

精油裡的秘密— 鑑定扁柏屬植物之親緣關係

文/圖 陳盈如 ■ 行政院農委會林業試驗所研究助理
林群雅 ■ 國立台灣大學森林環境暨資源學系
鄭森松 ■ 國立台灣大學實驗林管理處副研究員
張上鎮 ■ 國立台灣大學森林環境暨資源學系特聘教授(通訊作者)

扁柏屬植物之分布

「歲寒，然後知松柏之後凋也。」出自《論語·子罕》，意旨松柏長青，象徵永恆與不朽。其中廣義的「柏」可泛指柏科植物，例如柏科(Cupressaceae)扁柏屬(*Chamaecyparis*)的檜木植物。檜木因形態優美，常被做為高價之景觀園藝樹種。台灣特有的台灣扁柏(*Chamaecyparis obtusa* var. *formosana*)與紅檜(*Chamaecyparis formosensis*)合稱檜木，兩者之親緣關係相當緊密，均屬於柏木科扁柏屬，此屬植物在全世界共有5種與1變種，除台灣2種之外，日本及北美地區各有2種。分布於日本的檜木有日本扁柏(*Chamaecyparis obtusa*)及日本花柏(*Chamaecyparis pisifera*)；分布於北美的檜木則有北美西部的羅生扁柏(*Chamaecyparis lawsoniana*)以及北美東部的側葉扁柏

(*Chamaecyparis thyoides*)。而原歸屬於扁柏屬的拿加遜扁柏(*Chamaecyparis nootkatensis*，又名阿拉斯加黃杉)，因其在形態學與遺傳學的證據上均與扁柏屬植物相差甚遠，Gadek 等人於2000年的報告指出，拿加遜扁柏應自扁柏屬(*Chamaecyparis*)除名(Gadek *et al.*, 2000)，隨後Little 等人於2004年將其納入*Callitropsis*屬(Little *et al.*, 2004)。

台灣檜木的特性

檜木喜歡生長於氣候涼爽及潮濕的環境，以月平均溫8-14℃、年雨量2,500-4,500 mm、年平均濕度80%以上最適宜，而年雨量低於2,500 mm或乾季明顯之地區均會限制檜木的生長。同時具備此三種條件的地區，才是真正屬於檜木所適宜生長的「涼爽、潮濕、多雨」典型氣候(徐國士，2002)。全世界只有北美洲的東

海岸、西海岸、日本及台灣有檜木的生長，而台灣是檜木生長的最南界，也是唯一有檜木生長的亞熱帶地區。目前在台灣發現的扁柏屬植物包括台灣原生的紅檜、台灣扁柏及原生於日本的日本扁柏三種。

紅檜與台灣扁柏同為台灣伐木時期貴重且最受歡迎的木材，具有極高的經濟價值，並與台灣杉(*Taiwania cryptomerioides*)、台灣肖楠(*Calocedrus macrolepis* var. *formosana*)、香杉(*Cunninghamia konishii*)等並列為台灣針五木(Wang *et al.*, 2006)。紅檜樹皮裂溝較淺，剝片較薄，故常稱之為「薄皮仔」，其樹皮、木材之精油具有抗蟲、抗真菌等生物活性(Kuo *et al.*, 2007, Wang *et al.*, 2005)。相較於紅檜，台灣扁柏之樹皮較厚，裂溝較深，故常稱之為「厚殼仔」，台灣扁柏木材因具芳香及辛辣味，木理通直均勻，木肌細緻富光澤而廣受歡迎，研究證實其樹皮抽出成分具有極佳的抗氧化活性(Wu *et al.*, 2008)。日本扁柏主要分布於日本海拔80-2,500 m的地區，是日本最普遍的景觀、建築與造紙樹種之一，其木材之揮發性物質具有抗菌與抗蟲活性(Kondo and Imamura 1986; Miyazaki *et al.*, 1989)，市場上將其製作成檜木薄片鑲嵌於榻榻米(Matsui *et al.*, 2007)。

這些形態優美的珍貴樹種，除木材具極高經濟價值外，其二次代謝產物亦具有相當良好之生物活性，然而這些檜木形態都非常相近，因此常被混淆。筆者將這三種扁柏屬植物形態特徵之差異整理如表1所示；同時也利用精油化學分類法探討本屬植物葉子精油成分之差異，期望找出各種植物之指標成分，建立快速準確區分種類的方法。

表1 紅檜、台灣扁柏與日本扁柏形態特徵之比較

樹種/特徵	紅檜	台灣扁柏	日本扁柏
葉	<ul style="list-style-type: none"> ●鱗片狀，先端銳形至漸尖，逆撫有刺手感，背無白臘，冬天紅褐 ●側葉覆蓋中葉近對生，斷面V形 	<ul style="list-style-type: none"> ●鱗片狀，先端鈍形，不刺手，背有明顯白臘，終年翠綠 ●側葉覆蓋中葉且對生，斷面鈍三角形 	<ul style="list-style-type: none"> ●鱗葉肥厚，先端鈍 ●生鱗葉的小枝背面有白線或微被白粉
毬果	●長橢圓狀卵形	●球形	●近圓形
樹皮	<ul style="list-style-type: none"> ●幹皮灰紅色至紅褐色 ●樹皮薄，縱向裂溝淺 	<ul style="list-style-type: none"> ●幹皮灰紅色 ●樹皮厚，縱向裂溝深 	<ul style="list-style-type: none"> ●幹皮紅褐色，裂成薄片

紅檜、台灣扁柏與日本扁柏葉子精油成分之差異

我們蒐集了台灣北、中、南地區之紅檜(6個地區)、台灣扁柏(6個地區)與日本扁柏(2個地區)的葉子，利用水蒸餾法萃取葉子精油，然後以氣相層析質譜儀(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)進行成分分析與鑑定，其結果如表2所示。依精油組成分來看，紅檜、台灣扁柏與日本扁柏葉子精油主要以萜類化合物(Terpenoids)為主，萜類化合物是由異戊二烯(Isoprene)為構成單元而組成之化合物，為精油中的主要成分，亦是構成森林中芬多精(Phytoncides)的主要物質，這些成分不但使森林中的空氣甜美清爽，更有殺菌、殺蟲、鎮靜神經、提神及醫療等功效(張上鎮，2003)。許多研究證實萜類化合物是植物抽出物、中草藥的有效成分，同時也是重要的天然香料，為化妝品與食品工業不可或缺的原料。在植物生態學上，它們具有植物殺菌劑、驅蟲劑、授粉作用引誘劑之功用；在防禦用途上，可抵禦食草動物之攻擊；萜類化合物亦可作為植物和動物、植物和植物、植物和微生物間之植物荷爾蒙與

分子訊號。由化學結構來看，分子中具有異戊二烯五個碳的基本單元，即分子式符合通式(C₅H₈)_n的化合物均稱為萜類化合物，根據異戊二烯的個數又可區分為：單類(Monoterpenoid，2個異戊二烯所組成，碳的個數為10)、倍半萜類(Sesquiterpenoid，3個異戊二烯所組成，碳的個數為15)、二萜類(Diterpenoid，4個異戊二烯所組成，碳的個數為20)等。其中，單萜類及倍半萜類通常具有高揮發性及特殊香味。

紅檜葉子精油主要可分成單萜類碳氫化合物(Monoterpene hydrocarbons)、單萜類含氧化合物(Oxygenated monoterpenes)、倍半萜類碳氫化合物(Sesquiterpene hydrocarbons)、倍半萜類含氧化合物(Oxygenated sesquiterpenes)及其他類化合物等，以單萜類碳氫化合物含量最高(87.07%-93.67%)，其精油組成分含量高低依序

為α-Pinene(73% - 85.97%)、β-Pinene(2.67%-3.32%)、β-Myrcene(2.52%-3.65%)及δ-3-Carene(0.00%-6.70%)。許多研究結果同樣證實，α-Pinene為紅檜葉子精油中的主要成分，其他萜類化合物包括Camphene、Dipentene、Cineol、α-Terpinene、β-Terpinene、Borneol、Bornyl acetate、Bornyl formate、Humulene、Cadinene及γ-Murolene等(Kafuka and Ichikawa, 1931; Fang *et al.*, 1986; Su *et al.*, 2006)。

過去幾乎沒有不同地區台灣扁柏葉子精油成分比較之文獻，而由我們的試驗結果發現，台灣扁柏葉子精油組成分之含量依地理位置不同而有差異(表2)：棲蘭山、台中與竹東地區之台灣扁柏葉子精油成分以倍半萜類含氧化合物含量最高(42.85%-55.21%)；阿里山地區之台灣

表2 不同來源之紅檜、台灣扁柏與日本扁柏葉子精油成分

aKI	Compound	<i>C. formosensis</i>	<i>C. obtusa</i> var. <i>formosana</i>						<i>C. obtusa</i>
			棲蘭山	阿里山	嘉義	台中	竹東	太麻里	
938	α-Pinene	73.00 - 85.97	0.51	1.41	1.09	0.31	0.78	0.86	2.08 - 2.17
977	Sabinene	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	8.00 - 11.57
977	β-Pinene	2.67 - 3.32	4.53	7.72	9.17	2.49	4.90	8.78	0.22 - 0.31
991	β-Myrcene	2.52 - 3.65	1.91	1.89	1.41	0.57	3.21	2.06	2.93 - 3.79
1022	α-Terpinene	0.00 - 0.02	2.27	2.04	4.48	1.21	1.81	3.06	2.38 - 3.37
1035	Limonene	0.47 - 1.48	0.38	0.79	1.16	0.58	0.83	0.09	8.60 - 8.18
1064	γ-Terpinene	0.00 - 0.09	3.30	3.14	6.37	2.12	3.09	4.72	6.45 - 7.45
1183	(-)-Terpinen-4-ol	0.00 - 0.27	4.83	4.40	9.30	4.55	5.17	2.84	5.28 - 7.86
1284	L-Bornyl acetate	0.09 - 0.48	0.18	0.42	0.21	0.17	0.27	0.29	9.58 - 9.81
1344	α-Terpinyl acetate	0.05 - 0.36	0.02	0.09	0.00	0.03	0.07	0.00	16.83 - 17.32
1433	(-)-Thujopsene	0.00 - 0.27	16.40	34.84	18.43	19.79	8.72	21.46	0.91 - 1.80
1498	β-Himachalene	-	4.21	5.59	3.32	3.15	1.74	4.62	0.00 - 0.74
1543	β-Elemol	-	3.51	4.83	11.58	8.18	24.33	8.67	7.03 - 7.95
1597	Guaiol	-	9.50	9.10	4.92	10.65	5.96	10.49	-
1631	γ-Eudesmol	-	1.21	1.73	4.87	6.98	10.06	3.36	2.36 - 2.69
1656	α-Cadinol	-	2.70	2.38	6.15	10.12	12.78	0.21	-
1700	cis-Thujopsenal	-	25.12	3.64	0.00	10.75	1.29	6.07	-
Monoterpene hydrocarbons (%)		87.07 - 93.67	14.98	18.86	25.14	7.91	15.67	23.18	34.61 - 41.32
Oxygenated monoterpenes (%)		0.25 - 2.53	5.52	4.96	9.65	4.85	7.18	6.83	33.56 - 35.57
Sesquiterpene hydrocarbons (%)		0.66 - 3.55	24.14	46.34	25.43	26.21	12.58	32.05	1.28 - 2.55
Oxygenated sesquiterpenes (%)		0.00 - 0.38	42.85	21.93	27.90	47.43	55.21	32.88	11.43 - 11.61
Diterpene hydrocarbons (%)		0.97 - 3.75	4.97	3.31	3.66	6.65	2.69	4.86	0.35 - 1.21
Others (%)		1.02 - 2.62	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19	-

^aKI, Kovats index relative to C₈-C₂₃ n-alkanes on the DB-5ms column

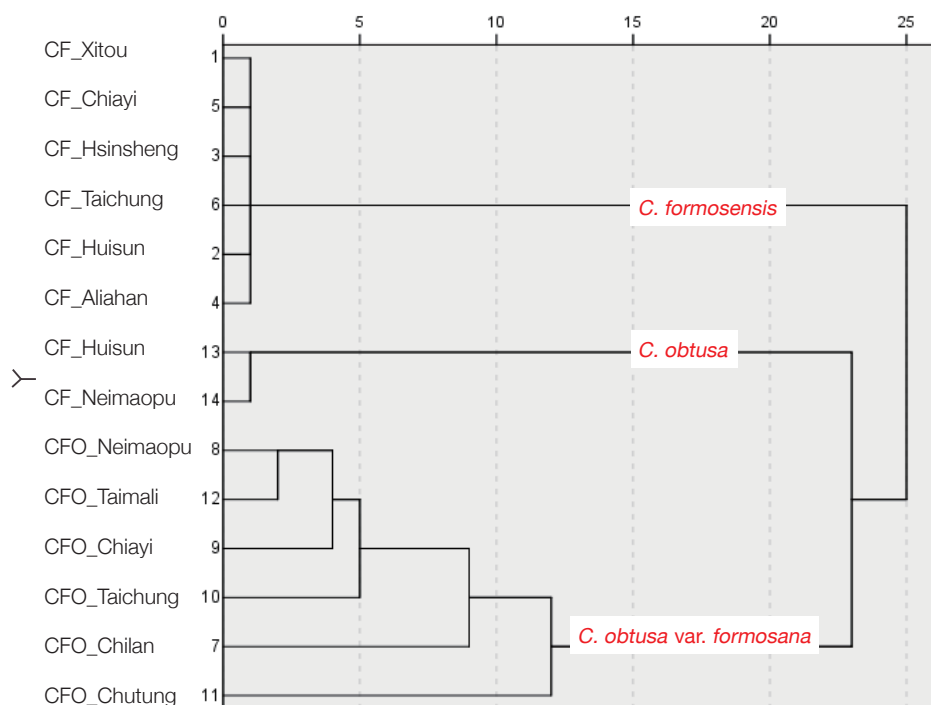


圖1 不同地理來源之紅檜、台灣扁柏與日本扁柏葉子精油成分經主成分分析統計結果

扁柏葉子精油成分以倍半萜類碳氫化合物含量最高(46.34%)；嘉義與太麻里地區之台灣扁柏葉子精油成分則主要由單萜類碳氫化合物(25.14%，23.18%)、倍半萜類碳氫化合物(25.43%，32.05%)及倍半萜類含氧化合物(27.90%，32.88%)三種萜類化合物所組成。我們利用群團分析方法(Cluster-analysis)，依精油組成分之差異將其分成三種化學型態：β-Elemol型、(-)-Thujopsene型及cis-Thujopsenal型。β-Elemol型以竹東地區的台灣扁柏為代表，精油成分以β-Elemol(24.33%)含量最高，其次為α-Cadinol(12.78%)與γ-Eudesmol(10.06%)；(-)-Thujopsene型包括阿里山、太麻里、台中以及嘉義等地區之台灣扁柏，主要精油成分以(-)-Thujopsene(34.84%，

21.46%，19.79%，18.43%)為代表，其他成分包括β-Elemol(4.83%，8.67%，8.18%，11.58%)、cis-Thujopsenal(3.64%，6.07%，10.75%，0.00%)、Guaiol(9.10%，10.49%，10.65%，4.92%)、α-Cadinol(2.38%，0.21%，10.12%，6.15%)；cis-Thujopsenal型以棲蘭山地區的台灣扁柏為代表，cis-Thujopsenal含量達25.12%為其主要成分，而(-)-Thujopsene(16.40%)為其次要成分。整體而言，台灣扁柏葉子精油成分以cis-Thujopsenal、(-)-Thujopsene及β-Elemol三種化合物最具代表性。

在日本扁柏葉子精油成分方面(表2)，單萜類碳氫化合物(34.61%-41.32%)與單萜類含氧化合物(Oxygenated monoterpenes)為其主要組成

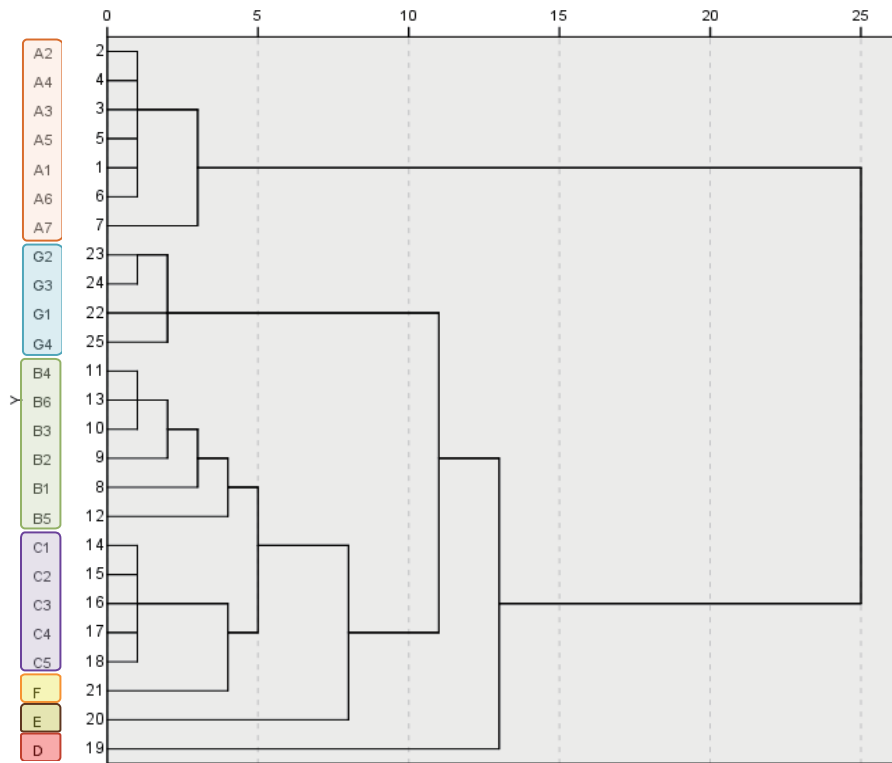


圖2 世界6種扁柏屬植物與拿加遜扁柏葉子精油成分精主成分分析統計結果

A: *C. formosensis* B: *C. obtusa* var. *formosana* C: *C. obtusa* D: *C. thyioides* E: *C. pisifera*
F: *C. lawsoniana* G: *C. nootkatensis*

結構，其中以 α -Terpinyl acetate 含量最高，惠蔭林場與內茅埔地區日本扁柏 α -Terpinyl acetate 之含量分別為 16.83% 及 17.32%，其他微量成分包括 Sabinene (8.00%-11.57%)、L-Bornyl acetate (9.58%-9.81%)、Limonene (8.18%-8.60%)、(-)-Terpinen-4-ol (5.28%-7.86%) 及 γ -Terpinene (6.45%-7.45%) 等。比較前人在 2003-2007 年間探討日本扁柏葉子精油成分的結果，同樣以 α -Terpinyl acetate 含量最高 (7.60% - 13.77%)，其次為 Sabinene (10.97% - 13.62%)、Limonene (6.89% - 13.40%) 與 Bornyl acetate (8.80%-10.88%) 等 (Park *et al.*, 2003;

Hong *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2007)。與過去的相關研究結果比較，我們發現日本扁柏葉子精油成分，除各化合物相對含量稍有不同外，大致呈現相同的趨勢。

精油成分分類鑑定扁柏屬植物之親源關係

一般來說，鑑定植物親源關係的方法相當多，如傳統根據外部形態特徵 (Schulz and Stützel, 2007; Gadek *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 1999) 或利用分子標記技術 (Gadek *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2003) 等。為了確認化學分類法在扁柏屬植物分類鑑定的可行性，

除了蒐集台灣北、中、南地區之3種扁柏屬植物葉子外，亦取得美國紐約植物園(New York Botanical Garden)所提供的側葉扁柏葉子，利用水蒸餾法萃取葉子精油，並以氣相層析質譜儀進行成分分析與鑑定，另2種無法取得之試材(羅生扁柏、日本花柏)及已納入*Callitropsis*屬之拿加遜扁柏，則根據文獻之精油成分進行比較。研究結果發現，台灣所生長之紅檜、台灣扁柏以及日本扁柏的葉子精油具有明顯的差異，分別以 α -Pinene、(-)-Thujopsene以及 α -Terpinyl acetate為其代表性的化合物。其中，台灣扁柏與日本扁柏葉子中常見的 β -Elemol、(-)-Terpinen-4-ol與 γ -Terpinene等成分，在紅檜葉子精油中幾乎未出現；由此可知，在精油組成成分上，台灣扁柏及日本扁柏較為相近。進一步以統計方法之群團分析比較親源相似度，結果如圖1所示，不同來源地之試材分別依精油組成成分之相似度形成紅檜、台灣扁柏與日本扁柏3個族群；台灣扁柏與日本扁柏之相似度為30%，而紅檜與前二者之相似度僅9%。過去相關的分子親源關係研究結果曾指出，台灣紅檜在親緣關係上與日本花柏形成單系群(Monophyly)，而台灣扁柏則與日本扁柏形成單系群(Wang *et al.*, 2003)，即紅檜與日本花柏、台灣扁柏與日本扁柏分別為近緣種，而由化學分類之結果也呼應了此一論述。

為了更進一步利用精油成分差異確認扁柏屬植物間之親源關係，我們繼續利用群團分析，依本屬植物葉子精油成分之組成與含量差異進行相似度的分析與種間區別。根據群團分析結果(圖2)，7樹種可依其精油成分差異而有明顯區隔，但因羅生扁柏、北美側柏與日本扁柏

均只有單一樣本，不具代表性，因此在未來的試驗中將再補充較完整的樣本數，以釐清其親源關係，並驗證化學分類法之可行性。整體而言，精油化學分類法大致與傳統的形態學分類、分子親源關係鑑定結果相同，故葉子精油成分分類法應可作為扁柏屬植物種類鑑別之依據。

紅檜、台灣扁柏與日本扁柏葉子精油指標成分之生合成途徑

綜合上述證實， α -Pinene、 α -Terpinyl acetate、(-)-Thujopsene及 β -Elemol分別為紅檜、日本扁柏、台灣扁柏之指標化合物，這些主要成分之生合成途徑如圖3所示。 α -Pinene與 α -Terpinyl acetate、(-)-Thujopsene及 β -Elemol



紅檜

分別源自於不同的生成途徑，台灣扁柏之 β -Elemol 來自於 (2E, 6E) Farnesyl pyrophosphate 經環化反應產生 Germacrane skeleton 而形成 (Hnawia *et al.*, 2009; Minnaard *et al.*, 1997; De Kraker *et al.*, 1998; Andersen

1970)；而 (-)-Thujopsene 則是經 Nerolidyl pyrophosphate 衍生而生成。

另一方面，分別代表紅檜與日本扁柏主要化合物的 α -Pinene 與 α -Terpinyl acetate，則是經由 MEP (Methyl-erythritol 4-phosphate) 生成成

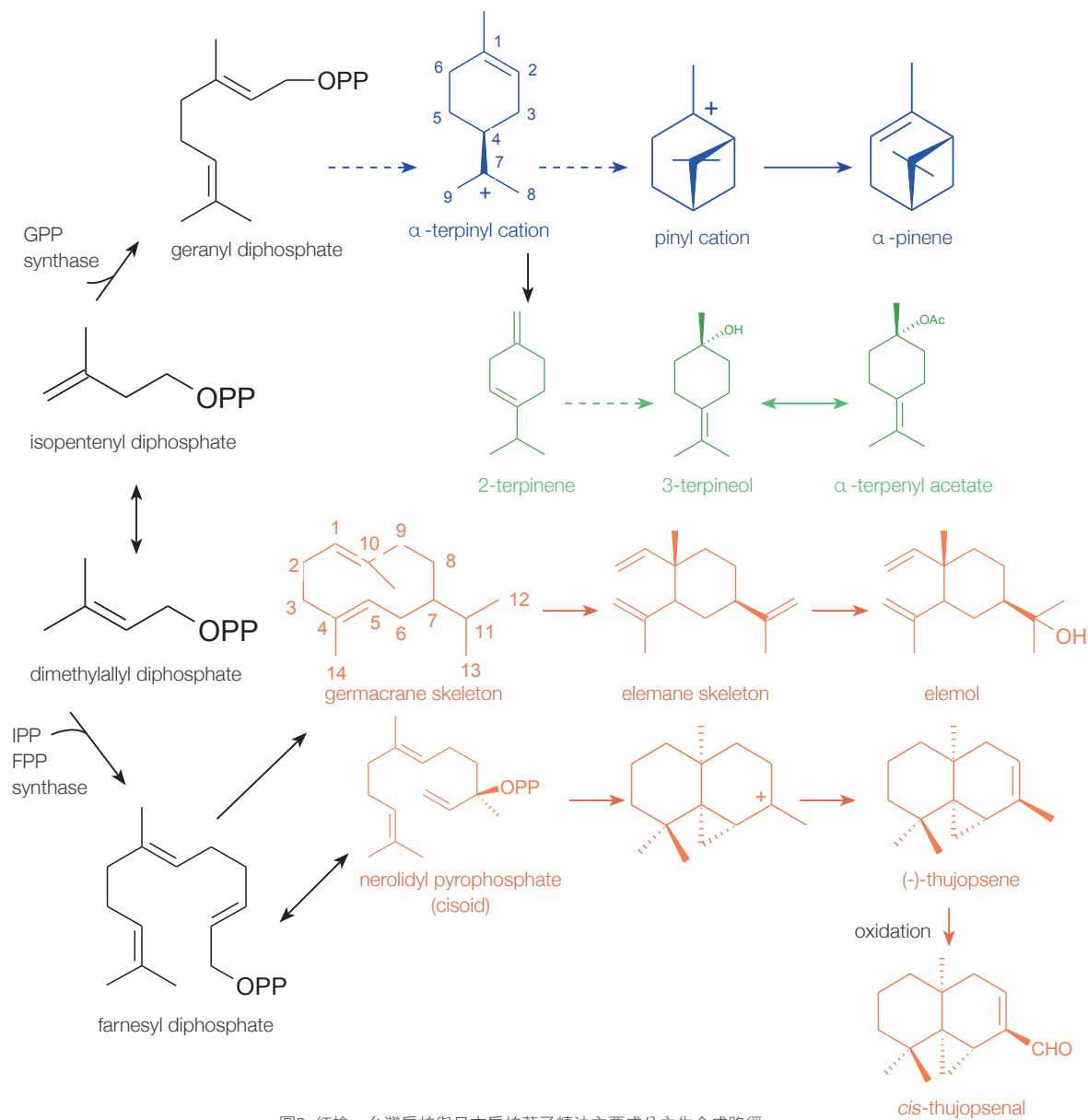


圖3 紅檜、台灣扁柏與日本扁柏葉子精油主要成分之生成路徑



日本扁柏

途徑形成。GPP(Geranyl diphosphate)受到萜類合成酶催化後轉換成LPP(Linalyl diphosphate)再形成Linalyl cation，接著產生環化反應而形成此二化合物的共同前驅物- α -Terpinyl cation，接著，分為兩條不同之生合成途徑，其一進行2,8-Closure，再產生去質子化反應後形成 α -Pinene；另一途徑， α -Terpinyl cation先轉換成2-Terpene後再形成 α -Terpinyl acetate。整體而言， α -Pinene、(-)-Thujopsene與 α -Terpinyl acetate分別在不同植物中具有重要的防禦功能(Phytoalexins)，然而，這些化學成分在植物生長過程中所扮演的角色至今仍未清楚，非常值得我們繼續探索，以釐清這三種化學成分的生合成與扁柏屬植物的分化、演化及生態是否具有關聯性。可以確認的是，根據我們的試驗結果， α -Pinene、(-)-Thujopsene與 α -Terpinyl



台灣扁柏

acetate這三種化合物確實可做為區別紅檜、台灣扁柏與日本扁柏之指標化合物。

結語

台灣檜木為冰河期倖存的子遺物種，是名副其實的「台灣原住民」與「活化石樹」，在全球演化變遷或生物地理、島嶼生態等學術領域，都具有極重要的地位。長久以來，檜木因耐久優良的材質而廣受人們喜愛，它芳香迷人的味道更使其精油成為炙手可熱的商品。檜木精油不僅具有抗蟲、抗菌、抗發炎等功效，根據我們的研究，證實它還可作為親源鑑定的利器！大自然蘊藏著無數人類未解的自然奧秘，深入探討便可能有意外的驚喜。檜木無論是其生態地位或利用價值都是人們重要的資產，值得我們用心保護、深入研究！🌲