

研究報告

## 台灣二葉松木材抽出物抗氧化及抗真菌活性初探

陳永龍<sup>1</sup> 吳東霖<sup>1,2</sup> 吳志鴻<sup>\*</sup>

【摘要】本研究主要探討台灣二葉松 (*Pinus taiwanensis* Hayata) 木材抽出物之抗氧化及抗真菌活性。試驗結果顯示，台灣二葉松木材甲醇粗萃物各可溶部之DPPH自由基清除能力，以乙酸乙酯可溶部與正丁醇可溶部具有最佳抑制效果，其半數抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) 分別為24.3  $\mu$ g/mL與24.7  $\mu$ g/mL。而亞鐵離子螯合能力則以水可溶部具有最佳抑制效果，其IC<sub>50</sub>為482.0  $\mu$ g/mL。另外，乙酸乙酯可溶部具有最高總酚類含量，其值為141.9 mg GAE/g。而在抗真菌活性方面，乙酸乙酯可溶部具有最佳抗真菌效果，其對白腐菌 *Trametes versicolor*、*Lenzites betulina* 以及褐腐菌 *Gloeophyllum trabeum*、*Latetiporus sulphureus* 之IC<sub>50</sub> 依序為320、296、43及34  $\mu$ g/mL。進一步分析乙酸乙酯可溶部中各次分離部 (EA 1-EA 10) 發現，EA 4、EA 5及EA 6均具有優異之抗真菌活性，且EA 6亦具有良好之抗氧化活性；而EA 2及EA 3則係同時兼具抗真菌活性及金屬螯合能力。綜合上述試驗結果確知台灣二葉松木材具有良好的抗氧化及抗真菌能力，極具開發應用之潛力。

【關鍵詞】台灣二葉松、抗氧化活性、抗真菌活性、總酚類含量。

Research PaperPreliminary studies on the antioxidant and antifungal activities of extracts from *Pinus taiwanensis* woodYong-Long Chen<sup>1</sup> Tung-Lin Wu<sup>1,2</sup> Jyh-Horng Wu<sup>\*</sup>

【Abstract】The objective of this study is to evaluate antioxidant and antifungal activities of soluble fractions derived from the methanolic extract of *Pinus taiwanensis* wood. Various *in vitro* assays including DPPH radical scavenging activity, ferrous ion chelating ability, total phenolic contents, and agar plate test were carried out in this study. Results revealed that, among all the tested soluble fractions, the EtOAc and BuOH fractions showed the strongest DPPH radical scavenging activity with IC<sub>50</sub> values of 24.3 and 24.7  $\mu$ g/mL, respectively. Additionally, the EtOAc fraction exhibited the highest total phenolic content (141.9 mg GAE/g), while the water fraction exhibited the highest ferrous ion chelating ability (IC<sub>50</sub> =

---

1. 國立中興大學森林學系

Department of Forestry, National Chung Hsing University

2. 南開科技大學休閒事業管理系

Department of Leisure Business Management, Nan Kai University of Technology

\* 通訊作者，402台中市南區興大路145號

Corresponding author. 140 Xingda Rd., South Dist., Taichung City 402, Taiwan

Email: eric@nchu.edu.tw

482.0  $\mu$ g/mL). On the other hand, the EtOAc fraction exhibited the strongest antifungal activity on hypha growth of white-rot fungi, *Trametes versicolor* and *Lenzites betulina*, and brown-rot fungi, *Gloeophyllum trabeum* and *Latetiporus sulphureus*, with  $IC_{50}$  values of 320, 296, 43 and 34  $\mu$ g/mL, respectively. Furthermore, among 10 of EtOAc subfractions, the EA 4, EA 5, and EA 6 exhibited the strongest antifungal activity, and the EA 6 also exhibited good antioxidant activity. However, the EA 2 and EA 3 exhibited both antifungal and metal chelating ability. These results demonstrated that the methanolic extract of *P. taiwanensis* wood has excellent antioxidant and antifungal activities, indicating its potential applications are worthy of further investigations.

【Key words】*Pinus taiwanensis*; antioxidant activity; antifungal activity; total phenolic content.

## 一、前言

一般而言，木材腐朽菌降解木材之機制可分為酵素系統及自由基系統兩大類 (Martínez et al. 2005; 陳永龍等 2010)。早期，木材保存藥劑主要係透過殺真菌的途徑達到木材防腐之效果，然而隨著對木材腐朽菌降解機制之瞭解，近年來木材保存藥劑發展的趨勢，除了以殺真菌的途徑防止木材腐朽外，亦可透過酵素活性抑制 (Enzyme activity inhibition)、自由基捕捉 (Free radical scavenging) 與金屬螯合 (Metal chelating) 等途徑，藉由抗氧化劑捕捉木材腐朽菌所產生之自由基，或是以金屬螯合劑阻斷芬頓反應 (Fenton reaction) 的進行，以達到材料防腐之目的；其不僅具有防止木材腐朽的可能性，且對人體及環境亦不會造成太大的負擔 (Schultz & Nicholas 2002; Schultz et al. 2004, 2006)。此外，許多研究報告指出，木材之二次代謝產物與木材之耐腐朽性有密切的關係；其中，部分木材之二次代謝產物具有殺真菌、自由基捕捉及金屬螯合等活性 (Chang et al. 2001; Mihara et al. 2005; Wu et al. 2005; Tung et al. 2007)。由於木材之二次代謝產物可能具有殺真菌、酵素活性抑制、自由基捕捉或金屬螯合等活性之成分，因此若能利用木材之二次代謝產物作為木材保存藥劑，透過上述幾種真菌降解機制之抑制，應能有效達到木材防腐之效果，並符合環境友善之需求。

台灣二葉松 (*Pinus taiwanensis* Hayata) 為

台灣特有種，主要分布在海拔750-3000 m的山地間，常形成大面積純林，高可達35 m，性喜陽光充足之立地，屬演替先期之陽性物種，為崩塌地及火燒等干擾地之先驅性樹種。目前台灣二葉松除了供作邊坡植生與荒地植生之外，一直未能有效的加以利用，故如何開發台灣二葉松在林產加工利用的潛能，實為一值得探討且具挑戰性的研究主題。根據Lu et al. (1975)的研究發現，台灣二葉松樹脂中含有許多萜類化合物；而Lin et al. (2009) 以及Ho et al. (2012)的研究則發現，台灣二葉松松針抽出成分具有自由基捕捉及金屬螯合活性。然而，針對台灣二葉松木材抽出成分之抗氧化及抗真菌活性之相關研究十分缺乏。因此，本研究主要針對台灣特有樹種台灣二葉松木材為研究對象，評估其甲醇粗萃物各可溶部之抗氧化及抗真菌能力，以作為後續相關研究及產品開發之參考。

## 二、材料與方法

### (一) 試驗材料

#### 1. 台灣二葉松

本研究所使用之試驗材料，係取自國立中興大學惠蓀實驗林場之台灣二葉松。將木材氣乾後切削成為木片，隨之進行成分之萃取與分離。

#### 2. 木材腐朽菌

本研究使用之4種木材腐朽菌均購自生物資源保存及研究中心 (Bioresources Collection

and Research Center, BCRC)。腐朽菌包括白腐菌 *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilat (BCRC35253, 簡稱 *T. v.*) 與 *Lenzites betulina* (Fr.) Fr. (BCRC35296, 簡稱 *L. b.*) ; 以及褐腐菌 *Latetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. (BCRC35305, 簡稱 *L. s.*) 與 *Gloeophyllum trabeum* (Pers.: Fr.) Karst. (BCRC31614, 簡稱 *G. t.*)。

## (二) 試驗方法

### 1. 台灣二葉松木材抽出成分的萃取

台灣二葉松木材 (21.04 kg) 以 100% 甲醇 (100 L) 冷浸萃取浸泡 7 天後, 萃取液以 Whatman #1 濾紙過濾去除雜質。一次萃取後的試材續以上述方式重複萃取一次, 之後將過濾所得到的萃取液經減壓濃縮機 (Rotatory vacuum evaporator) 濃縮以獲得甲醇粗萃物 (1607 g ; 收率為 7.63%)。此外, 所得之甲醇粗萃物進一步以不同極性的溶劑進行液相-液相分配 (Liquid-liquid partition), 其中所使用之溶劑包括: 乙酸乙酯 (Ethyl acetate, EtOAc)、正丁醇 (n-Butanol, BuOH)、正己烷 (n-Hexane) 及水。台灣二葉松木材甲醇粗萃物 (1490 g) 經分割 (Fractionation) 後, 可得乙酸乙酯可溶部 (479.64 g ; 32.2%)、正丁醇可溶部 (134.28 g ; 9.0%)、正己烷可溶部 (572.26 g ; 38.4%) 以及水可溶部 (303.82 g ; 20.4%) 共 4 個分離部。此外, 本試驗續利用 Si-60 管柱層析方式 (管柱直徑約 16.5 cm 及高度約 135.0 cm), 配合乙酸乙酯/正己烷 (EtOAc/n-Hexane) 以及甲醇/乙酸乙酯 (MeOH/EtOAc) 等不同沖提溶劑 (溶劑體積約 20 L 及各瓶收取體積為 1 L) 系統, 依極性高低將台灣二葉松乙酸乙酯可溶部初步分離成 EA 1 至 EA 10 共 10 個次分離部 (Subfraction)。

### 2. DPPH 自由基清除試驗

本試驗參考 Wu et al. (2005) 之試驗方法, 取 200  $\mu$  L DPPH 乙醇溶液 (0.1 mM)、90  $\mu$  L Tris-HCl 緩衝液 (50 mM, pH 7.4) 以及 10  $\mu$  L 不同濃度 (1、5、10、50、100  $\mu$  g/mL) 之試驗樣品加入 96 孔微量平盤, 混合均勻後於室溫下避光靜置 30 min, 之後再以酵素免疫分析儀

(ELISA reader) 測量 517 nm 吸光值。當 DPPH 自由基被捕捉愈多時, 其吸光值會下降的愈多, 利用相對於對照組的吸光值減少百分比, 可得知各試驗樣品捕捉 DPPH 自由基之能力。

DPPH 自由基抑制率 (%) = (1 - 實驗組吸收值 / 對照組吸收值)  $\times$  100

### 3. 亞鐵離子螯合之測定

本試驗參考 Wu et al. (2008) 之試驗方法, 取 200  $\mu$  L 不同濃度 (125、250、500、1000、2000  $\mu$  g/mL) 之試樣、740  $\mu$  L 甲醇溶液及 20  $\mu$  L 2 mM  $\text{Fe}_2\text{Cl}_2$ , 均勻混合 30 s 後, 再加入 40  $\mu$  L 5 mM Ferrozine 反應 10 min, 並測量其 562 nm 吸光值, 同時依下列式子計算其亞鐵離子螯合能力。

亞鐵離子螯合能力 (%) = (1 - 實驗組吸收值 / 對照組吸收值)  $\times$  100

### 4. 總酚含量測定

本試驗參考 Lin et al. (2014) 之試驗方法, 以五倍子酸 (Gallic acid) 作為標準品進行檢測。試驗時, 取 500  $\mu$  L 福林-西歐卡都 (Folin-Ciocalteu) 試劑 (1 N) 加入 500  $\mu$  L 不同濃度之五倍子酸於微量離心管中, 均勻混合並靜置 5 min 後, 添加 1 mL 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  繼續靜置 10 min。之後利用離心方式 (12000g, 8 min), 取上清液以酵素免疫分析儀測量波長 730 nm 之吸光值, 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。至於樣品分析, 則以樣品取代標準品 (五倍子酸), 並依照相同方式進行反應與吸收值測量。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五倍子酸相對量 (Gallic acid equivalent, GAE), 並以此表示樣品之總酚含量 (Total phenolic content)。

### 5. 固態平板試驗

本試驗參考陳永龍等人 (2007) 之試驗方法, 秤取 39 g 之馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (Potato dextrose agar, PDA) 與 1 L 蒸餾水配製成培養基, 並以滅菌釜滅菌, 待其溫度降至 60°C 時,

隨即以瓊脂注射器將15 mL之PDA注入於已滅菌的9 cm培養皿，同時將不同濃度的測試液(15  $\mu$ L) 注入培養皿中，以8字搖法使其混合均勻後，將培養基靜置待其冷卻凝固，之後，續將直徑7 mm菌塊接種於其上，以石蠟膜(Parafilm) 將培養皿密封，靜置於30°C、70% RH培養箱培養。此外，以溶劑取代測試樣品者為對照組，待對照組的菌絲長滿培養皿後，量測各試驗組之菌絲生長直徑，並依下列式子計算其抗真菌指數(Antifungal index, %)。抗真菌指數數值越大者，表示抗真菌活性越強，抑菌效果越好。

抗真菌指數 (%) = (1 - 實驗組生長直徑/對照組生長直徑)  $\times$  100

#### 6. 統計分析

本試驗使用SAS統計系統進行變異數分析(Analysis of variance, ANOVA)，並透過Scheffe檢定(Scheffe's test) 評估各組間之差異。

### 三、結果與討論

#### (一) 台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部清除DPPH自由基之能力

真菌菌降解木材過程中除了利用纖維二糖水解酶(Cellobiohydrolases)、內切型葡萄糖分解酶(Endoglucanases)、外切型葡萄糖分解酶(Exoglucosylases)、木質素過氧化酶(Lignin peroxidase, LiP)、錳依賴型過氧化酶(Manganese-dependent peroxidase, MnP) 及漆酶(Laccases) 等胞外酵素之外，亦會產生氫氧自由基(Hydroxyl radical)、過氧化氫(Hydrogen peroxide) 及超氧自由基(Superoxide radical) 等強氧化劑來降解木材(Eaton & Hale 1993; Hammel et al. 2002; Martínez et al. 2005)。因此，本試驗藉由DPPH自由基清除能力試驗評估台灣二葉松抽出成分之自由基捕捉能力。台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部之DPPH自由基清除能力如圖1所示。由圖中可以發現，台灣二葉松各可溶部抑制DPPH自由基能力隨濃

度的增加而增大。比較各可溶部之抑制率可發現，以乙酸乙酯可溶部及正丁醇可溶部具有最佳抑制效果(半數抑制濃度(IC<sub>50</sub>) 分別為24.3  $\mu$ g/mL及24.7  $\mu$ g/mL)，其次為水可溶部(IC<sub>50</sub>為85.0  $\mu$ g/mL)，而正己烷可溶部抑制效果則最差(IC<sub>50</sub> >100  $\mu$ g/mL)。其中，台灣二葉松乙酸乙酯可溶部及正丁醇可溶部與具優異抗氧化能力之相思樹枝條乙醇粗萃物(IC<sub>50</sub>值為21.4  $\mu$ g/mL)(童鈺棠等 2005) 之活性相當，顯示台灣二葉松乙酸乙酯可溶部及正丁醇可溶部具有良好之抗氧化能力。

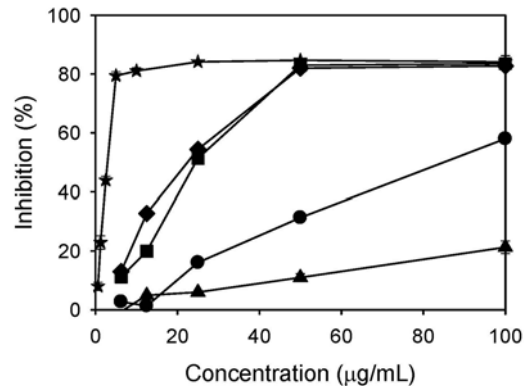


圖1. 台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部清除DPPH自由基之能力。

Figure 1. DPPH radical scavenging activity of various soluble fractions from the methanolic crude extract of *P. taiwanensis* wood. (◆) EtOAc fraction, (■) BuOH fraction, (▲) Hexane fraction, (●) Water fraction, (★) (+)-catechin. Results are means  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

#### (二) 台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部之亞鐵離子螯合能力

真菌降解木材過程中會利用環境中之鐵離子，透過芬頓反應產生超氧自由基及氫氧自由基等強氧化劑，進而造成木材的降解(Fraga & Oteiza 2002; 陳永龍等 2010)。因此，本試驗藉Ferrozine與Fe<sup>2+</sup> 螯合產生Ferrozine-Fe<sup>2+</sup> 紫紅色錯化合物，若試樣具有亞鐵離子螯合能力，則會減少Ferrozine-Fe<sup>2+</sup> 的生成，並導致562 nm

特定波長吸光值的降低。而藉由此吸光值的變化，則可判斷試樣之亞鐵離子螯合能力。由圖2台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部之亞鐵離子螯合試驗結果得知，台灣二葉松各可溶部螯合亞鐵離子之能力隨濃度的增加而增大。比較各可溶部之抑制率可發現，以水可溶部具有最佳之亞鐵離子螯合能力，其 $IC_{50}$ 為 $482.0 \mu\text{g/mL}$ ，而其餘各可溶部均無明顯亞鐵離子螯合能力，其 $IC_{50}$ 均大於 $2500 \mu\text{g/mL}$ 。

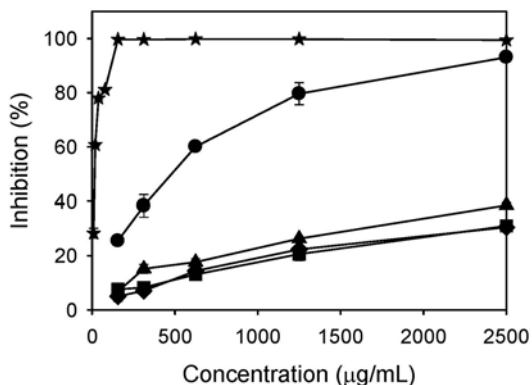


圖2. 台灣二葉松木材甲醇粗萃物各可溶部之金屬螯合能力。

Figure 2. Ferrous ion chelating ability of various soluble fractions from the methanolic crude extract of *P. taiwanensis* wood. (◆) EtOAc fraction, (■) BuOH fraction, (▲) Hexane fraction, (●) Water fraction, (★) EDTA. Results are means  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

(三) 台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部之總酚含量  
 酚類化合物 (Phenolic compounds) 為植物體中常見的二次代謝物，其種類繁多，目前已證實其具有自由基捕捉、抗氧化、螯合過渡金屬等活性 (Tagliacruzchi et al. 2005) 以及殺蟲等效果 (唐傳核 2004)。台灣二葉松各可溶部之總酚含量經由福林-西歐卡都法所測得的結果如圖3所示，台灣二葉松各可溶部中，總酚含量最高者為乙酸乙酯可溶部，其值為 $141.9 \text{ mg GAE/g}$ ，其次為正丁醇可溶部 ( $117.6 \text{ mg GAE/}$

$\text{g}$ ) 及水可溶部 ( $60.7 \text{ mg GAE/g}$ )，而正己烷可溶部之總酚含量 ( $17.5 \text{ mg GAE/g}$ ) 最低。由上述結果可得知，抗氧化活性與酚類化合物的含量具顯著的關連性。同樣的，Wu et al. (2005) 之研究亦發現，酚類化合物含量越高，其抗氧化效果越好。而台灣二葉松之乙酸乙酯可溶部及正丁醇可溶部具有較高總酚含量，因此具有較佳之DPPH自由基清除能力。

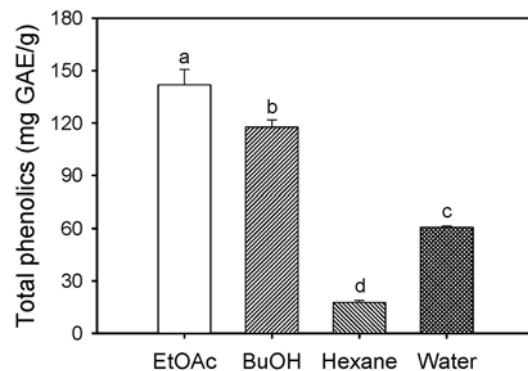


圖3. 台灣二葉松木材甲醇粗萃物各可溶部之總酚含量。

Figure 3. Total phenolic contents of various soluble fractions from the methanolic crude extract of *P. taiwanensis* wood. Results are means  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). The bars with different letters (a-d) are significantly different at  $P < 0.05$ .

(四) 台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部之抗真菌活性

以台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部對白腐菌 *T. v.* 與 *L. b.* 以及褐腐菌 *G. t.* 與 *L. s.* 進行抗真菌活性試驗，其試驗結果如表1所示。由表中可以得知，台灣二葉松各可溶部中，乙酸乙酯可溶部之抗真菌活性最高，其對白腐菌 *T. v.*、*L. b.* 以及褐腐菌 *G. t.*、*L. s.* 之  $IC_{50}$  依序為  $320$ 、 $296$ 、 $43$  及  $34 \mu\text{g/mL}$ ；其次為水可溶部，其對白腐菌 *T. v.*、*L. b.* 之  $IC_{50}$  分別為  $789$  及  $>1000 \mu\text{g/mL}$ ，對褐腐菌 *G. t.* 與 *L. s.* 之  $IC_{50}$  則分別為  $101$  及  $96 \mu\text{g/mL}$ ；正丁醇可溶部僅對褐腐菌 *G. t.* 有抑制效果 ( $IC_{50} = 742 \mu\text{g/mL}$ )，對其他3種木材腐朽菌之抑制效果

均不顯著。綜合上述結果得知，台灣二葉松甲醇粗萃物各可溶部中，以抗氧化活性最高之乙酸乙酯可溶部具有最佳之抗真菌活性，而具有

最佳金屬螯合能力之水可溶部之抗真菌活性次之，顯示抗氧化活性及金屬螯合能力能提升木材抽出物之抗真菌能力。

表1. 台灣二葉松木材甲醇粗萃物各可溶部之抗腐朽菌活性。

Table 1. Antifungal activities of various soluble fractions from the methanolic crude extract of *P. taiwanensis* wood.

Fractions	IC <sub>50</sub> (μg/mL)			
	<i>T. v.</i>	<i>L. b.</i>	<i>G. t.</i>	<i>L. s.</i>
EtOAc fraction	320	296	43	34
BuOH fraction	>1000	>1000	742	>1000
Hexane fraction	>1000	>1000	>1000	>1000
Water fraction	789	>1000	101	96

(五) 台灣二葉松乙酸乙酯可溶部次分離部之抗真菌及抗氧化活性

根據先前的抗氧化及抗真菌活性試驗結果得知，台灣二葉松乙酸乙酯可溶部具有最佳之抗氧化活性，同時具有最高之抗真菌活性，顯示該可溶部中應具有大量具抗氧化活性及抗真菌活性成分，實值得進一步分析。因此，本試驗續利用Si-60管柱層析將台灣二葉松乙酸乙酯可溶部分離成EA 1至EA 10共10個次分離部。之後，本研究亦針對各次分離部進行抗真菌及抗氧化活性試驗。表2為台灣二葉松乙酸乙酯可溶

部中各次分離部之抗真菌試驗結果，由表中結果可以得知，台灣二葉松乙酸乙酯可溶部之次分離部中，以EA 4、EA 5及EA 6之抗真菌活性較佳，其對4種木材腐朽菌均具有優異之抑制能力。其中，尤以EA 4之抑制活性最高，其對白腐菌*T. v.*、*L. b.*以及褐腐菌*G. t.*、*L. s.*之IC<sub>50</sub>依序為67、16、11及7 μg/mL；其次為EA 5，其對白腐菌*T. v.*、*L. b.*之IC<sub>50</sub>分別為91及22 μg/mL，對褐腐菌*G. t.*與*L. s.*之IC<sub>50</sub>則分別為16及6 μg/mL。而EA 8、EA 9、EA 10之抗真菌活性最差，其對4種木材腐朽菌之IC<sub>50</sub>均大於1000 μg/mL。

表2. 台灣二葉松木材乙酸乙酯次分離部之抗腐朽菌活性。

Table 2. Antifungal activity of EtOAc subfractions from *P. taiwanensis* wood.

Subfractions	IC <sub>50</sub> (μg/mL)			
	<i>T. v.</i>	<i>L. b.</i>	<i>G. t.</i>	<i>L. s.</i>
EA 1	ND	ND	ND	ND
EA 2	298	443	>1000	>1000
EA 3	233	442	179	211.0
EA 4	67	16	11	7
EA 5	91	22	16	6
EA 6	141	44	45	33
EA 7	>1000	>1000	914	>1000
EA 8	>1000	>1000	>1000	>1000
EA 9	>1000	>1000	>1000	>1000
EA 10	>1000	>1000	>1000	>1000

ND: not determined.

至於抗氧化活性方面，表3為台灣二葉松乙酸乙酯可溶部中各次分離部之DPPH自由基捕捉活性、亞鐵離子螯合能力及總酚含量之試驗結果。由表中可以發現EA 1至EA 5之DPPH自由基捕捉能力較低，其 $IC_{50}$ 均大於 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ ；而EA 6至EA 10之DPPH自由基捕捉能力較高，其 $IC_{50}$ 均介於 $35\text{--}40 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。而在亞鐵離子螯合能力方面，則以EA 1、EA 2及EA 3

之表現較佳，其 $IC_{50}$ 分別為452、85及297  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，其餘7個次分離部之 $IC_{50}$ 均大於 $2000 \mu\text{g}/\text{mL}$ ，不具顯著之金屬螯合能力。而在總酚含量方面，則以EA 1至EA 5含量較低，其值均介於 $5.3\text{--}53.5 \text{ mg GAE}/\text{g}$ ，而EA 6至EA 10之總酚含量較高，其值依序為265.3、204.7、178.0、176.0及175.9  $\text{mg GAE}/\text{g}$ ；此結果與DPPH自由基清除能力之試驗結果相似。

表3. 台灣二葉松木材乙酸乙酯次分離部DPPH自由基捕捉活性、亞鐵離子螯合能力及總酚含量。

Table 3. DPPH radical scavenging activity, ferrous ion chelating ability, and total phenolic content of EtOAc subfractions from *P. taiwanensis* wood.

Subfractions	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		Total phenolics* (mg of GAE/g)
	DPPH radical	Ferrous ion chelating	
EA 1	>100	452	$5.6 \pm 0.3^f$
EA 2	>100	85	$5.3 \pm 0.8^f$
EA 3	>100	297	$9.4 \pm 0.2^f$
EA 4	>100	>2000	$28.1 \pm 0.4^e$
EA 5	>100	>2000	$53.5 \pm 0.7^d$
EA 6	40	>2000	$265.3 \pm 8.5^a$
EA 7	38	>2000	$204.7 \pm 2.3^b$
EA 8	36	>2000	$178.0 \pm 5.6^c$
EA 9	38	>2000	$176.0 \pm 5.6^c$
EA 10	35	>2000	$175.9 \pm 3.3^c$

\*Results are means  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). Different letters (a-f) within a column are significantly different at  $P < 0.05$ .

綜合上述結果得知，在台灣二葉松乙酸乙酯可溶部各次分離部中，係以EA 4、EA 5及EA 6之抗真菌活性較佳；其中，EA 6亦具有優異之抗氧化活性，顯示抗氧化活性能提升木材抽出物之抗真菌活性。而EA 4及EA 5並不具良好之DPPH自由基清除活性及亞鐵離子螯合能力，推論其抗真菌活性並不是採抗氧化及金屬螯合途徑。此外，EA 2及EA 3同時具有良好之抗真菌活性及亞鐵離子螯合能力，顯示金屬螯合能力能提升木材抽出物之抗真菌活能力。另一方面，EA 6至EA 10同時兼具優異之DPPH自由基清除能力及較高之總酚含量，此結果與Wu et al. (2005) 及鄭凱中等人 (2008) 之試驗結

果相吻合，再次證實酚類化合物含量越高者，其抗氧化效果越好。

#### 四、結論

本研究評估台灣二葉松木材抽出成分之抗氧化及抗真菌活性，試驗結果得知各可溶部中，乙酸乙酯可溶部及正丁醇可溶部之DPPH自由基清除能力最佳，而水可溶部具有較優異之亞鐵離子螯合能力。而經由白腐菌 *Trametes versicolor* 與 *Lenzites betulina* 以及褐腐菌 *Gloeophyllum trabeum* 與 *Latetiporus sulphureus* 進行抗真菌活性試驗後得知，乙酸乙酯可溶部具有最佳之抗氧化及抗真菌活性，而水可溶部

則同時兼具良好之抗真菌及亞鐵離子螯合能力。而由乙酸乙酯可溶部次分離部中發現，EA 6同時兼具優異之抗氧化及抗真菌活性，而EA 2及EA 3則同時具有良好之抗真菌活性及亞鐵離子螯合能力。綜合上述結果得知，抗氧化活性及金屬螯合能力能提升木材抽出物之抗真菌能力，實值得進一步分離與鑒定出其中的抗真菌成分，並進行相關的藥理試驗，應可開發為一天然、有效、且對環境友善之木材保存藥劑。

## 五、引用文獻

- Chang ST, Wu JH, Wang SY, Kang PL, Yang NS, Shyur LF (2001) Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:3420-3424.
- Eaton RA, Hale MDC (1993) Chemistry and biochemistry of decay. In: Eaton RA, Hale MDC (eds) *Wood: Decay, Pests and Protection*. Chapman & Hall, pp 160-186.
- Fraga CG, Oteiza PI (2002) Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology* 180:23-32.
- Hammel KE, Kapich AN, Jensen Jr. KA, Ryan ZC (2002) Reactive oxygen species as agents of wood decay by fungi. *Enzyme and Microbial Technology* 30:445-453.
- Ho ST, Tung YT, Chen YL, Zhao YY, Chung MJ, Wu JH (2012) Antioxidant activities and phytochemical study of leaf extracts from 18 indigenous tree species in Taiwan. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012:215959.
- Lin CY, Lin LC, Ho ST, Tung YT, Tseng YH, Wu JH (2014) Antioxidant activities and phytochemicals of leaf extracts from 10 native *Rhododendron* species in Taiwan. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014:283938.
- Lin SC, Chang CMJ, Deng TS (2009) Enzymatic hot pressurized fluids extraction of polyphenolics from *Pinus taiwanensis* and *Pinus morrisonicola*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 40:136-142.
- Lu JJ, Lin KC, Cheng YS (1975) Terpenoids from oleoresin of *Pinus taiwanensis*. *Phytochemistry* 14:1375-1377.
- Martínez ÁT, Francisco MS, Ruiz-Dueñas J, Ferreira P, Camarero S, Guillén F, Martínez MJ, Gutiérrez A, del Río JC (2005) Biodegradation of lignocelluloses: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International Microbiology* 8:195-204.
- Mihara R, Barry KM, Mohammed CL, Mitsunaga TU (2005) Comparison of antifungal and antioxidant activities of *Acacia mangium* and *A. auriculiformis* heartwood extracts. *Journal of Chemical Ecology* 31:789-804.
- Schultz TP, Nicholas DD (2002) Development of environmentally-benign wood preservatives based on the combination of organic biocides with antioxidants and metal chelators. *Phytochemistry* 61:555-560.
- Schultz TP, Nicholas DD, Kirker FT, Prewitt ML, Diehl SV (2006) Effect of the antioxidant BHT on repletion of chlorothalonil in treated wood after 54 months of ground-contact exposure. *International Biodeterioration & Biodegradation* 57:45-50.
- Schultz TP, Nicholas DD, Prewitt ML (2004) Environmentally-benign wood preservatives based on organic biocide: antioxidant combination: Ground-contact efficacy ratings and BHT depletion after four years of exposure. *Holzforschung* 58:300-304.
- Tagliacuzzi D, Verzelloni E, Conte A (2005) Effect of some phenolic compounds and



- beverages on pepsin activity during simulated gastric digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:8706-8713.
- Tung YT, Wu JH, Kuo YH, Chang ST (2007) Antioxidant activities of natural phenolic compounds from *Acacia confusa* bark. *Bioresource Technology* 95:1120-1123.
- Wu JH, Tung YT, Chyu CF, Chien SC, Wang SY, Chang ST, Kuo YH (2008) Antioxidant activity and constituents of extracts from the root of *Garcinia multiflora*. *Journal of Wood Science* 54:383-389.
- Wu JH, Tung YT, Wang SY, Shyur LF, Kuo YH, Chang ST (2005) Phenolic antioxidants from the heartwood of *Acacia confusa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:5917-5921.
- 唐傳核 (2004) 植物生物活性物質。化學工業出版社。
- 陳永龍、陳載永、吳志鴻 (2010) 淺談真菌降解木材機制與環境友善型木材防腐劑。中華林學季刊43(1) : 181-189。
- 陳永龍、嚴振賓、陳啓予、吳志鴻、陳載永 (2007) 無患子木材與果實抽出物之抗黴活性。林產工業26 : 227-285。
- 童鈺棠、吳志鴻、張上鎮 (2005) 相思樹枝條抽出物抗氧化活性之初探。中華林學季刊38(3) : 367-375。
- 鄭凱中、何尚哲、陳載永、吳志鴻 (2008) 穗花蛇菰抽出物抗氧化活性之探討。中華林學季刊41(4) : 537-546。

