

行政院農業委員會林務局委託研究計畫系列 101-00-5-15

## 肉桂類植物機能性產品之開發

# Exploitation of functional products from plants of *Sect. Cinnamomum*



委託機關：行政院農業委員會林務局

執行機關：國立臺灣大學森林環境暨資源學系

中華民國 102 年 7 月

# 行政院農業委員會林務局暨所屬機關 101 年度委託研究計畫報告

## I、計畫序號、名稱

- (I) 計畫編號：101-00-5-15
- (II) 計畫名稱：肉桂類植物機能性產品之開發
- (III) 執行機關：國立臺灣大學森林環境暨資源學系
- (IV) 計畫主持人：張上鎮 特聘教授

## II、摘要

本計畫旨在評估樟屬 (*Cinnamomum*) 肉桂節 (*Sect. Cinnamomum*) 植物—茵桂 (*C. cassia*)、肉桂醛型土肉桂 (*C. osmophloeum* ct. *cinnamaldehyde*) 及枷羅木醇型土肉桂 (*C. osmophloeum* ct. *linalool*)、錫蘭肉桂 (*C. zeylanicum*)、山肉桂 (*C. insularimontanum*)、胡氏肉桂 (*C. macrostemon*)、香桂 (*C. subavenium*) 及陰香 (*C. burmanii*)—8 種葉子精油毒殺臺灣家白蟻 (*Coptotermes formosanus* Shiraki) 之效果，並利用氣相層析質譜儀分析精油組成分，進一步測試精油主成分之抗白蟻活性，期能尋得環境友善之天然抗白蟻精油或有效成分。抗白蟻試驗結果顯示，8 種精油皆具有良好之抗白蟻活性，其中以錫蘭肉桂及肉桂醛型土肉桂具有最強的抗白蟻性 (試驗第 1 天之半數致死劑量 ( $LD_{50}$ ) 分別為 0.37 及 1.86 mg/g)。根據精油成分分析結果，評估 12 個精油主成分 ( $\alpha$ -Pinene、Camphene、*p*-Cymene、1,8-Cineol、Linalool、L-Borneol、Citral、Eugenol、Caryophyllene oxide、*trans*-Cinnamaldehyde、*trans*-Cinnamyl acetate 及  $\alpha$ -Terpineol) 之抗白蟻活性，試驗結果顯示，除了  $\alpha$ -Pinene、Camphene、*p*-Cymene 及 1,8-Cineol 4 種成分不具抗白蟻活性 (試驗第 14 天之  $LD_{50} > 10$  mg/g)，其餘 8 種成分皆具有抗白蟻活性，其中又以 Eugenol、*trans*-Cinnamyl acetate 及 *trans*-Cinnamaldehyde 之抗白蟻活性最強 (試驗第 1 天之  $LD_{50}$  分別為 0.37、1.71 及 1.63 mg/g)。本計畫成果顯示，錫蘭肉桂及肉桂醛型土肉桂 2 種葉子精油與 Eugenol、*trans*-Cinnamyl acetate 及

*trans*-Cinnamaldehyde 3 種成分最具潛力開發成為環境友善的天然抗白蟻藥劑。

關鍵詞：抗白蟻活性、肉桂醛、肉桂節植物、精油、丁香酚

### III、前言

臺灣地處熱帶及亞熱帶，其溫、濕度均極適合白蟻生長和繁殖，日常生活中所使用之木質材料及森林中之林木均易受白蟻啃食、破壞，造成十分嚴重的經濟損失，甚至對公共安全產生危害 (Edwards and Mill, 1986; Osbrink *et al.*, 2008)。大量使用傳統殺白蟻藥劑往往會造成環境的污染、公害及對人體健康產生不良影響等問題。為避免環境污染和危害人體健康，目前漸漸傾向於採用天然的殺蟲劑。現已有許多研究結果顯示植物的抽出物和精油可以做為殺白蟻的藥劑 (Verma *et al.*, 2009)，因此，如何由植物萃取出有效的天然除蟲成分日益受到重視。

全世界約有350種樟科 (Lauraceae) 樟屬 (*Cinnamomum*) 植物，主要分布在亞洲熱帶、亞熱帶、太平洋群島及澳洲等地，臺灣共有14種肉桂節 (Sect. *Cinnamomum*) 植物。肉桂自古以來即被人類應用在醫藥及食品添加香料方面，因有抗菌作用，故極具商業經濟價值。近年來，已有研究指出肉桂醛型土肉桂 (*C. osmophloeum* ct. *cinnamaldehyde*) 及錫蘭肉桂 (*C. zeylanicum*) 葉子精油具抗白蟻活性 (Chang and Cheng, 2002)，而其它肉桂節植物是否亦具抗白蟻活性則仍未知，且臺灣常見之肉桂仍未有抗白蟻活性之相關研究，實屬可惜，因此，非常值得深入研究及探討，進而開發利用。

### IV、材料與方法

#### (I) 肉桂葉子

本試驗採用 8 種肉桂節植物葉子，包括茵桂 (*C. cassia*)、肉桂醛型土肉桂

(*C. osmophloeum* ct. cinnamaldehyde) 及枷羅木醇型土肉桂 (*C. osmophloeum* ct. linalool)、錫蘭肉桂 (*C. zeylanicum*)、山肉桂 (*C. insularimontanum*)、胡氏肉桂 (*C. macrostemon*)、香桂 (*C. subavenium*) 及陰香 (*C. burmanii*)，樣本編號依序為 CC0101、CO11301、CO0615、CZ0301、CI0401、CM0501、CS0201 及 CB0201。枷羅木醇型土肉桂採集自埔里蓮華池營養系園，肉桂醛型土肉桂採集自福山植物園，胡氏肉桂於採集自文化大學華林林場，茵桂、香桂及山肉桂於採集自新店信賢苗圃，錫蘭肉桂採集自埔里民宅，而陰香採集自政治大學後山。所採之葉子經林業試驗所呂勝由先生及許原瑞先生鑑定，證據標本 (Voucher specimens) 存放於國立臺灣大學森林環境暨資源學系生物材料化學實驗室。

## (II) 化合物

本計畫所使用之化合物標準品包括  $\alpha$ -Pinene (Acros, Belgium)、Camphene (ICN Biomedicals Inc., USA)、 $\beta$ -Pinene (Acros, Belgium)、*p*-Cymene (Acros, Belgium)、1,8-Cineol (TCI, Japan)、L-Borneol (Acros, Belgium)、 $(\pm)$ -Linalool (Sigma, USA)、 $\alpha$ -Terpineol (Acros, Belgium)、Citral (Acros, Belgium)、*trans*-Cinnamaldehyde (TCI, Japan)、*trans*-Cinnamyl acetate (Acros, Belgium)、Eugenol (Acros, Belgium)、Coumarin (Acros, Belgium)、Caryophyllene oxide (Acros, Belgium)。

## (III) 精油萃取

本試驗將所採集到的茵桂、肉桂醛型土肉桂、枷羅木醇型土肉桂、山肉桂、胡氏肉桂、香桂、錫蘭肉桂與陰香 8 種肉桂節植物葉子利用水蒸餾法 (Hydrodistillation, HD) 萃取精油。萃取方法是將約 200 g 的葉片加入 1000 mL 的蒸餾水中，萃取 6 hr 後收集精油。

#### (IV) 精油成分分析

##### 1. 氣相層析儀分析

精油成分組成化合物之分析，採用 Thermo Trace GC Ultra (Thermo Fisher Scientific) 氣相層析儀 (Gas chromatography, GC)，分離管柱 DB-5ms (Crossbond 5% phenyl methylpolysiloxane)，長度 30 m，內徑 0.25 mm，膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ，載送氣體氦氣的流速 1 mL/min，分流比 (Splitting ratio) 10:1，注射口 (Injection port) 溫度 270 $^{\circ}\text{C}$ ，檢測器為氫焰離子檢測器 (Flame ionization detector)。8 種肉桂節植物葉子精油所使用的起始溫度 60 $^{\circ}\text{C}$  持溫 1 min，第一段升溫以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升溫至 220 $^{\circ}\text{C}$  後持溫 2 min，第二段升溫以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 250 $^{\circ}\text{C}$  後持溫 3 min。由氣相層析圖波峰面積計算各精油成分之含量。

##### 2. 氣相層析-質譜儀分析

本研究利用氣相層析質譜儀 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 鑑定精油成分，所用之氣相層析儀為 Thermo Trace GC Ultra，質譜儀為 Polaris Q (Thermo Fisher Scientific)。精油部分以乙酸乙酯稀釋成 200 ppm，過濾後取 1  $\mu\text{L}$  注入氣相層析質譜儀進行成分鑑定，所採用之氣相層析質譜儀條件如下所示：注射口溫度 270 $^{\circ}\text{C}$ ，載送氣體氦氣的流速 1 mL/min，離子源溫度 230 $^{\circ}\text{C}$ ，分流比 10:1，毛細管柱 DB-5ms (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ )，分析條件與上述之氣相層析儀相同。成分鑑定則與 National Institute of Standards and Technology (NIST) V. 2.0 和 Wiley 7.0 資料庫的質譜比對，並使用標準品進行共注射 (Co-injection) 確定。此外，也使用 Kovats indices (KI) 進行比對 (Adams, 2007)，KI 值的計算公式如下所示：

$$\text{KI} = 100N + 100n \frac{\text{Log}t'_{R(x)} - \text{Log}t'_{R(N)}}{\text{Log}t'_{R(N+n)} - \text{Log}t'_{R(N)}}$$

$t'_{R(N)}$ 和  $t'_{R(N+n)}$ ：為碳數  $N$  及  $N + n$  之同質系的  $n$ -Alkanes 修正留滯時間，但未知化合物  $X$  之留滯時間必須介於碳數  $N$  及  $N + n$  之  $n$ -Alkanes 之留滯時間。

$t'_{R(x)}$ ：為未知化合物  $X$  之修正留滯時間。

#### (V) 白蟻

本試驗所使用之白蟻係為臺灣危害最為嚴重之臺灣家白蟻 (*Coptotermes formosanus* Shiraki)。白蟻由環聯除蟲公司提供，試驗前，以報紙、廢木料及水做為白蟻食物來源，並飼養於溫、濕度  $27^{\circ}\text{C}$  及 70% 之暗室。

#### (VI) 抗白蟻試驗

本試驗參考 Cheng 等人 (2012) 之試驗方法並稍做修改。將精油或化合物標準品分別溶於乙醇，再稀釋至適當濃度後，取  $600\ \mu\text{L}$  溶液分別滴於直徑  $9\ \text{cm}$  濾紙 (絕乾重  $0.73\ \text{g}$ , #3, Advantec MFS Inc., Dublin, CA, USA)，使每克濾紙分別含有 10、5、2.5 及  $1.25\ \text{mg}$  精油或化合物標準品 (文中以  $\text{mg/g}$  表示樣品使用劑量)，錫蘭肉桂與 Eugenol 額外再以 1、0.5、0.25 及  $0.125\ \text{mg/g}$  進行試驗。試驗對照組僅滴入乙醇。待濾紙上之乙醇於常溫下揮發 2 - 3 h 後，將濾紙放入直徑  $9\ \text{cm}$  培養皿中 (高度  $1.5\ \text{cm}$ , Merck)，再放入 33 隻白蟻 (30 隻工蟻及 3 隻兵蟻)，最後，將培養皿放置於生長箱 (溫度  $27^{\circ}\text{C}$ ，濕度 80%) 中 14 天。每天計算白蟻死亡隻數，並計算白蟻死亡率。試驗重覆數為 3。

## V、結果與討論

### (I) 精油成分分析鑑定

利用氣相層析儀及氣相層析-質譜儀分析 8 種肉桂葉子精油之組成分，其結

果如表 1 所示。錫蘭肉桂 (CZ, 樣本編號 CZ0301)、肉桂醛型土肉桂 (CO-CIN, 樣本編號 CO11301) 及枷羅木醇型土肉桂 (CO-LL, 樣本編號 CO0615) 之主成分分別為 Eugenol、*trans*-Cinnamaldehyde 及 Linalool, 其含量分別為 97.81%、89.17% 及 97.04%。陰香 (CB, 樣本編號 CB0201) 主要由 L-Borneol (81.73%) 與 L-Bornyl acetate (10.46%) 所組成; 而茵桂 (CC, 樣本編號 CC0101) 則由 *trans*-Cinnamyl acetate (49.24%) 與 *trans*-Cinnamaldehyde (28.99%) 所組成。香桂 (CS, 樣本編號 CS0201)、山肉桂 (CI, 樣本編號 CI0401) 及胡氏肉桂 (CM, 樣本編號 CM0501) 的主成分較為複雜。香桂 (CS) 由 28.4% Linalool、26.04% *p*-Cymene、11.82% 1,8-Cineol 及 8.81% Caryophyllene oxide 組成; 山肉桂 (CI) 的主成分包含  $\alpha$ -Pinene (17.63%)、Caryophyllene oxide (17.19%)、L-Bornyl acetate (14.46%)、Linalool (10.57%) 及 Camphene (9.85%); 胡氏肉桂 (CM) 則主要由 1,8-Cineol、Linalool、*E*-Citral 及 *Z*-Citral 所組成, 其含量分別為 25.45%、25.39%、9.14% 及 6.59%。

表 1.8 種樟屬肉桂節植物葉子精油組成分之含量 (%)

KI	rKI	Compound	CB	CC	CI	CM	CO-CIN	CO-LL	CS	CZ
937	939	$\alpha$ -Pinene	-	-	17.63	0.77	-	-	3.06	0.16
954	954	Camphene	-	-	9.85	-	-	-	0.21	0.08
981	979	$\beta$ -Pinene	-	-	5.47	0.76	-	-	0.55	0.05
1027	1025	<i>p</i> -Cymene	-	0.83	0.35	1.01	-	-	26.04	-
1035	1031	1,8-Cineol	0.20	-	0.35	25.45	-	-	11.82	0.06
1099	1097	Linalool	0.37	-	10.57	25.39	-	97.04	28.4	-
1174	1169	L-Borneol	81.73	-	5.12	-	-	-	1.54	-
1195	1189	$\alpha$ -Terpineol	0.79	-	2.47	5.61	-	0.23	3.13	-
1219	1219	<i>cis</i> -Cinnamaldehyde	-	2.50	0.14	-	7.03	-	-	-
1239		<i>Z</i> -Citral	-	-	-	6.59	-	-	-	-
1268		<i>E</i> -Citral	-	-	-	9.14	-	-	-	-
1273	1270	<i>trans</i> -Cinnamaldehyde	0.30	28.99	-	1.83	89.17	0.22	-	0.25
1285	1288	L-Bornyl acetate	10.46	0.45	14.46	-	-	-	-	-
1352	1359	Eugenol	-	-	-	0.50	0.90	-	-	97.81
1433	1434	Coumarin	0.15	3.91	-	-	-	0.14	-	-
1444	1446	<i>trans</i> -Cinnamyl acetate	0.28	49.24	0.20	-	-	0.18	-	0.20
1575	1578	Spathulenol	1.45	-	-	5.36	-	-	0.27	-
1580	1583	Caryophyllene oxide	0.92	-	17.19	4.66	0.21	-	8.81	0.34
Monoterpenes			-	0.83	33.3	2.54	-	-	29.86	0.29
Oxygenated monoterpenes			93.55	0.45	32.97	72.18	-	97.27	44.89	0.06
Oxygenated sesquiterpenes			2.37	-	17.19	10.02	0.21	-	9.08	0.34
Others (non-terpenes)			0.43	55.65	0.34	0.50	7.93	0.32	-	98.01
Total identified			96.65	85.92	83.8	87.07	97.31	97.81	83.83	98.95

CB：陰香；CC：茵桂；CI：山肉桂；CM：胡氏肉桂；CO-CIN：肉桂醛型土肉桂；CO-LL：枷羅木醇型土肉桂；CS：香桂；CZ：錫蘭肉桂。



## (II) 精油之抗白蟻活性

為了解樟屬肉桂節植物葉子精油之抗白蟻活性，本研究以 10、5、2.5 及 1.25 mg/g 的使用劑量，將 8 種肉桂（茵桂、肉桂醛型土肉桂與伽羅木醇型土肉桂、錫蘭肉桂、山肉桂、胡氏肉桂、香桂及陰香）葉子精油進行抗白蟻試驗，其中錫蘭肉桂額外進行劑量 1、0.5、0.25 及 0.125 mg/g 的抗白蟻試驗，結果如圖 1 所示。試驗第 7 天時，試驗對照組之白蟻死亡率低於 5%，且濾紙均明顯被白蟻啃食，顯示 7 天內白蟻之活力良好。抗白蟻試驗結果顯示錫蘭肉桂葉子精油之抗白蟻活性最強，使用劑量 1 或 0.5 mg/g，均於試驗第 1 天即殺死所有的白蟻（死亡率 100%），當使用劑量為 0.25 mg/g 時，試驗第 7 天殺死 90% 白蟻。肉桂醛型土肉桂葉子精油之抗白蟻活性次之，使用劑量 10、5 及 2.5 mg/g，試驗第 1 天之白蟻致死率均為 100%。茵桂葉子精油之使用劑量為 10 及 5 mg/g 時，試驗第 1 天可殺死所有白蟻，而使用 2.5 mg/g 劑量時，試驗第 7 天時才能殺死 50% 之白蟻。伽羅木醇型土肉桂、胡氏肉桂及香桂葉子精油之抗白蟻活性雖稍弱於前述三者，但當它們使用劑量為 10 mg/g 時，同樣可於試驗第 1 天殺死全部的白蟻，當使用劑量降為 5 mg/g 時，試驗第 1 天時的白蟻死亡率分別為 19%、74% 及 19%，而試驗 2 天後白蟻之死亡率皆為 100%（胡氏肉桂除外），胡氏肉桂於第 7 天死亡率達到 100%。8 種葉子精油中，山肉桂及陰香之抗白蟻活性較弱，當它們的使用劑量為 10 及 5 mg/g 時，分別需 2 及 3 天才能完全殺死全部的白蟻。本研究室先前曾評估臺灣 3 種針葉樹—柳杉（*Cryptomeria japonica*）、臺灣肖楠（*Calocedrus macrolepis* var. *formosana*）及臺灣扁柏（*Chamaecyparis obtusa* var. *formosana*）—不同部位精油之抗白蟻活性，試驗結果顯示，臺灣肖楠心材精油具有最強的抗白蟻活性，當其心材精油使用劑量為 10 mg/g 時，試驗第 1 天之白蟻死亡率即達到 100%（Cheng *et al.*, 2007）。由此可知，本計畫所評估之 8 種肉桂葉子精油，除了陰香與山肉桂之外，其餘 6 種之抗白蟻活性皆與臺灣肖楠心材的相當。

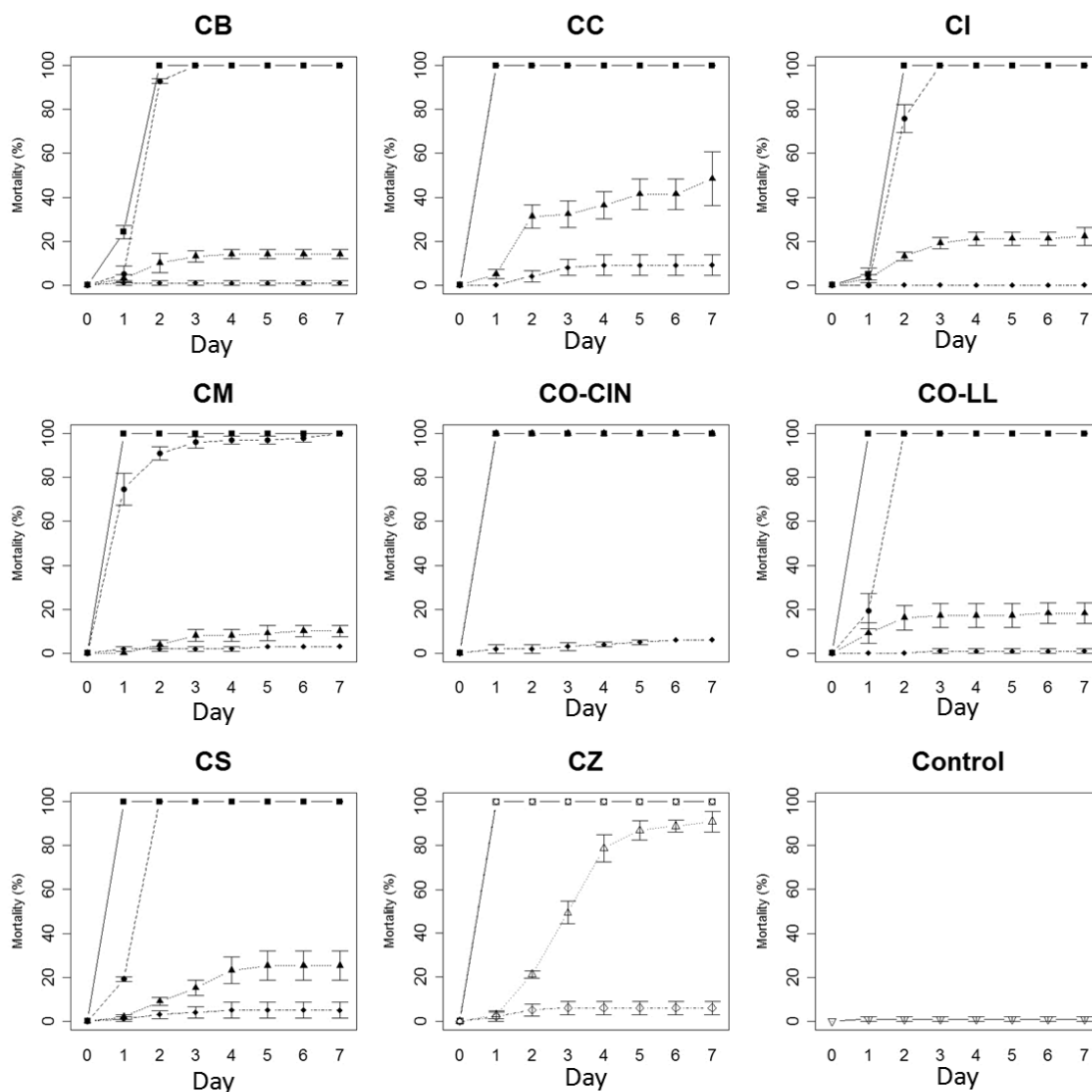


圖 1. 8 種樟屬肉桂節植物葉子精油之抗白蟻活性 (實心正方形、圓形、三角形及菱形分別表示試驗劑量 10、5、2.5 與 1.25 mg/g；錫蘭肉桂所用之空心正方形、圓形、三角形及菱形分別表示試驗劑量 1、0.5、0.25 與 0.125 mg/g)。  
**CC**：茵桂；**CO-CIN**：肉桂醛型土肉桂；**CO-LL**：伽羅木醇型土肉桂；**CZ**：錫蘭肉桂；**CI**：山肉桂；**CM**：胡氏肉桂；**CS**：香桂；**CB**：陰香。

為比較 8 種肉桂精油之抗白蟻活性，本研究進一步計算於試驗第 1、7 及 14 天時，8 種精油對白蟻之半數致死劑量 ( $LD_{50}$ , mg/g)，結果如表 2 所示。試驗第 1 天時，錫蘭肉桂精油之  $LD_{50}$  值最低 (0.37 mg/g)，其次為肉桂醛型土肉桂葉子

精油 (1.86 mg/g)，茵桂、胡氏肉桂、枷羅木醇型土肉桂及香桂之 LD<sub>50</sub> 值介於 3.68 - 6.90 mg/g；而山肉桂及陰香則都大於 10 mg/g。由此可知，錫蘭肉桂及肉桂醛型土肉桂葉子精油具有很強的抗白蟻活，在試驗第 1 天僅需低劑量 (< 2 mg/g) 即可殺死所有白蟻，茵桂、胡氏肉桂、枷羅木醇型土肉桂及香桂之抗白蟻效果則稍弱於前二者，而山肉桂及陰香所需之劑量較高 (> 10 mg/g)，顯示它們的抗白蟻效果最弱。隨著試驗天數增加，各種精油之 LD<sub>50</sub> 值有逐漸下降之趨勢，試驗第 7 天已趨近穩定 (肉桂醛型土肉桂例外，第 1 天已趨近穩定)，因此，各精油於試驗第 14 天之 LD<sub>50</sub> 值與第 7 天並無明顯差別。錫蘭肉桂與肉桂醛型土肉桂精油於試驗第 7 天時之 LD<sub>50</sub> 值分別為 0.19 mg/g 與 1.83 mg/g，展現很強的抗白蟻活性。茵桂、胡氏肉桂、枷羅木醇型土肉桂及香桂於試驗第 7 天時之 LD<sub>50</sub> 值分別下降至 2.66 mg/g、3.61 mg/g、3.46 mg/g 及 3.30 mg/g，而山肉桂及陰香於試驗第 7 天時之 LD<sub>50</sub> 值分別大幅下降至 3.38 mg/g 及 3.54 mg/g，顯示山肉桂及陰香精油對白蟻之毒性較低，需要攝食較大量方可致死。由上述結果可知，8 種肉桂精油同樣都具有很好的抗白蟻活性，其中以錫蘭肉桂葉子精油最佳。

表 2.8 種樟屬肉桂節植物葉子精油對臺灣家白蟻之半數致死劑量 (mg/g)

Species	Day		
	1	7	14
陰香 (CB)	> 10	3.54 ± 0.04	3.54 ± 0.04
茵桂 (CC)	3.68 ± 0.03	2.66 ± 0.34	2.44 ± 0.39
山肉桂 (CI)	> 10	3.38 ± 0.09	3.25 ± 0.05
胡氏肉桂 (CM)	4.21 ± 0.18	3.61 ± 0.04	3.57 ± 0.06
肉桂醛型土肉桂 (CO-CIN)	1.86 ± 0.01	1.83 ± 0.00	1.83 ± 0.01
枷羅木醇型土肉桂 (CO-LL)	6.85 ± 0.29	3.46 ± 0.09	3.46 ± 0.09
香桂 (CS)	6.90 ± 0.04	3.30 ± 0.14	3.29 ± 0.12
錫蘭肉桂 (CZ)	0.37 ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.19 ± 0.00

### (III) 精油主成分之抗白蟻活性

為了解並比較 8 種肉桂葉子精油之抗白蟻活性成分，本研究根據葉子精油成分分析結果 (表 1)，挑選出 12 個葉子精油中含量較多的成分 ( $\alpha$ -Pinene、Camphene、*p*-Cymene、1,8-Cineol、Linalool、L-Borneol、Citral、Eugenol、Caryophyllene oxide、*trans*-Cinnamaldehyde、*trans*-Cinnamyl acetate 及  $\alpha$ -Terpineol) 進行抗白蟻試驗，試驗結果如圖 2 所示。Eugenol 之使用劑量為 1 或 0.5 mg/g，試驗第 1 天能殺死所有白蟻，而當劑量降為 0.25 mg/g 時，試驗第 7 天之白蟻致死率為 54%。前人研究結果指出 Eugenol 不僅抗臺灣家白蟻活性良好 (使用劑量 1 mg/g，試驗第 7 天及 14 天之白蟻致死率皆為 100%) (Chang and Cheng, 2002)，同時對於日本白蟻 (*Reticulitermes speratus* Kolbe) 亦具有毒殺活性 (Park and Shin, 2005)。本計畫之研究結果不僅與文獻結果相符，並更進一步發現其抗白蟻活性極強。*trans*-Cinnamaldehyde、*trans*-Cinnamyl acetate、Citral 及  $\alpha$ -Terpineol 使用劑量為 10 或 5 mg/g 時，試驗第 1 天之白蟻致死率皆為 100%；而 Linalool 使用劑量 10 mg/g 時亦具有相同效果，但當使用劑量為 5 mg/g，其抗白蟻活性不明顯 (致死率 < 10%)。前人研究結果曾提及四種化合物 (*trans*-Cinnamaldehyde、*trans*-Cinnamyl acetate、Citral 及  $\alpha$ -Terpineol) 具抗白蟻活性，雖然有些抗白蟻試驗方法與本計畫不同，但由其結果可知四種化合物對臺灣家白蟻具有毒性 (Chang and Cheng, 2002; Cheng *et al.*, 2012; Cornelius *et al.*, 1997)。Caryophyllene oxide 及 L-Borneol 使用劑量為 10 mg/g 時，試驗第 1 天時之白蟻致死率分別為 62% 及 56%，二者分別需要 2 及 4 天方可殺死所有白蟻。Cheng 等人 (2004) 之研究結果亦顯示 Caryophyllene oxide 具有抗白蟻活性。由於  $\alpha$ -Pinene、Camphene、*p*-Cymene 及 1,8-Cineol 對白蟻毒性極低 (使用劑量為 10 mg/g 時，試驗第 14 天時致死率 < 10%)，因此未顯示於圖 2。

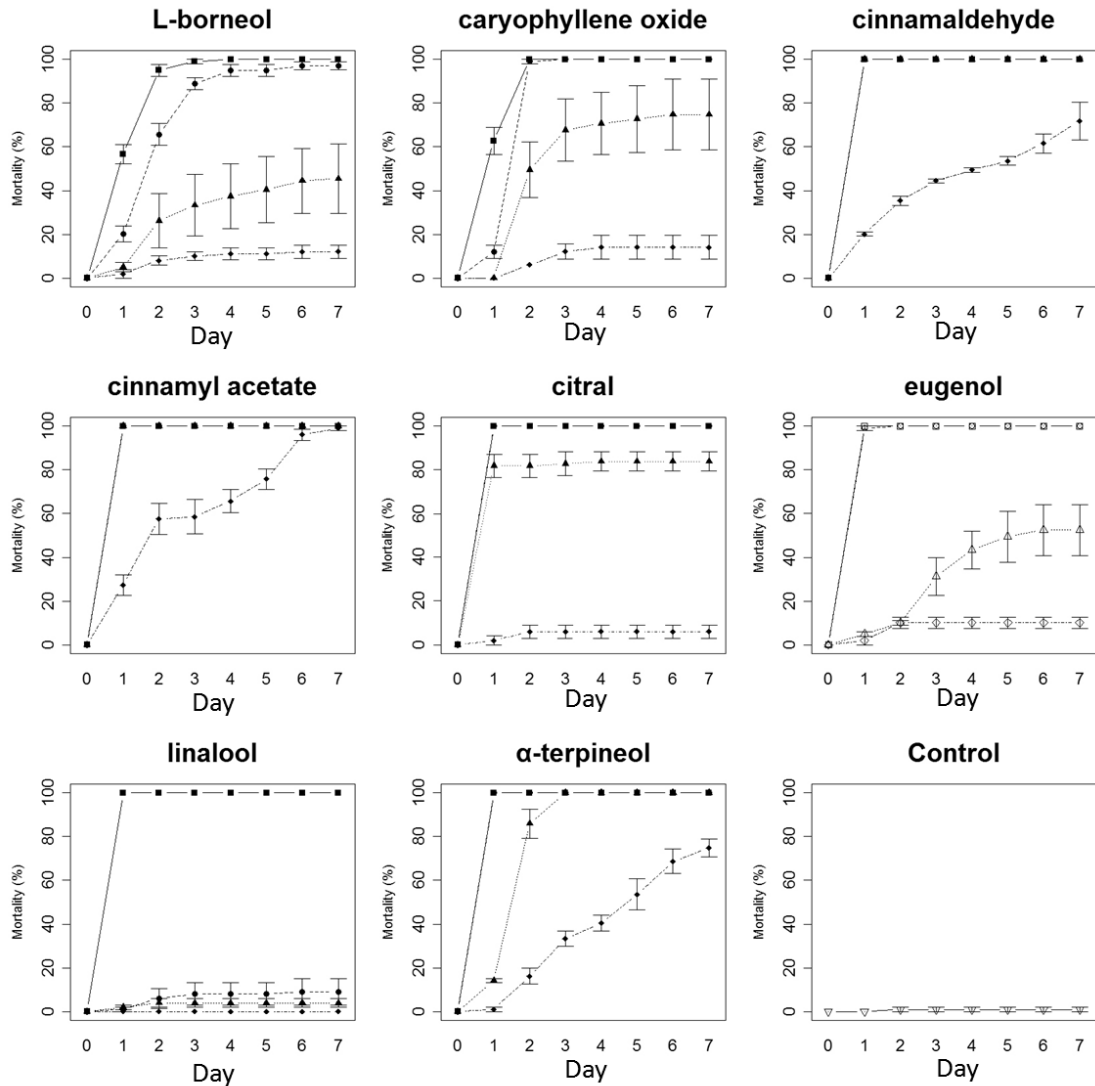


圖 2. 8 種肉桂植物葉子精油主要成分之抗白蟻活性 (實心正方形、圓形、三角形及菱形分別表示試驗劑量 10、5、2.5 與 1.25 mg/g ; Eugenol 所用之空心正方形、圓形、三角形及菱形分別表示試驗劑量 1、0.5、0.25 與 0.125 mg/g)。

為比較不同精油成分之抗白蟻活性，本研究進一步計算各種成分之  $LD_{50}$  值，結果如表 3 所示。Eugenol 之抗白蟻活性最強，其  $LD_{50}$  值於試驗第 1 天時為 0.37 mg/g，其次為 *trans*-Cinnamyl acetate、*trans*-Cinnamaldehyde、Citral 及  $\alpha$ -Terpineol，它們的  $LD_{50}$  值分別 1.63 mg/g、1.71 mg/g、2.00 mg/g 及 3.54 mg/g。Linalool、L-Borneol 及 Caryophyllene oxide 於試驗第 1 天時之  $LD_{50}$  值分別為 7.47

mg/g、9.21 mg/g 及 8.83 mg/g。其餘 4 種成分 ( $\alpha$ -Pinene、Camphene、*p*-Cymene 及 1,8-Cineol) 之 LD<sub>50</sub> 值於試驗第 1 - 14 天皆超過 10 mg/g。由此結果可知，精油中含有 Linalool、L-Borneol、Citral、Eugenol、Caryophyllene oxide、*trans*-Cinnamaldehyde、*trans*-Cinnamyl acetate 及  $\alpha$ -Terpineol 可能會具有抗白蟻活性。

錫蘭肉桂葉子精油與其主成分 Eugenol 之抗白蟻活性相似，且精油中含有大量的 Eugenol (97.81%)，由此可知，錫蘭肉桂精油之極強抗白蟻活性來源為其主成分 Eugenol。同樣地，肉桂醛型土肉桂與陰香葉子精油之主成分分別為 *trans*-Cinnamaldehyde (89.17%) 與 L-Borneol (81.73%)，而它們的精油與其主成分之抗白蟻活性亦相似，因此，可推知肉桂醛型土肉桂與陰香精油之抗白蟻活性成分分別為 *trans*-Cinnamaldehyde 與 L-Borneol。雖然枷羅木醇型土肉桂葉精油含有大量之 Linalool (97.04%)，然而精油及其主成分 Linalool 之抗白蟻活性卻有些不同，精油之 LD<sub>50</sub> 值於試驗第 1 天時略低於主成分，而試驗第 7 天時，精油及其主成分之 LD<sub>50</sub> 值分別為 3.46 mg/g 及 7.22 mg/g，顯示精油之抗白蟻活性較其主成分更強。由於枷羅木醇型土肉桂精油中所含有的次要成分少，因此較無可能與主成分 Linalool 產生交互作用而導致精油抗白蟻效果比主成分強。而根據本研究室最新研究結果顯示，枷羅木醇型土肉桂葉精油之主成分 Linalool 的絕對立體組態 (Absolute configuration) 皆為 *S*-form。由於本計畫中所用 Linalool 之絕對立體組態為 *S*-與 *R*-form 各佔一半，可能 *S*-form 之抗白蟻活性較 *R*-form 強，因此導致精油之活性較 Linalool 強，而純 *S*-與 *R*-form Linalool 之抗白蟻活性有待未來進一步研究證實，方可合理解釋枷羅木醇型土肉桂葉精油之抗白蟻活性。茵桂葉子精油主要由 *trans*-Cinnamyl acetate (49.24%) 與 *trans*-Cinnamaldehyde (28.99%) 所組成，考慮二種主成分在精油中之含量，它們的抗白蟻活性趨勢與精油相似，因此，可推測茵桂葉子精油之抗白蟻活性來源為 *trans*-Cinnamyl acetate 與 *trans*-Cinnamaldehyde。由於香桂、山肉桂及胡氏肉桂的主成分較為複雜 (表

1), 因此欲釐清其抗白蟻活性來源實屬不易, 目前僅可先將  $\alpha$ -Pinene、Camphene、*p*-Cymene 及 1,8-Cineol 此 4 種不具抗白蟻活性之成分排除, 因此, 香桂之抗白蟻活性可能由 Linalool (28.4%) 及 Caryophyllene oxide (8.81%) 所貢獻; 山肉桂可能由 Caryophyllene oxide (17.19%) 及 Linalool (10.57%) 所貢獻; 胡氏肉桂可能由 Linalool (25.39%)、*E*-Citral (9.14%) 及 *Z*-Citral (6.59%) 所貢獻。然而, 這三種肉桂葉子精油都含有 Linalool, 由於 Linalool 之絕對立體組態比例可能各不相同, 因此欲解釋三種葉子精油之抗白蟻活性, 仍有待未來更多研究加以證實釐清。

表 3. 樟屬肉桂節植物葉子精油主要成分對臺灣家白蟻之半數致死劑量 (mg/g)

Compound	Day		
	1	7	14
$\alpha$ -Pinene	> 10	> 10	> 10
Camphene	> 10	> 10	> 10
<i>p</i> -Cymene	> 10	> 10	> 10
1,8-Cineol	> 10	> 10	> 10
Linalool	7.47 $\pm$ 0.03	7.22 $\pm$ 0.20	7.22 $\pm$ 0.20
L-Borneol	9.21 $\pm$ 0.42	2.70 $\pm$ 0.41	2.66 $\pm$ 0.41
Citral	2.00 $\pm$ 0.05	1.95 $\pm$ 0.05	1.92 $\pm$ 0.06
Eugenol	0.37 $\pm$ 0.01	0.26 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.03
Caryophyllene oxide	8.83 $\pm$ 0.55	2.15 $\pm$ 0.34	2.15 $\pm$ 0.34
<i>trans</i> -Cinnamaldehyde	1.71 $\pm$ 0.01	< 1.25	< 1.25
<i>trans</i> -Cinnamyl acetate	1.63 $\pm$ 0.05	< 1.25	< 1.25
$\alpha$ -Terpineol	3.54 $\pm$ 0.02	< 1.25	< 1.25

## VI、結論

本計畫評估 8 種樟屬肉桂節植物（茵桂、肉桂醛型土肉桂與枷羅木醇型土肉桂、錫蘭肉桂、山肉桂、胡氏肉桂、香桂及陰香）葉子精油之抗白蟻活性，並配合精油化學組成分分析，期能了解精油中之抗白蟻活性成分。研究結果顯示 8 種肉桂葉子精油都具有抗白蟻活性，其中以錫蘭肉桂葉子精油之抗白蟻活性最強，肉桂醛型土肉桂次之。由精油成分分析結果得知，錫蘭肉桂、肉桂醛型土肉桂及枷羅木醇型土肉桂之主成分分別為 Eugenol、*trans*-Cinnamaldehyde 及 Linalool；陰香主成分為 L-Borneol 與 L-Bornyl acetate；茵桂主成分為 *trans*-Cinnamyl acetate 與 *trans*-Cinnamaldehyde；香桂主成分為 Linalool、*p*-Cymene 及 1,8-Cineol；山肉桂主成分為  $\alpha$ -Pinene、Caryophyllene oxide 及 L-Bornyl acetate；胡氏肉桂主成分為 1,8-Cineol、Linalool 及 *E*-Citral。根據精油成分挑出 12 個主要成分進行抗白蟻試驗，結果顯示除  $\alpha$ -Pinene、Camphene、*p*-Cymene 及 1,8-Cineol 不具抗白蟻活性，其餘 8 種成分（Linalool、L-Borneol、Citral、Eugenol、Caryophyllene oxide、*trans*-Cinnamaldehyde、*trans*-Cinnamyl acetate 及  $\alpha$ -Terpineol）皆具有抗白蟻活性，其中以 Eugenol 之抗白蟻活性最強，其次為 *trans*-Cinnamyl acetate 及 *trans*-Cinnamaldehyde。綜合上述，本計畫結果證實茵桂、肉桂醛型土肉桂、錫蘭肉桂及陰香之抗白蟻活性係來自其主成分；而枷羅木醇型土肉桂、山肉桂、胡氏肉桂及香桂則有待未來更進一步研究加以釐清。此外，錫蘭肉桂與肉桂醛型土肉桂因具有最佳的抗白蟻活性，除了較具應用及開發可能性外，未來應可進一步嘗試二者精油或主成分混合使用，尋找理想混合比例以產生協同效果，不僅可能有更佳之抗白蟻活性，同時亦可降低二者精油或主成分之使用量。

## VII、致謝

承蒙行政院農業委員會林務局提供研究經費（101-00-5-15）及環聯除蟲公司提供試驗白蟻，使本計畫得以順利進行，特此感謝。



## VIII、參考文獻

- Adams, R. P. (2007) *In* Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, 4th ed.; Adams, R. P., Ed.; Allured Publishing Corp.: Carol Stream, IL, 804 pp.
- Chang, S. T. and S. S. Cheng (2002) Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1389–1392.
- Cheng, S. S., C. L. Wu, H. T. Chang, Y. T. Kao and S. T. Chang (2004) Antitermitic and antifungal activities of essential oil of *Calocedrus formosana* leaf and its composition. *J. Chem. Ecol.* 30: 1957–1967.
- Cheng, S. S., H. T. Chang, C. L. Wu and S. T. Chang (2007) Anti-termite activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. *Bioresour. Technol.* 98(2): 456–459.
- Cheng, S. S., C. Y. Lin, M. J. Chung and S. T. Chang (2012) Chemical composition and antitermitic activity against *Coptotermes formosanus* Shiraki of *Cryptomeria japonica* leaf essential oil. *Chem. Biodivers.* 9: 352–358.
- Cornelius, M. L., J. K. Grace and J. R. Yates (1997) Toxicity of monoterpenoids and other natural products to the Formosan subterranean termite. *Ecotoxicology* 90: 320–325.
- Edwards, R. and A. E. Mill (1986) *Termites in Buildings - Their Biology and Control*. The Rentokil Library Ltd. East Grinstead, UK., 261 pp.
- Osbrink, W. L. A., M. L. Cornelius and A. R. Lax (2008) Effects of flooding on field populations of Formosan subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in New Orleans, Louisiana. *J. Econ. Entomol.* 101(4): 1367–1372.
- Park, I. K. and S. C. Shin (2005) Fumigant activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and clove bud (*Eugenia caryophyllata*)

oils against the Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). J. Agric. Food Chem. 53: 7623–7628.

Verma, M., S. Sharma and R. Prasad (2009) Biological alternatives for termite control: A review. Int. Biodeterior. Biodegrad. 63(8): 959–972.

## 一、期中報告審查意見回覆表

劉委員 審查意見	回覆
第 4 頁，(V) 抗白蟻試驗中「稀釋至所需濃度」為何？滴多少量於濾紙？	所需之濃度分別為 12.16 及 6.08 mg/mL，並取 600 $\mu$ L 溶液滴於濾紙。(均已修改於文中)
第 7 頁，表 1 (續) 是否改成表 2？	已將表 1 重新編排成一頁。
第 9 頁，「mg/g」宜說明清楚。	已照委員之建議在 (VI) 抗白蟻試驗中詳細說明。
第 8 頁，「枷羅木醇型土肉桂、胡氏肉桂及香桂葉子精油...，而試驗 2 天後白蟻之死亡率皆超過 90%，並於第 7 天死亡率達到 100%。」述敘宜修正。	已照委員之建議修改為「...而試驗 2 天後白蟻之死亡率皆為 100% (胡氏肉桂除外)，胡氏肉桂於第 7 天死亡率達到 100%」。

李委員 審查意見	回覆
第 2 頁，土肉桂樣本編號與第 4 頁結果與討論中之代號不一致？是否統一？	土肉桂樣本編號均有記錄試材基本資料，為避免後續資料混亂，樣本編號不作更改。為避免讀者困擾，已在結果與討論土肉桂代號後附註其樣本編號。
第 2 頁，為何需同時使用氣相層析儀及氣相層析質譜儀？	氣相層析質譜儀係用於化合物鑑定，續利用氣相層析儀分析各化合物之相對含量。
第 4 頁，(V) 抗白蟻試驗中「33 隻白蟻」應註明工蟻及兵蟻數量。	已照委員之建議註明於文中。

## 二、期末報告審查意見回覆表

黃委員 審查意見	回覆
1. 符合期末審查標準。	感謝委員意見。
2. page 3, 倒數第 3 引用文獻"Adams, 2007"參考文獻沒有此篇, 建議補列。	已照委員建議補列。
3. page 4, 第 8 行白蟻飼養, 溫濕度 27°C 及 70%, 但同頁倒數第 2 行之生長箱環境則為溫度 27°C, 溫度 80%? 請教為何不同?	為避免 14 天試驗中濾紙乾掉而影響白蟻活性, 因此將其置於較濕的環境中。此外, 白蟻生長適宜之溫度為 70-90%, 故此二種濕度不影響白蟻之活性。
4. page 5, (I)精油成分分析鑑定之說明, 某些樹種括弧()附註樣本編號, 有些則無, 建議補齊。	已照委員建議補齊。
5. page 7 之表為表 1 之延續, 建議說明表中"other"數據如何算出?	已照委員建議修正, 並將表 1 重新編排成一頁。數據之計算已於會議中說明。
6. page 11, 倒數第 6 行"Cheng <i>et al.</i> , 2012b", 參考文獻沒有此篇, 建請查明修正。	已照委員建議修正。
7. 本研究計畫成果發現錫蘭肉桂、肉桂醛型土肉桂及伽羅木醇土肉桂葉子精油主成分分別高達 97.81%, 89.17% 及 97.04%, 且抗台灣家白蟻活性極佳, 非常有應用價值, 建議進一步評估木塊的抗白蟻性能及藥劑的耐久性...等性質, 使研究成果能夠商業化。	感謝委員建議, 未來若有機會及經費, 將會再進一步評估其木塊耐白蟻等相關試驗。

李委員 審查意見	回覆
1. 建議增加研究成果摘要。	已照委員建議補上摘要。
2. p.1, 前言提及樟屬肉桂節, 倒數第 3 行及 p.2 又以肉桂屬植物稱之, 建議統一採用樟屬	已照委員之建議, 全文統一以肉桂節植物稱之。
3. p.3, (IV) 1、2 分別使用氬氣及 He, 建議統一; 1. 氣相層析儀建議增補英文名, 以配合 2. 氣相層析質譜儀。	已照委員建議修正。
4. (VI) 抗白蟻試驗, L.1 「化合物」建議修正為「化合物標準品」, 較明確	已照委員建議修正。

5.表 1，8 種肉桂以代號表示，建議於表尾加註各代號所代表植物名。	已照委員建議修正。
6.圖中標註符號●及◆不易清楚辨認，建議適當放大。	放大會導致符號與標準偏差符號混合，我們也試過一些方法包括彩色曲線，但是由於各組別之數據幾乎都重疊，即各種方法均無法使其容易辨識，因此暫不做調整。
7. p.13，Linalool 可能因 S-或 R-form 立體組態而影響其抗白蟻性，是否已有更進一步確認。	目前尚未確認，S-及 R-form 之 Linalool 需要分離、純化，本計畫原內容並未規劃進行此部份之試驗，故此部份有待未來後續研究計畫確認。
8.參考文獻 5、6 請再確認。	已照委員建議確認及修改。

劉委員 審查意見	回覆
1. 本報告為期末報告，文中缺少「摘要」一項，請予增補。	已照委員建議補上摘要。
2. 第 2 頁(I)本試驗採用 8 種肉桂屬植物葉子，但在同頁(III)又稱 8 種樟屬植物葉子，建議宜統一使用。	已照委員之建議，全文統一以肉桂節植物稱之。
3. 第 2 頁(II)化合物及第 4 頁(VI)抗白蟻試驗第 1 行化合物，均建議改為化合物標準品較妥。	已照委員建議修正。
4. 建議將圖 1 及圖 2 略為放大，俾使圖中之各種符號較易辨識。	放大會導致符號與標準偏差符號混合，我們也試過一些方法包括彩色曲線，但是由於各組別之數據幾乎都重疊，即各種方法均無法使其容易辨識，因此暫不做調整。
5. 第 10 頁倒數第 4 行，山肉桂及陰香於試驗第 7 天時之 LD <sub>50</sub> 值，依表 2 所示應分別為 3.38 mg/g 及 3.54 mg/g。	已照委員建議修正。
6. 第 12 頁最後一行，L-Borneol 及 Caryophyllene oxide 於試驗第 1 天時之 LD <sub>50</sub> 值，依表 3 所示應為 9.21 及 8.83 mg/g。	已照委員建議修正。

造林生產組 審查意見	回覆
1. 表 1、表 2、圖 1、圖 2 標題中數字 8 與前揭編號過於接近，易造成混淆，請修正。	已依照貴組意見修正。
2. 請於成果報告中添加中文摘要及期中、期末審查委員意見對照表。	將依照貴組意見辦理。
3. 本計畫萃取肉桂類成分對抗白蟻已有成效，能否與環聯除蟲公司等廠商進行產學合作，進行商品開發。	會與廠商聯繫，未來若有廠商願意配合產學合作，且有相關經費支援，非常樂意更進一步研發成商品。