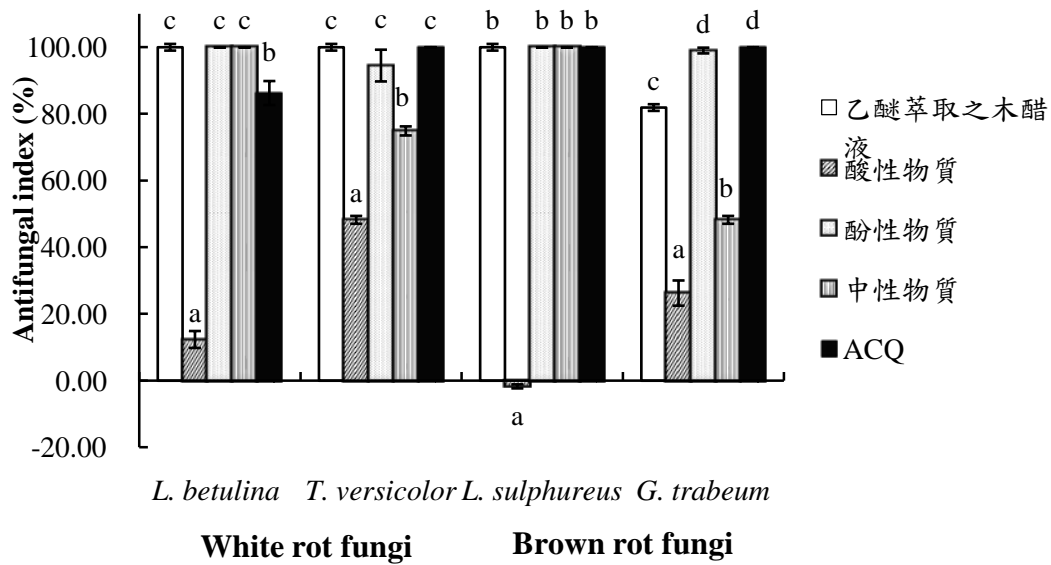


圖 3 柳杉乙醚萃取木醋液及酸性、酚性及中性物質之抗腐朽菌活性（濃度 1200 $\mu\text{g/mL}$ ）
 （同菌株中不同英文字母代表有顯著差異，使用 Tukey's HSD 檢定，信賴區間 95%）

表2 柳杉乙醚萃取木醋液及酸性、酚性及中性物質對4種木材腐朽菌之半數抑制濃度（ IC_{50} ）

木材腐朽菌	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			
	乙醚萃取木醋液	酸性物質	酚性物質	中性物質
<i>L. betulina</i>	824.1	1782.5	907.1	941.4
<i>T. versicolor</i>	520.6	1298.3	515.5	698.3
<i>L. sulphureus</i>	908.4	>2400.0	622.8	765.2
<i>G. trabeum</i>	600.7	2299.2	570.7	1219.4

量最高，丙酸及丁酸次之；酚性物質均以酚含量最高，其他尚有 2-甲氧基酚、3-甲基酚等；中性物質之主要成分為呋喃類及環戊烯酮類衍生物為主，其中以 2-甲氧基四氫呋喃與 2-甲基-2-環戊烯-1-酮為最多。

以固態平板試驗法評估乙醚萃取木醋液及各分離部對木材白腐菌及褐腐菌之抗腐朽菌活性。在濃度 800 $\mu\text{g/mL}$ 時，酚性物質除了對白腐菌 *L. betulina* 之抑菌效果於低於乙醚萃取木醋液者外，對其餘菌種均具有最高抑菌指數，但略低於市售防腐藥劑 ACQ。又濃度提高至 1200 $\mu\text{g/mL}$ 時，乙醚萃取木醋液、酚性物質及中性物質抑制白腐菌 *L. betulina* 之效果優於 ACQ，對白腐菌 *T. versicolor* 以乙醚萃取木醋液與

ACQ 可完全抑制生長，對褐腐菌 *L. sulphureus* 除了酸性物質之外，其他物質均可完全抑制其生長，而褐腐菌 *G. trabeum* 之抑菌效果則以酚性物質及 ACQ 最佳，可完全抑制其生長。由 IC_{50} 結果得知，酚性物質在 515-622 $\mu\text{g/mL}$ ，具有優良之抗木材腐朽菌活性。

參考文獻

池上文雄，關根利一，藤井祐一（1998）。木酢液の抗真菌活性成分。藥学雑誌，118(1)，27-30。
 杉浦銀治（1995）。木醋液の不思議。東京都：社團法人全國林業改良普及協會。
 Hwang, Y. H., Matsushita, Y. I., Sugamoto, K., &

- Marsui, T. (2005). Antimicrobial effect of the wood vinegar from *Cryptomeria japonica* sapwood on plant pathogenic microorganisms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(5), 1106-1109.
- Kartal, S. N., Imamura, Y., Tsuchiya, F., & Ohsato, K. (2004). Preliminary evaluation of fungicidal and termiticidal activities of filtrates from biomass slurry fuel production. *Bioresourse Technology*, 95, 41-47.
- Lu, K. T., Kuo, C. W., & Liu, C. T. (2007). Inhibition efficiency of a mixed solution of bamboo vinegar and chitosan against *Ralstonia solanacearum*. *Taiwan Journal of Forest Science*, 22(3), 329-338.
- Mansoor, H., & Ali, R. M. (1992). Antifungal activity of pyrolytic oils of tar from rubberwood (*Hevea brasiliensis*) pyrolysis. *Journal of Tropical Forest Science*, 4, 294-302.
- Mu, J., Uehara, T., & Furuno, T. (2003). Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plants. *Journal of Wood Science*, 49, 262-279.
- Nakai, T., Kartal, S. N., Hata, T., & Imamura, Y. (2007). Chemical characterization of pyrolysis liquids of wood-based composites and evaluation of their bio-efficiency. *Building and Environment*, 42, 1236-1241.
- Seo, M. J., Kim, M. J., Lee, H. H., Kim, S. R., Kang, B. W., Park, J. U., Rhu, E. J., Choi, Y. H., & Jeong, Y. K. (2010). Initial acidic pH is critical for mycelial cultures and functional exopolysaccharide production of an edible mushroom, *Laetiporus sulphureus* var. *miniatus* JM 27. *Journal of Microbiology*, 48(6), 881-884.
- Sulaiman, O., Murphy, R. J., Hashim, R., & Gritsch, C. S. (2005). The inhibition of microbial growth by bamboo vinegar. *Journal of Bamboo and Rattan*, 4(1), 71-80.
- Velmurugan, N., Han, S. S., & Lee, Y. S. (2009). Antifungal activity of neutralized wood vinegar with water extracts of *Pinus densiflora* and *Quercus serrata* saw dusts. *International Journal of Environmental Research*, 3(2), 167-176.
- Voda, K., Boh, B., & Vrtacnik, M. (2004). A quantitative structure-antifungal activity relationship study of oxygenated aromatic essential oil compounds using data structuring and PLS regression analysis. *Journal of Molecular Modeling*, 10, 76-84.

REFERENCES in English

- Hwang, Y. H., Matsushita, Y. I., Sugamoto, K., & Marsui, T. (2005). Antimicrobial effect of the wood vinegar from *Cryptomeria japonica* sapwood on plant pathogenic microorganisms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(5), 1106-1109.
- Ikeage, B. Y., Kankon, R. I., & Tousei, Y. I. (1998). The antifungal activity ingredients of wood vinegar. *Pharmacy Magazine*, 118(1), 27-30.
- Kartal, S. N., Imamura, Y., Tsuchiya, F., & Ohsato, K. (2004). Preliminary evaluation of fungicidal and termiticidal activities of filtrates from biomass slurry fuel production. *Bioresourse Technology*, 95, 41-47.
- Lu, K. T., Kuo, C. W., & Liu, C. T. (2007). Inhibition efficiency of a mixed solution of bamboo vinegar and chitosan against *Ralstonia solanacearum*. *Taiwan Journal of Forest Science*, 22(3), 329-338.
- Mansoor, H., & Ali, R. M. (1992). Antifungal activity of pyrolytic oils of tar from rubberwood (*Hevea brasiliensis*) pyrolysis. *Journal of Tropical Forest Science*, 4, 294-302.
- Mu, J., Uehara, T., & Furuno, T. (2003). Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plants. *Journal of Wood Science*, 49, 262-279.
- Nakai, T., Kartal, S. N., Hata, T., & Imamura, Y. (2007). Chemical characterization of pyrolysis liquids of wood-based composites and evaluation of their

bio-efficiency. *Building and Environment*, 42, 1236-1241.

- Seo, M. J., Kim, M. J., Lee, H. H., Kim, S. R., Kang, B. W., Park, J. U., Rhu, E. J., Choi, Y. H., & Jeong, Y. K. (2010). Initial acidic pH is critical for mycelial cultures and functional exopolysaccharide production of an edible mushroom, *Laetiporus sulphureus* var. *miniatus* JM 27. *Journal of Microbiology*, 48(6), 881-884.
- Sugiura, G. Z. (1995). *Incredible of Wood Vinegar*. Tokyo: Juridical Association, the Whole Country Universal Society of Forestry Improvement Press.
- Sulaiman, O., Murphy, R. J., Hashim, R., & Gritsch, C. S. (2005). The inhibition of microbial growth by bamboo vinegar. *Journal of Bamboo and Rattan*, 4(1), 71-80.
- Velmurugan, N., Han, S. S., & Lee, Y. S. (2009). Antifungal activity of neutralized wood vinegar with water extracts of *Pinus densiflora* and *Quercus serrata* saw dusts. *International Journal of Environmental Research*, 3(2), 167-176.
- Voda, K., Boh, B., & Vrtacnik, M. (2004). A quantitative structure-antifungal activity relationship study of oxygenated aromatic essential oil compounds using data structuring and PLS regression analysis. *Journal of Molecular Modeling*, 10, 76-84.