

DNA 技術在臺灣產土肉桂基原鑑定及其理化特性之研究

李郁萱、李世傑

E-mail: 9511427@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

In Recently twenty years, *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. is unique in Taiwan for his often used as substitutes for Cinnamon in common. The essential oil from cinnamon contains many bioactive ingredients, such as cinnamaldehyde, coumarin, eugenol and so on. Cinnamon is not only used as food, but also in many other applications, such as cosmetics, aroma therapy, and antiseptic. The market potential for various cinnamon 's healthy products is growing. Although *C. osmophloeum* Kaneh. and *C. cassia* Presl. are different species in morphology, they can be miss used by each other on purpose in market. However, different geographical clones of *C. osmophloeum* Kaneh. contain different chemical constituents. Therefore, different gene-source of *C. osmophloeum* Kaneh. may have different curative effects. Adulterants and substitutes of traditional Chinese medicine may not be easily identified by traditional authentication methods. In this study, DNA molecular marker technologies were used to identify the gene-source of *C. osmophloeum* Kaneh., including RAPD, ISSR, ITS these three methods. The results of this study showed that ISSR markers produced polymorphism bands more than that of RAPD markers. However, the number of clone type of *C. osmophloeum* Kaneh. defined by using both of ISSR and RAPD markers are less than that of chemo-type available now. ITS specific primers were designed to amplify ITS DNA fragment for future sequencing and aligned with NCBI GenBank posted Lauraceae ITS sequences. Our results showed that the ITS sequence for *C. osmophloeum* Kaneh. from Taiwan was quite different from that of *Cinnamomum verum*. Further more, more genotype can be grouped using ITS markers for *C. osmophloeum* Kaneh. than that of chemotypes available now. The results from DPPH free radical scavenging assay showed that *C. osmophloeum* Kaneh. from geographical clones T2, LL and D4 had the best free radical scavenging activities.

Keywords : *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh., DNA molecular marker technologies, RAPD,ISSR, ITS, DPPH free radical scavenging

Table of Contents

封面內頁 簽名頁 授權書.....	iii	中文摘			
要.....	iv	英文摘要.....	vi	誌	
謝.....	viii	目錄.....	ix		
圖目錄.....	xiv	表目錄.....			
xvi	第一章 前言.....	1	第二章 相關文獻整		
理.....	4	2.1 肉桂及土肉桂之簡介.....	4	2.1.1 肉桂簡	
介.....	4	2.1.2 台灣近年來肉桂進出口狀況.....	5	2.1.3 土肉桂簡	
介.....	6	2.1.4 土肉桂分類地位之演變.....	6	2.1.5 土肉桂之地理分布位	
置.....	7	2.1.6 植物性狀.....	8	2.1.6.1 根、莖幹、枝	
條.....	8	2.1.6.2 葉.....	8	2.1.6.3 花.....	9
2.1.6.4 果實.....	9	2.1.6.5 節.....	9	2.1.7 生長習	
性.....	10	2.1.8 繁殖方式.....	10	2.2 肉桂揮發性成分組	
成.....	10	2.2.1 肉桂精油之化學組成.....	11	2.2.1.1 錫蘭肉桂精油組	
成.....	11	2.2.1.2 大陸肉桂精油組成.....	12	2.2.2 土肉桂精油之化學組	
成.....	13	2.2.3 土肉桂葉部精油組成之天然變異.....	14	2.3 肉桂的生理活	
性.....	16	2.3.1 桂皮醛的生理活性.....	17	2.3.2 桂皮乙酸酯的生理活	
性.....	18	2.3.3 丁香酚的生理活性.....	19	2.4 抗氧化活性簡	
介.....	19	2.4.1 抗氧化劑簡介.....	21	2.4.2 肉桂及其他天然抗氧化	
劑.....	22	2.4.3 抗氧化活性測定法原理.....	23	2.4.3.1 DPPH 自由基清除能力之測	
定.....	23	2.4.3.2 亞鐵離子螯合能力測定.....	24	2.5 肉桂及土肉桂之應用.....	24
2.5.1 錫蘭肉桂之應用.....	24	2.5.1.1 家庭用途.....	24	2.5.1.2 商業用	
途.....	25	2.5.2 大陸肉桂之應用.....	25	2.5.3 肉桂類在其他方面的應	
用.....	26	2.5.3.1 化妝品香料.....	26	2.5.3.2 矯味芳香劑.....	26

2.5.3.3 菸草香料.....	26	2.5.3.4 抑菌方面之應用.....	26	2.5.4 肉桂於傳統中藥及臨床上之應用.....	27
2.5.5 土肉桂的應用.....	29	2.5.5.1 食品的應用.....	29	2.5.5.2 土肉桂精油的生物活性與應用.....	30
2.6 用於肉桂鑑別上之傳統基原鑑定方法.....	31	2.6.1 肉桂之形態鑑定.....	32	2.6.2 肉桂之性狀鑑定.....	32
2.6.3 肉桂之顯微鑑定.....	32	2.6.4 肉桂之理化鑑定.....	32	2.7 DNA 分子標記技術.....	33
2.7.1 RAPD.....	35	2.7.2 SSR 與ISSR.....	35	2.7.2.1 SSR (Simple Sequence Repeat)	35
2.7.2.2 ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) ..	36	2.7.3 ITS (Internal Transcribed Spacer).....	37	2.7.4 其他分子標記.....	37
2.7.4.1 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	37	2.7.4.2 SCAR (Sequence Characterized Amplified Region)	38	2.7.4.3 STS (Sequence Targeted Site)	39
2.7.4.4 SNP (Single Nucleotide Polymorphism)	39	2.7.5 分子標記技術的應用.....	40	2.7.5.1 RAPD 的應用.....	40
2.7.5.2 ISSR 的應用.....	41	2.7.5.3 ITS 的應用.....	41	第三章 研究材料與方法.....	43
3.1 研究材料.....	43	3.2 藥品與材料.....	44	3.3 儀器設備.....	45
3.4 研究方法.....	47	3.4.1 DNA 萃取.....	47	3.4.2 DNA 的定量與稀釋.....	50
3.4.3 聚合?鏈鎖反應 (Polymerase Chain Reaction)	50	3.4.4 PCR 產物分析.....	51	3.4.5 T&A Cloning	53
3.4.6 遺傳歧異度及數據之統計分析.....	56	3.4.7 精油萃取.....	57	3.4.8 精油之氣相層析質譜儀之定性分析.....	58
3.4.9 土肉桂萃取液之萃取.....	58	3.4.10 DPPH 自由基清除能力之測定.....	58	第四章 結果與討論.....	59
4.1 蓮華池土肉桂營養系存活率討論.....	59	4.2 DNA 萃取結果及討論.....	59	4.3 不同地理品系土肉桂之RAPD 分析結果.....	60
4.4 不同地理品系土肉桂之ISSR 分析結果.....	61	4.5 不同地理品系土肉桂之ITS 結果.....	62	4.5.1 不同地理品系土肉桂經定序後之序列比較.....	62
4.5.2 土肉桂與其他NCBI 基因庫中之樟科植物比較.....	63	4.6 不同地理品系土肉桂精油GC-MS 定性分析結果討論.....	63	4.7 不同地理品系土肉桂DPPH 自由基清除能力比較.....	64
第五章 結論.....	66	參考文獻.....	112	圖目錄	
圖1 台灣原生土肉桂的形態.....	67	圖2 省產肉桂類之分類變遷圖.....	68	圖3 台灣土肉桂之地理分布圖.....	69
圖4 土肉桂精油主要成分之分子結構.....	70	圖5 ISSR 原理圖.....	71	圖6 ITS 原理圖.....	72
圖7 蓮華池土肉桂營養系永久保留區排列圖.....	75	圖8 蓮華池土肉桂營養系存活率比例圖.....	76	圖9 不同萃取方法抽取土肉桂(曾文水庫二號; T2)DNA 電泳圖.....	77
圖10 使用RAPD 引子OPC-05 鑑定6 種化學型土肉桂指紋圖譜.....	78	圖11 使用15 種RAPD 引子鑑定桂皮醛型(E2)土肉桂基原之指紋圖譜.....	79	圖12 使用15 種RAPD 引子鑑定桂皮醛型(S1)土肉桂基原之指紋圖譜.....	80
圖13 使用15 種RAPD 引子鑑定桂皮醛型(D18)土肉桂基原之指紋圖譜.....	81	圖14 使用15 種RAPD 引子鑑定桂皮醛 - 桂皮乙酸酯型(G2)土肉桂基原之指紋圖譜.....	82	圖15 使用15 種RAPD 引子鑑定桂皮醛 - 桂皮乙酸酯型(D17)土肉桂基原之指紋圖譜.....	83
圖16 使用ISSR 引子UBC876 擴增不同時期採集同一植株 (S1) 土肉桂之結果.....	84	圖17 使用ISSR 引子UBC876 鑑定不同地理品系土肉桂基原之指紋圖譜.....	85	圖18 使用ISSR 引子UBC891 鑑定不同地理品系土肉桂基原之指紋圖譜.....	86
圖19 使用ITS 方式鑑定不同地理品系土肉桂基原之指紋圖譜.....	87	圖20 土肉桂ITS 片段定序後序列比較圖.....	88	圖21 以UPGMA 方法建立6 種不同地理品系土肉桂ITS 序列樹狀圖.....	89
圖22 土肉桂ITS 片段定序後序列與NCBI 基因庫中樟科植物序列比較圖.....	91	圖23 以UPGMA 方法建立不同地理品系土肉桂及NCBI 上已發表之樟科植物ITS 序列樹狀圖.....	92	圖24 桂皮醛 - 桂皮乙酸酯型土肉桂GC-MS 圖譜.....	93
圖25 同地理品系土肉桂及標準品BHT 自由基清除能力曲線圖.....	94	表目錄		表1 土肉桂化學品系分類標準.....	95
表2 台灣肉桂製品進出口量值統計表.....	96	表3 省產四種型態相似的肉桂類區別點.....	97	表4 箇桂和土肉桂的形態差異.....	98
表5 不同營養系之天然林土肉桂葉油之收率.....	99	表6 不同地區土肉桂各營養系葉部精油主要成分之差異.....	100	表7 本實驗所使用之六種土肉桂化學型, 共計十二種品系....	101
表8 RAPD 各引子列表.....	102	表9 RAPD PCR 溫度循環反應條件及步驟.....	103	表10 ISSR 各引子列表.....	104
表11 ISSR PCR 反應試劑與濃度.....	105	表12			

ISSR PCR 溫度循環反應條件及步驟.....	106	表13 樟科植物於NCBI 上網站之登錄號與品種對照表.....	107
表14 ITS PCR 反應試劑與濃度.....	108	表15 ITS PCR 溫度循環反應條件及步驟.....	109
表16 yT&A kit 反應試劑與體積.....	110	表17 不同萃取法獲得的土肉桂基因組DNA 產率比較表.....	111

REFERENCES

- 參考文獻 1. 王振瀾。1987。土肉桂造林木之精油收率及成分分析，林業試驗所研究報告季刊(2):129-144。 2. 王振瀾、尹華文。1991。栽培地區及生長對土肉桂葉精油含量成分之影響。林業試驗所研究報告季刊6(3):313-328。 3. 王振瀾、尹華文。1992。土肉桂精油萃取、組成、季節性變化與葉部精油組成之天然變異。土肉桂專論 - 林業叢刊第38號。p47-61。 4. 尹華文。1991。不同營養系之省產土肉桂葉部精油收率及成分組成之差異。中華林學季刊24(1):83-104。 5. 元勇。2004。引火歸原藥物應用考辨。中醫藥學刊22(2) 278。 6. 白昕平。2003。台灣原生土肉桂葉揮發性成分之研究。國立屏東科技大學食品科學系碩士論文。 7. 朱紹洪。1993。天然實用香料。食品工業發展研究所。p58-72。新竹，台灣。 8. 呂勝由、楊遠波。1986。台灣產胡氏肉桂之確認。中華林學季刊19(4):113-117。 9. 呂福原、歐辰雄、呂金誠。1999。台灣樹木解說(一)。行政院農業委員會彙編。p74-85。台北，台灣。 10. 李國忠。1992。肉桂之產銷分析。土肉桂專論 - 林業叢刊第38號。p91-104。 11. 李漢中、鄭森松、劉如芸、張上鎮。2003。不同地理品系土肉桂葉部精油之化學多態性。中華林學季刊36(4):411-422。 12. 李興進。2003a。台灣香草作物之產業化。2003年生物科技暨產學合作研討會食品生技領域講座。屏東:國立屏東科技大學食品加工廠。p23-24。 13. 李興進。2003b。具發展潛力原生藥用植物介紹。2003年藥用及香精作物生產與利用研討會。屏東:國立屏東科技大學農園生產系。p4-5。 14. 吳天賞、陳榮秀。1977。假肉桂之成分研究。台灣藥學雜誌29:15-18。 15. 吳天賞、田憲儒、葉茂榮。1982。台灣民間藥物之成分研究第九報台灣肉桂葉之成分研究。化學40:23-26。 16. 吳國靜。1988。香品化妝品及皂類叢書(一)香料。徐氏基金會出版。p102-103、114-115、257。 17. 吳瑞鈺、劉祖惠、賴宗賢、鍾玉山、張嘉銘、陳博勳、錢瑤珍、何士慶。2005。生物技術在中草藥之研發應用。生物產業16(1):10-22。 18. 何坤益、楊政川、鄧書麟、陳財輝。2004。應用ISSR 解析山木麻黃國際種原之遺傳變異與種原關係。台灣林業科學19(1):79-88。 19. 沈安麗。1984。肉桂飄香，經濟價值高關國內香料工業需要扶植成長。農業週刊。10(18):16。 20. 林天書、尹華文。1995。肉桂類精油防治白蟻效能之研究。林業試驗所研究報告季刊10(4):459-464。 21. 林金和。2001。肉桂 - 高效價中藥。中醫藥研究論叢4(1):183-185。 22. 林渭訪、張樂民、柳普。1968。育林專輯:台灣之森林植物。中華林學季刊1:1-70。 23. 林耀堂。1978。Study on the Leaf-Oil of Camphor Trees。國立台灣大學化學系研究中心工作報告(NTU CRC6702)。 24. 林耀堂。1979。台灣植物成分研究:各種肉桂樹精油之比較試驗。國立台灣大學化學系研究中心工作報告(NTUCRC6801)。 25. 林耀堂。1980。台灣植物成分研究:各種土肉桂成分之研究。國立台灣大學化學系研究中心工作報告(NTU CRC6901)。 26. 林耀堂。1981。台灣植物成分研究:樟屬成份之研究。國立台灣大學化學系研究中心工作報告(NTU CRC7001)。 27. 林讚標。1992。土肉桂專論。林業叢刊第38號。台北，台灣。 28. 邱淑嬌。2003。中藥材DNA 鑑定資料庫應用。工研院生醫中心中藥材基原DNA 鑑定技術推廣訓練班。p3-55。新竹:台灣。 29. 胡大維、林耀堂、何政坤。1985。台灣土肉桂葉部精油化學成分之天然變異。台灣省林業試驗所抽印本No.78。p45-62。 30. 胡大維。1992。土肉桂的分佈、營養系收集與營養系庫的建立。土肉桂專論 - 林業叢刊第38號。p1-6。台北，台灣。 31. 拱玉郎。1997。天然抗氧化劑發展近況。食品工業月刊29(3):23-37。 32. 徐虹、鄭敏、章軍、朱斌琳、張曉挺、袁文杰。2004。三種樟科植物的細胞總DNA 提取。雲南植物研究26(4):451-457。 33. 陳志忠、竇中花。2001。肉桂與其偽品刨花楠的鑑別。中藥材24(11):801-802。 34. 陳秀蓮。2002。肉桂與其偽品陰香的鑑別。海峽藥學14(5):74-75。 35. 陳品方。2000。台灣杉與土肉桂精油及其成分之生物活性。國立臺灣大學森林學研究所碩士論文。 36. 陳怡穎。2003。台灣土肉桂葉精油之組成與抗氧化性。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。 37. 陳桂歌。2003。肉桂與易混品月桂的比較鑑別。陝西中醫學院學報26(4):51。 38. 陳富永、林孟姿、蔣慕琰。2003。原生及外來蔓澤蘭之形態及分子特性研究。小花蔓澤蘭危害與管理研討會專刊。p29-50。 39. 陳惠英、嚴國欽。1998。自由基、抗氧化防禦與人體健康。中華民國營養學會雜誌23(1):105-121。 40. 陳隨清、王利麗。2003。rRNA 基因(rDNA) 序列分析在中藥品種鑑定中的應用及研究進展。河南中醫學院學報18(105):86-88。 41. 莊曉莉、李祥麟、黃檀溪。2003。蠶蛹蟲草具有顯著之抗氧化性與自由基清除能力。師大學報48(1.2):13-24。 42. 曾國洋。2003。台灣蔓澤蘭屬植物之族群遺傳變異。國立中山大學生物科學研究所碩士論文。 43. 趙鳳綬。1956。香料化學命名草案之商榷。化學2:115-125。 44. 張上鎮、王升陽。1998。來自台灣森林之芳香維他命。台灣林業35(4):33-37。 45. 張上鎮。2002a。土肉桂葉精油的抗細菌活性與應用。林業研究專訊9(3):23-28。 46. 張上鎮。2002b。土肉桂葉子精油的生物活性與應用。台灣林業28(6):31-35。 47. 張上鎮。2003a。「傑出的生物化學家」 - 台灣鄉土林木。科學發展366:6-11。 48. 張上鎮。2003b。土肉桂葉子精油的生物活性與應用。台灣林業28(6) 31-35。 49. 張同吳。2003。保健植物應用於休閒產業之研究。休閒作物資源之開發與應用研討會專刊。花蓮區農改場。p151-164。 50. 張成國。2004a。中草藥之國際化與台灣優勢(上)。鄉間小路30(1):16-19。 51. 張成國。2004b。中草藥之國際化與台灣優勢(下)。鄉間小路30(2):14-17。 52. 張杰。2002。肉桂及其偽品的鑑別。時珍國醫國藥13(4):216。 53. 張璋麟。2003。台灣土肉桂中肉桂醛與乙酸肉桂酯之分析方法與萃取程序開發探討。大葉大學食品工程學系碩士論文。 54. 黃士穎、徐國凱。2001。應用葉綠體trnF - trnL 核酸序列探討台灣八種杜鵑花之分子親源關係。台灣林業科學16(3):153-160。 55. 黃薇、王盛良、李春紅。2002。肉桂醛的防霉效果及在月餅中的應用研究。食品科學23(2):144-145。 56. 葉茂生。1999。台灣山地作物資源彩色圖鑑。台灣省政府農林廳編印。 57. 葉佳聖、蘇正德。1993。補骨脂抗氧化成分之研究。食品科學20(6):574-585。 58. 葉書吟。2005。土肉桂葉部精油之化學多態性及其DPPH 自由基清除能力之探討。中國文化大學生活應用科學研究所碩士論文。 59. 楊開聰。1992。肉桂類在食品上的利用。土肉桂專論 - 林業叢刊第38號。p85-90。台北，台灣。 60. 楊景雍、蕭玉田。2004。石蓮茶包浸泡液抗氧化功效探討

。國立高雄海洋科學大學報19:23-38。61. 劉伯康、陳惠英、顏國欽。1999。數種傳統之食用植物甲醇萃取物抗氧化性之研究。中國農業化學會誌37 (1):105-116。62. 劉業經、呂福原、歐辰雄。1994。樟屬 (*Cinnamomum Trew.*)。台灣樹木誌。國立中興大學農學院叢書。p107-122。63. 潘海燕、鐘碧琳、洪英賢。2003。花椒、肉桂對食用菜油的抗氧化作用。山地農業生物學報22 (1):38-40。64. 潘富俊。1992。土肉桂的分類地位。土肉桂專論 - 林業叢刊第38號。p7-13。台北, 台灣。65. 潘懷宗、劉晉魁、周良穎、謝秉浦、李沐勳。1994。利用超臨界二氧化碳萃取肉桂中之精油成份:並與水蒸氣蒸餾法進行比較。中國藥學會誌5 (3):199-207。66. 鄭可大。2005。中藥材基因資料庫的建立 - 薯?品種分子鑑定之研究。中醫藥年報23 (7):141-158。67. 謝瑞忠、尹華文。1985。省產錫蘭肉桂精油之氣相色層分析鑑定。中華林學季刊18 (4):57-66。68. 謝瑞忠。1997。二氧化碳超臨界流體方法抽取錫蘭肉桂葉香精研究。台灣林業科學12 (1):71-79。69. 謝寶全。2000。肉桂萃取液之抑菌作用。台灣農業化學與食品科學38 (2):184-193。70. 韓俊生。2004。肉桂 " 引火歸原 " 之我見。上海中醫藥雜誌38 (8):47-48。71. 蕭逸文。2004。土肉桂ISSR 遺傳分型。中國文化大學生物科技研究所碩士論文。72. 龐運同、董元玉。2004。肉桂及其偽品的鑑別。中國醫院藥學雜誌24 (12):788。73. Admas, S., and Weidenborner, M. 1996. Mycelial deformations of *Cladosporium herbarum* due to the application of eugenol or carvacrol. *Journal of Essential Oil Research*. 8:535 - 540。74. Akira, T., Tanaka, S., and Tabata, M. 1986. Pharmacological studies on the antiulcerogenic activity of Chinese cinnamon. *Planta Medica*. 42:440-443。75. Ames, B. N. 1990. Endogenous oxidative DNA damage, aging and cancer. *Free Radical Research Communications*. 7:121-128。76. Anderson, R. A., Broadhurst, C. L., Polansky, M. M., Schmidt, W. F., Khan, A., Flanagan, V. P., Schoene, N. W., and Graves, D. J. 2004. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. 52:65-70。77. Ash, M., and Ash, I. 1995. *Handbook of food additives*. Gower Publishing Limited. pp.404. England。78. Berg, D. E., Natalia, S. A., and Dangeruta, K. 1994. Fingerprinting microbial genomes using RAPD or AP-PCR method. *Methods in Molecular and Cellular Biology*. 5:13-24。79. Blair, M. W., Panaud, O., and McCouch, S. R. 1999. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 98:780-792。80. Blosi, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 26:1199-1200。81. Brannen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of BHA and BHT. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52: 59-65。82. Bullerman, L. B., Lieu, F. Y., and Seier, S. A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*. 42:1107-1116。83. Chang, S. T., and Cheng S. S. 2002. Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:1389-1392。84. Cheng, S. S., Liu, J. Y., Tsai, K. H., and Chen, W. J. 2004. Chemical Composition and Mosquito Larvicidal Activity of Essential Oils from Leaves of Different *Cinnamomum osmophloeum* Provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(14):4395-4400。85. Coppen, J. J. W. 1995. Non-wood forest products 1. Flavours and fragrances of plant origin: cinnamomum oils (including cinnamon and cassia). Food and Agriculture Organization of the United Nations. pp.7-17. Rome, Italy。86. Conner, D. E., and Beuchat, L. R. 1984. Effects of essential oils from plant on growth of food spoilage yeasts. *J. Food Science*. 49:429-434。87. Dhuley, J. N. 1999. Antioxidant effects of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark and greater cardamom (*Amomum sabulatum*) seeds in rats fed high fat diet. *Indian J Exp Biol*. 37:238 - 242。88. Dillon, S.L., Lawrence, P. K., and Henry, R.J. 2001. The use of ribosomal ITS to determine phylogenetic relationships within Sorghum. *Plant Syst. Evol.* 230: 97-110。89. Ensminger, A. H., Ensmonger, A. G., and Konlande, J. E. 1983. *Food and Nutrition Encyclopedia*. pp. 747-748. Pegasus Press. Clovis, California。90. Fang, J. ., Chen, S. A. and Cheng, Y. S. 1989. Quantitative-Analysis of the Essential Oil of *Cinnamomum-Osmophloeum* Kanehira. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37:744-746。91. Farrell, K. T., 1985. *Spices, condiments and seasonings*. The AVI publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. pp.67,84-85。92. Fritsch, P. W., and Rieseberg, L. H. 1996. The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in conservation genetics. In Smith T. and Wayne B. (eds.), *Molecular Genetic Approaches in Conservation*, pp. 54 - 73. Oxford Univ. Press, New York。93. Gielly, L., and Taberlet, P. 1996. A phylogeny of the European gentians inferred from chloroplast trnL (UAA) intron sequences. *Bot. J. Linn. Soc.* 120:57-75。94. Giese, J. 1996. Antioxidants: tools for preventing lipid oxidation. *Food Technology*. 50:73-81。95. Giugliano, D., Ceriello, A., and Paolisso, G. 1995. Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular. disease: which role for oxidative stress. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 44:363-368。96. Guenther, E. 1949 *The Essential Oils*. pp. 111-123. Vol. D Von Nostrand Co., New York。97. Gutteridge, J. M. C. 1993. Free radicals in disease. process: A complication of cause and consequence. *Free Radical Research Communications*. 19:141-158。98. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., and Cross, C. 1992. Free Radicals antioxidants and human diseases: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 119: 598-613。99. Howe-Grant, M. (eds). 1993. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 4th ed. Wiley-Interscience. pp.351. New York。100. Hsiao, J. Y., Yang, W. C., and Lai, J. A. 2001. An assessment of genetic relationships in cultivated tea clones and native wild tea in Taiwan using RAPD and ISSR markers. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 42:93-100。101. Hess, J., Kadereit, J. W., and Vargas, P. 2000. The Colonization History of *Olea europaea* L. in Macaronesia Based on Internal Transcribed Spacer 1 (ITS-1) Sequences, Randomly Amplified Polymorphic DNAs (RAPD), and Intersimple Sequence Repeats (ISSR). *Molecular Ecology*. 9(2000):857-868。102. Hussain, R. A., Kim, J., Hu, T. W., Pezzuto, J. M., Soejarto, D. D., and Kinghorn, A. D. 1986. Isolation of a highly sweet constituent from *Cinnamomum osmophloeum* leaves. *Planta Medica*. 52:403-404。103. Hwang, S.Y., Tseng, Y. T., and Lo, H. F. 2002. Application of Simple sequence repeats in determining the genetic relationships of cultivars used in sweet potato polycross breeding in Taiwan. *Scientia Horticulturae*. 93: 215-224。104. Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., and Sakariah, K. K. 1997. Chemical composition of the volatile oil from the fruits of *Cinnamomum zeylanicum* Blume. *Flavour and Fragrance Journal*. 12:331-333。105. Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., and Sakariah, K. K. 2000. Chemical composition of the flower oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48:4294-4295。106. Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., and Sakariah, K. K. 2002. Chemical composition of the volatile oil from *Cinnamomum zeylanicum* buds. *Z. Naturforsch.* 57c:990-993。107.

Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., and Sakariah, K. K. 2003. Volatile constituents from *Cinnamomum zeylanicum* fruit stalks and their antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:4344-4348.

108. Jeong, H. W., Han, D. C., Son, K. H., Han, M. Y., Lim, J. S., Ha, J. H., Lee, C. W., Kim, H. C., and Kwon, B. M. 2003. Antitumor effect of the cinnamaldehyde derivative CB403 through the arrest of cell cycle progression in the G2/M phase. *Biochemical Pharmacology*. 65:1343-1350.

109. Jialal, I., and Devaraj, S. 1996. Low-density lipoprotein. oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical. biochemistry perspective. *Clinical Chemistry*. 42:498-506.

110. Johnson, A. H., and Peterson, M. S. 1984. *Encyclopedia of food technology*. The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. pp.843.

111. Ka, H., Park, H. J., Jung, H. J., Choi, J. W., Cho, K. S., Ha, J., and Lee, K. T. 2003. Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Cancer Letter*. 196(2):143-152.

112. Karapinar, M., and Aktug, S. 1987. Inhibition of food borne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. *International Journal of Food Microbiology*. 4:161-166.

113. Kaul, P. N., Bhattacharya, A. K., Rao, B. R. R., Syamasundar, K. V., and Ramesh, S. 2003. Volatile constituents of essential oils isolated from different parts of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83:53-55.

114. Kehler, J. P. 1993. Free radicals as mediators of tissue. injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*. 23:21-48.

115. Kenseler, T. W., and Trush, M. A. 1984. Role of oxygen. radicals in tumor promotion. *Environmental and. Molecular Mutagenesis*. 6:593-616.

116. Khan, A., Safdar, M., Khan, M. M. A., Khattak, K. N., and Anderson, R. A. 2003. Cinnamon Improves Glucose and Lipids of People With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 26(12):3215-3218.

117. Kim, H. K., Kim, J. R., and Ahn, Y. J. 2004. Acaricidal activity of cinnamaldehyde and its congeners against *Tyrophagus. putrescentiae* (Acari: Acaridae). *Journal of Stored Products Research*. 40:55-63.

118. Kim, S. H., Hyun, S. H., and Choung, S. Y. 2006. Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 104(1):119-123.

119. Kreydiyyeh, S. I., Usta, J., and Copti, R. 2000. Effect of cinnamon, clove and some of their constituents on the Na(+)-K(+)-ATPase activity and alanine absorption in the rat jejunum. *Food and Chem Toxicology*. 38:775-762.

120. Kurokawa, M., Kumeda, C. A., Yamamura, J., Kamiyama, T., and Shiraki, K. 1998. Antipyretic activity of cinnamyl derivatives and related compounds in influenza virus-infected mice. *European Journal Of Pharmacology*. 348:45-51.

121. Lau, D. T., Shaw, P. C., Wang, J. and But, P. P. 2001 Authentication of medicinal *Dendrobium* species by the internal transcribed spacer of ribosomal DNA. *Planta Medica*. 67: 456-460.

122. Lee, H. S., and Ahn, Y. J. 1998. Growth-inhibitory effects of *Galla Rhois*-derived tannins on intestinal bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 84 : 439-443.

123. Lee, C. C., Wu, S. J., Chang, C. H., and Ng, L. T. 2003 Antioxidant activity of *Cinnamomum cassia*. *Phytotherapy Research*. 17 (7): 726-730.

124. Lee, H. K., Lee, H. S., and Ahn, Y. J. 1999. Antignawing factor derived from *Cinnamomum cassia* bark against mice. *Journal of Chemical Ecology*. 25(5): 1131-1139.

125. Lee, H. S., Kim, B. S. and Kim, M. K. 2002. Suppression effect of *Cinnamomum cassia* bark-derived component on nitric oxide synthase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:7700-7703.

126. Maruzzella, J. C., and Liguori, L. 1958. The in vitro antifungal activity of essential oils. *J Am Pharm Assoc*. 47(4):250-254.

127. Mau, J. L., Chen, C. P., and Hsieh, P. C. 2001. Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon, and corne fructus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49:183-188.

128. Nei, M., and Saitou, N. 1978. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4:406-425.

129. Nielsen, P. V., and Rios, R. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology*. 60:219-229.

130. Obeng-Ofori, D., and Reichmuth, C. 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. *International Journal of Pest Management*. 43: 89-94.

131. Olson, M., Hood, L., Cantor, C., and Botstein, D. 1989. A common language for physical mapping of the human genome. *Science*. 245(4925):1434-1435.

132. Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J. P., and Begin, A. 1997. Antimicrobial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms . *International Journal of Food Microbiology*. 37:155-162.

133. Paolisso, G., Amore, A., Volpe, C., Balbi, V., and Saccomanno, F. 1994. Evidence for a relationship between oxidative stress and insulin action in non-insulin-dependent (type) diabetic patients. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 43: 1426-1429.

134. Qin, B., Nagasaki, M., Ren, M., Bajotto, G., Osgida, Y., and Sato, Y. 2003. Cinnamon extract (traditional herb) potentiates in vivo insulin-regulated glucose utilization via enhancing insulin signaling in rats. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 62(3):139-148.

135. Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H., and Kawakishi, S. 1995. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Science and Technology*. 6:75-77.

136. Ryu, D., and Holt, D. 1993. Growth inhibition of *Penicillium expansum* by several commonly used food ingredients. *J Food Protect*. 56: 862-867.

137. Scheiber, S. M., Jarret, R. L. Robacker, D. and Newman, M. 2000. Genetic relationships within *Rhododendron* L. section *Pentanthera* G. Don bases on sequence of the internal transcribed spacer (ITS) region. *Sci. Hort*. 85:123-35.

138. Senanayake, U. M., Lee, T. H., and Will, R. B. H. 1978 Volatile constituents of cinnamon (*Cinnamomum Zeylancum*) oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26 (4) :822-824.

139. Shaw, P. C., Ngan, F. N., But, P. P. H., and Wang, J. (eds.) 2002. Authentication of Chinese Medicinal Materials by DNA Technology. World Scientific Publishing, Singapore.

140. Singh, H. B., Srivastava, M., Singh, A. B., and Srivastava A. K. 1995. Cinnamon bark oil, a potent fungitoxicant against fungi causing respiratory tract mycoses. *Allergy*. 50:795-999.

141. Shukla, R., and Prasad, V. 1985. Population fluctuations of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel, in relation to hosts and abiotic factors. *Trop. Pest Manage*. 31: 273 – 275.

142. Sisk, C., Shorey, H., Gerber, R., and Gaston, L. 1996. Semiochemicals that disrupt foraging by the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae): Laboratory bioassays. *J. Econ. Entomol*. 89: 381 – 385.

143. Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139: 457-462.

144. Spector, A., Wang, G. M., Wang, R. R., Li, W. C., and Kleiman, N. J. 1995. A brief photochemically induced oxidative insult causes irreversible lens damage and cataract. II. Mechanism of action. *Experimental Eye Research*. 60:483-493.

145. Su, J. D. 1992. Investigation of

antioxidative activity and. Tocopherol contents on Chinese crude drugs of fruits or seeds. *Food Science*. 19: 12-24. 146. Tan, S. L., Dossett, M., and Katze, M. G. 1998 Extraction of DNA suitable for PCR analysis from dried plant rhizomes/roots. *Biotech*. 25 (5) :796-801. 147. ter Heide, R. 1972. Qualitative Analysis of the Essential Oil of Cassia.(*Cinnamomum cassia*. Blume). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.20(4):747-751. 148. Terzopoulos, P. J., Kolano, B., Bebeli, P. J., Kaltsikes, P. J., and Metzidakis, I. 2005. Identification of *Olea europaea* L. Cultivars Using Inter-Simple Sequence Repeat Markers. *Scientia Horticulturae*. 105(2005):45-51. 149. Thamas, J. 1995 The role of free radicals and antioxidants : How do we know that are working. *Critical Review in Food Science Nutrition*. 35: 21-39. 150. Troll, W., and Wiesner, R. 1985. The role of oxygen. radicals as a possible mechanism of tumor promotion. *Annual Review of Pharmacology and toxicology*. 25:509-528. 151. Ude, G., and Pillay, M., Nwakanma, D., and Tenkouano, A. 2002. Genetic diversity in *Musa acuminata* Colla and *Musa balbisiana* Colla and some of their natural hybrids using AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 104(8): 1246-1252. 152. Usta, J., Kreydiyyeh, S., Bajakian, K., and Nakkash-Chmaise H. 2002. In vitro effect of eugenol and cinnamaldehyde on membrane potential and respiratory chain complexes in isolated rat liver mitochondria. *Food and Chemical Toxicology*. 40:935-940. 153. Wang, D. G. et al., 1998. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the Human genome. *Science*. 280:1077-1082. 154. Wharton, G. W. 1976 House dust mites. *J. Med. Entomol*. 12:577-621. 155. Williams, G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S.V.1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acid research*. 18:6531-6535. 156. Williams, W. B., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995 Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. Technol*. 28(1): 25-30. 157. Wolfe, A. D., Xiang, Q.Y., and Kephart, S. R. 1998 Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (*Scrophulariaceae*) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Molecular Ecology*. 7: 1107-1125. 158. Zabeau, M., and Vos, P. 1993. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. *European Patent Application of 92402629*. No. 0534858. 159. Zeng, J., Zou, Y. P., Bai, J. Y., and Zheng, H. S. 2002 Preparation of total DNA from “ Recalcitrant plant taxa ” . *Acta Botanica Sinica*. 44(6): 694-697. 160. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., and Labuda, D. 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomic*. 20(1994):176-183.