中華民國第51屆中小學科學展覽會作品說明書

高中組 生活與應用科學科

第三名

040801

打「黴」「樂」, 打了沒

一不同中藥對黴菌抑制效果

學校名稱:國立高雄師範大學附屬高級中學

作者:

指導老師:

高一 呂昕怡

廖幸芝

關鍵詞:中藥、黑黴菌、抑菌

壹、摘要

本研究針對經篩選後之五種中藥:金銀花、苦參根、貝母、蛇床子、雞冠花 對於存在生活週遭黴菌的抑制效果進行定量探討。

本實驗顯示蛇床子對根黴屬麵包黴黴菌抑制率可達 71%,對枝孢屬空氣及廁所黴菌的抑制效果近乎 100%,除了本身成本較低,且有效濃度也較低,故成本為五種中藥最低,作爲抑菌劑最具經濟效益。具母明顯於稀釋倍數較高時,抑菌效果反而較佳。透過拍照比對發現中藥萃取液對於黴菌的抑制效果與滲透壓及孢子萎縮程度有關。

蛇床子及金銀花對於根黴屬的麵包黴菌及枝孢屬的空氣及廁所黴菌都有可與市面上去黴產品相比擬的抑制效果且成本較市面上去黴產品低,且透過定量實驗證實出符合天然、低成本、不傷手、無污染、抑制效果佳等優點的中藥萃取液,未來可廣泛應用於環境及飼料去黴方面。

貳、研究動機

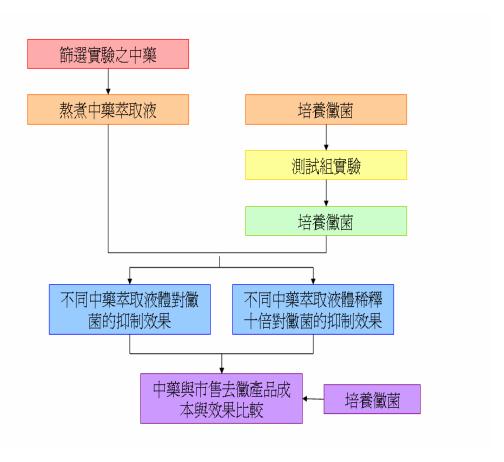
臺灣屬於亞熱帶及熱帶氣候,高溫又潮濕又四面環海,是黴菌最愛的地方,不論食物上、木頭上或是家中的牆壁上、廁所中,甚至空氣中都有它們的蹤跡,台灣地區平均每四人就有一人,對「黴菌」呈現過敏反應,但市面上所賣的去黴產品,都是非天然的化學成分如:有機硫黃劑、錳乃浦(Maneb)、五氯硝苯(PCNB)、喜樂松(Kitazin)……,長期接觸包括使用後揮發於空氣中被吸入或間接摸到等,必對健康有害,尤其是辛苦的媽媽們,更是最直接的接觸者,且據聯合國統計,全世界每年平均損失的糧食和飼料約爲總產量的20%,其中一半以上是黴菌所致,化學飼用防霉劑不但危害動物健康,還間接影響人類健康,不但致癌,甚至導致畸型、基因突變,所以我想要找出能夠抑制黴菌生長的天然物質,如:中藥,來取代非天然產品,讓人們有更健康的生活環境。

參、研究目的

本研究以探討經篩選過後的中藥對於生長於人類生活中的黴菌的抑制效果,以 期找出便宜、無污染、抑制率高的天然藥草取代非天然製品。以下爲探討目標:

- 一、研究金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花抑制麵包黴菌的效果。
- 二、研究金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花抑制空氣黴菌的效果。
- 三、研究金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花抑制廁所黴菌的效果。
- 四、研究不同濃度金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花抑制麵包黴菌的效果。
- 五、研究不同濃度金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花抑制空氣黴菌的效果。
- 六、研究不同濃度金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花抑制廁所黴菌的效果。
- 七、比較金銀花、苦參根、貝母、蛇床子、雞冠花與市售去黴產品對麵包黴菌及空 氣、廁所黴菌抑制效果與成本。

肆、研究流程



圖一:研究流程架構組織圖

伍、實驗器材

表一:實驗器材名稱及數量

	> \						
器材	試管	pH計	培養箱	高溫高壓	血清瓶	陶瓷燉鍋	微量
				滅菌釜			吸管
數量	25 個	1台	1個	1台	4個	1個	1支
器材	白吐司	接種環	定量吸	打火機	無菌	無菌操作台	酒精
			管		紗布		燈
數量	2片	1支	1支	1個	略	1台	1個
器材	Tip	金銀花	蛇床子	貝母	雞冠花	苦參根	蒸餾水
數量	略	100g	100g	100g	100g	100g	略
器材	黑黴菌	紗布	夾鏈袋	酒精	棉花	酒精棉片	SDA 培
							養基
數量	略	略	略	略	略	略	略



圖二:實驗器材



圖三:pH計



圖四:恆溫培養箱



圖五:無菌操作台



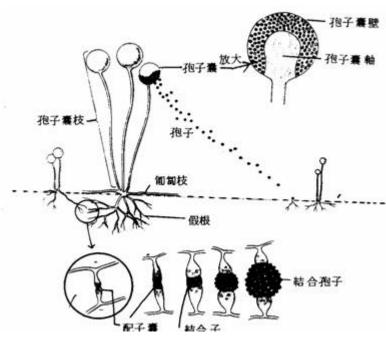
圖六:接種環



圖七:高溫高壓滅菌釜

- 一、 SDA 培養基: Sabouraud dextrose agar (SDA),沙保氏葡萄糖培養基,每公升含有葡萄糖 40g、胰化蛋白凍 (peptone) 10g、洋菜 (agar) 15g,然後加蒸餾水到 1L,pH4.0~6.0。成分比例適合黴菌與酵母菌生長。
- 二、接合菌門(Zygomycota)根黴屬(Rhizopus)黴菌

(一) 基本構造:



圖八:根黴屬黴菌基本構造圖

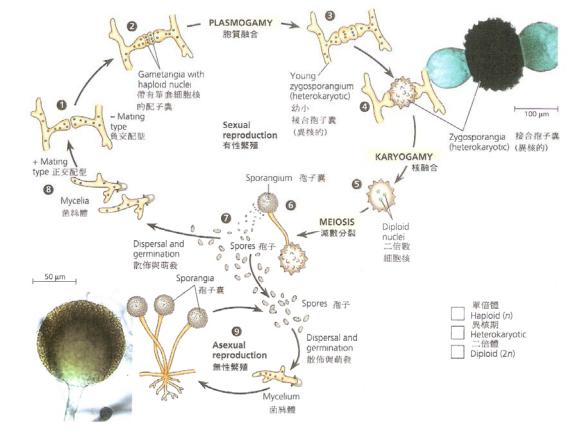
1、構造

- A、 菌絲: 爲白色,無隔壁且爲多核。
- a、匍匐菌絲:較粗而橫走於附著物上,可行有性生殖(接合生殖)。
- b、根狀菌絲:可伸入附著物中吸收水分和養分(分泌酵素分解有機物)。
- c、直立菌絲:可行孢子生殖→菌絲頂端可形成孢子囊,孢子囊內細胞經有絲分裂產生深色孢子,孢子成熟後經散布萌發成菌絲。
- B、孢子:成熟時呈深色,孢子具厚壁,可以抵抗乾旱的環境。
- 2、特徵:爲接合菌門,菌落生長快速,先是白色,轉爲灰白色。

(二)特色

- 1、多細胞、無隔壁的多核菌絲,菌絲無或白色,孢子爲深色,行腐生生活方式。
- 2、有時在匍匐菌絲上產生橫隔,隨即形成厚垣孢子。有性生殖時由不同性別的菌絲或匍匐菌絲上生出配子囊,配子囊雙異宗配合形成一接合孢子。
- 3、廣泛分佈於酒麴、植物殘體、腐敗有機物中,還存在於動物糞便和土壤中。孢子靠氣流傳播,喜中溫,高濕偏酸的條件。培養物中碳水化合物過多的地方易生此類真菌。常見於水分充足的有機體上,多見於麵包上。
- 4、致病性:侵犯肺部及鼻竇。

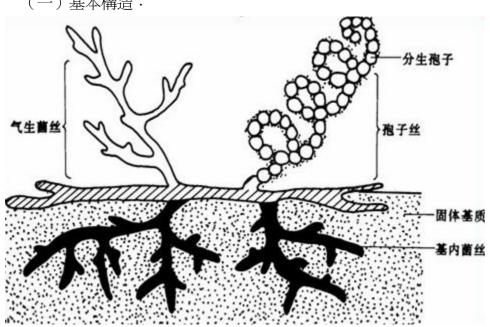
(三)生活史:



圖九:根黴屬黴菌生活史架構圖

- ※環境惡劣時可進行接合生殖,已形成厚壁合子。待環境適宜時,可經減數分 裂產生具不同適應能力的孢子。
- 子囊菌門(Ascomycota) 半知菌亞門(Deuteromycota) 枝孢屬 (Cladosporium) 黴菌

(一)基本構造:

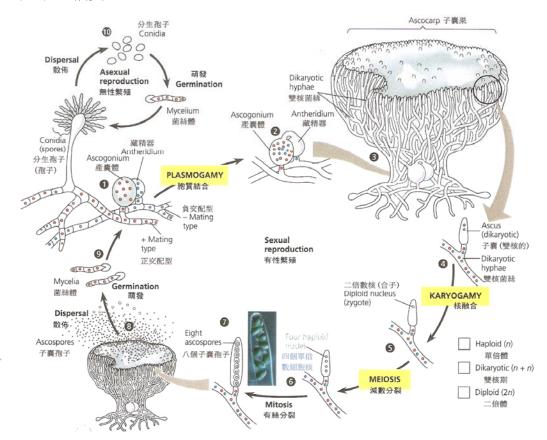


圖十: 枝孢屬黴菌基本構造圖

(二)特色

- 1. **枝孢菌多常見於活的或死掉的作物上**。有些會使得作物染病,有些 則是寄生在作物上,另一些則是像蘑菇一樣生長。枝孢黴的孢子分 布廣泛,在戶外的空氣中含量豐富。而在室內,當潮氣太重的時候, 它們會在器具表面生長。
- 2. 致病性:已經有過皮膚和指甲感染的報告,此外還有鼻竇炎和肺部 感染。如果未能及時處理,這些感染可能會發展成肺炎一類的疾病。

(三)生活史:



圖十一: 枝孢屬黴菌生活史架構圖

四、 真菌界分類



圖十二:真菌界分類簡略組織圖

陸、實驗方法與結果

一、實驗中藥材之篩選

(一)實驗步驟:

- 1. 參考本人參與之第四十六屆高雄市中小學科展作品「『藥草』in『細菌』 out」研究中中藥對大腸桿菌抑菌效果,挑選成果較佳者。
- 2. 請教中藥店老闆。
- 3. 請教研究中藥專業人士。
- 4. 蒐集資料(網路資料、書籍)並彙整(如附件一、附件二)。

表二:不同中藥書籍及網路資料簡介彙整表

	• 11 刊中荣音相及		未正式		
名	金銀花	苦參根	貝母	蛇床子	雞冠花
稱					
學	Lonicerajaponica	Sophora	Bulbus fritillariae	Cnidium	Celosia
名		flavescens	thunbergii	monnieri	cristata
				(L.) Cuss	
科	忍冬科忍冬屬	豆科苦參	百合科貝屬	繖形科	莧科青葙屬
名		屬			
性	甘寒	味苦寒	微寒	辛苦而溫	味苦、微辛,
味					性寒
功	散熱,解毒	清熱燥	肺痿,	強陽益	涼血止血。
用		濕,殺蟲,	肺癰。	陰,補腎	
		利尿。	淋瀝。	去寒,	
				去風燥	
				濕。	
主	癰疽疥癬,	用於熱	散結除熱:敷惡	治陰痿,	止腸風血
治	楊梅惡瘡。	痢,便血,	瘡,歛瘡口。 <mark>解</mark>	囊濕(濕	熱,婦人紅崩
	腸癖血痢,	黄疸尿	熱毒,殺諸蟲及	生蟲);女	帶下。 赤痢
	五種尸疰。	閉,赤白帶	療喉痺。	子陰痛,	下血,用紅花
		下,陰腫陰		陰癢。	效;白痢下
		癢,濕疹,		濕癬惡瘡	血,用白花
		濕瘡,皮膚		→風濕諸	效。
		瘙癢,疥癬		病。	
		麻風; 外治		微炒殺	
		滴蟲性陰		毒,煎湯	
		道炎。		浴,止風	
				癢。	

二、中藥萃取液製作

(一)實驗步驟:

- 1.取中藥 100g,放入陶瓷燉鍋中。
- 2.加水至蓋過藥材(600ml),熬煮約60分鐘。
- 3.熬製出一碗量(250ml)的萃取液。
- (二)不同中藥萃取液性質比較:

表三:不同中藥萃取液性質比較表

名稱	金銀花	苦參根	貝母	蛇床子	雞冠花
圖片					
部位	花	根	鱗莖	果實	花
pH 値	5.14	4.96	4.01	6.26	5.94
(於					
17±1					
℃時)					
顏色	褐色	淺褐色	乳白色	深褐色	深褐色
萃取 液照 片	金銀花	苦參根		蛇床子	難冠花

三、實驗 1-1 麵包黴菌稀釋倍數測試組

(一)實驗步驟:

1.步驟1 培養黑黴菌:

- (1) 將白吐司加少量水放入夾鏈袋中。
- (2) 放置於陰涼處,待約一周。
- (3) 用無菌棉花棒沾取吐司上的黑黴菌,以S型輕塗在SDA培養基上。
- (4) 放置於陰涼處,待約3天。

2.步驟 2 測試組實驗:

- (1) 將裝有 250ml 蒸餾水的錐形瓶 1 瓶(以紗布包適量棉花塞住瓶口)、 9ml 蒸餾水試管 4 支(將蓋子半栓)、試管架及 tip(裝入盒子中並將 盒子用鋁箔紙包好)放入高溫高壓滅菌釜中,將水加熱形成高蒸氣 壓(1.2 kg/cm²),溫度達 121℃,滅菌約 30 分鐘。
- (2) 將器具表面噴酒精消毒後移至無菌操作台上。
- (3) 打開無菌操作台的布簾、UV 燈及風車 30~60 分鐘。
- (4) 將接種環用酒精棉片消毒並用火烤至變紅,冷卻後用接種環括取 SDA 培養基上的黑黴菌,加至裝有 250ml 蒸餾水錐形瓶中,攪拌使 其均勻,作爲原液。
- (5) 用微量吸管吸取 1ml 原液,加至裝有 9ml 蒸餾水試管中,形成 10 倍稀釋菌液,混合均匀,自 10 倍稀釋菌液以相同操作方式進行一系列之 100,1000,10000 倍之稀釋水樣,混搖均勻。
- (6) 用微量吸管吸取 0.5ml 各稀釋濃度水樣滴在 SDA 培養基上,旋轉培養皿至水樣均勻分布在培養基表面。
- (7) 將培養基放置於培養箱內,在37℃下培養7天。

(二) 結果:

表四:麵句黴菌稀釋倍數測試組實驗結果

稀釋	10	100	1000	10000
倍數				
菌落	菌落太多無法計數	442	54	3
數				
照片		10		109

四、實驗 2-1 金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花萃取液對麵包黴菌的抑制效果

(一) 實驗步驟:

1.步驟1 培養麵包黴菌:

- (1) 將白叶司加少量水放入夾鏈袋中。
- (2) 放置於陰涼處,待約一周。
- (3) 用無菌棉花棒沾取吐司上的黑黴菌,以S型輕塗在SDA培養基上。
- (4) 放置於陰涼處,待約7天。
- (5) 以顯微鏡放大並拍照初步判定黴菌。



圖十三:培養一周的吐司

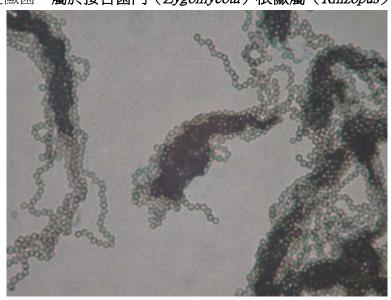
2.步驟 2 不同中藥萃取液對麵包黴菌的抑制效果實驗:

- (1) 中藥萃取液、去黴產品、對照組及空白組配置:五組爲原濃度中藥萃取液;五組爲 10 倍稀釋中藥萃取液、一組面去黴產品組、一組對照組及一組空白組。
 - A. 原濃度中藥萃取液:將金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠 花萃取液各取 9ml 於試管中,共五組。
 - B. 十倍稀釋中藥萃取液:將金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞 冠花中藥萃取液各取 1ml 於試管中,加入 9ml 的蒸餾水,混合 均勻,各吸取 1ml 起來,共五組。
 - C. 去黴產品:將去黴產品原液取 9ml 於試管中,共一組。
 - D. 對照組:將 100 稀釋菌液取 1ml,加入 9ml 的蒸餾水,形成 1000 倍稀釋菌液,共一組。
 - E. 空白組:無加入任何東西的培養基,共一組。
- (2) 將裝有 250ml 蒸餾水的錐形瓶 1 瓶(以紗布包適量棉花塞住瓶口)、 9ml 蒸餾水試管 1 支(將蓋子半栓)、空試管(將蓋子半栓)、原濃 度中藥萃取液及 10 倍稀釋中藥萃取液 9ml 試管共 10 支(將蓋子半 栓)、試管架及 tip(裝入盒子中並將盒子用鋁箔紙包好)放入高溫 高壓滅菌釜中,將水加熱形成高蒸氣壓(1.2 kg/cm²),溫度達 121℃,滅菌約 30 分鐘。

- (3) 將器具表面噴酒精消毒後移至無菌操作台上。
- (4) 打開無菌操作台的布簾、UV 燈及風車 30~60 分鐘。
- (5) 將接種環用酒精棉片消毒並用火烤至變紅,冷卻後用接種環括取 SDA 培養基上的黑黴菌,加至裝有 250ml 蒸餾水錐形瓶中,攪拌使 其均勻,作爲原液。
- (6) 用微量吸管吸取 1ml 原液,加至裝有 9ml 蒸餾水試管中,形成 10 倍稀釋菌液,混合均匀。
- (7) 自 10 倍稀釋菌液用微量吸管吸取 10ml 菌液,加至裝有 90ml 蒸餾水血清瓶中,形成 100 倍稀釋菌液,混合均勻。
- (8) 用微量吸管分別吸取 1ml 100 倍稀釋菌液,加至裝有原濃度中藥萃取液 9ml、10 倍稀釋中藥萃取液 9ml 及滅菌過蒸餾水 9ml 共 11 支試管中,形成 1000 倍稀釋混合液。
- (9) 用微量吸管吸取 0.5mlA、B、C、D 分別滴在 SDA 培養基上,旋轉培養皿至水樣均勻分布在培養基表面。
- (10) 將培養基放置於培養箱內,在37℃下培養7天。

(二) 結果:

1.判定黴菌:屬於接合菌門(Zygomycota)根黴屬(Rhizopus)

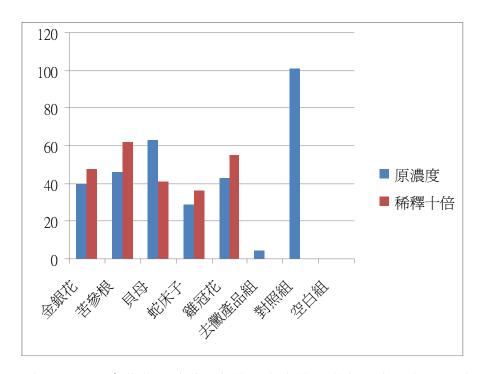


圖十四:麵包黴菌 1000 倍放大圖

2.抑制結果:

表五:不同中藥萃取液體對麵包黴菌的抑制效果平均結果

名稱	金	뇀	貝	蛇	雞	去黴產品	對照組	空白組
	銀	參	母	床	冠			
	花	根		子	花			
萃取液稀釋倍數	1	1	1	1	1	4	101	0
菌落數	40	46	63	29	43			
萃取液稀釋倍數	10	10	10	10	10			
菌落數	48	62	41	36	55			



圖十五:不同中藥萃取液體對根黴屬麵包黴菌的抑制效果結果圖表

五、實驗 1-2 黴菌稀釋倍數測試組

1.步驟1 培養空氣黴菌:

- (1) 將 SDA 培養基打開置於空氣中 10 分鐘。
- (2) 放置於陰涼處,待約一周。
- (3) 用無菌棉花棒沾取 SDA 培養基上的黑黴菌,以 S 型輕塗在另一 SDA 培養基上。
- (4) 放置於陰涼處,待約7天。
- (5) 以顯微鏡放大並拍照判定黴菌。

2.步驟 2 測試組實驗:

(1) 將裝有 250ml 蒸餾水的錐形瓶 1 瓶(以紗布包適量棉花塞住瓶口)、 9ml 蒸餾水試管 4 支(將蓋子半栓)、試管架及 tip(裝入盒子中並將 盒子用鋁箔紙包好)放入高溫高壓滅菌釜中,將水加熱形成高蒸氣壓 (1.2 kg/cm^2) ,溫度達 121%,滅菌約 30 分鐘。

- (2) 將器具表面噴酒精消毒後移至無菌操作台上。
- (3) 打開無菌操作台的布簾、UV 燈及風車 30~60 分鐘。
- (4) 將接種環用酒精棉片消毒並用火烤至變紅,冷卻後用接種環括取 SDA 培養基上的黑黴菌,加至裝有 250ml 蒸餾水錐形瓶中,攪拌使 其均勻,作爲原液。
- (5) 用微量吸管吸取 1ml 原液,加至裝有 9ml 蒸餾水試管中,形成 10 倍稀釋菌液,混合均匀,自 10 倍稀釋菌液以相同操作方式進行一系列之 100,1000,10000 倍之稀釋水樣,混搖均勻。
- (6) 用微量吸管吸取 0.5ml 各稀釋濃度水樣滴在 SDA 培養基上,旋轉培養皿至水樣均勻分布在培養基表面。
- (7) 將培養基放置於培養箱內,在37℃下培養7天。

(二) 結果:

表四:空氣和廁所黴菌稀釋倍數測試組實驗結果

稀釋	10	100	1000	10000
倍數				
菌落	9	0	0	0
數				
照片				Atmost

五、實驗 2-2 金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花萃取液對空氣及廁所黴菌的抑制效果

(一)實驗步驟:

1.步驟1 培養空氣黴菌:

- (1) 將 SDA 培養基打開置於空氣中 10 分鐘。
- (2) 放置於陰涼處,待約一周。
- (3) 用無菌棉花棒沾取 SDA 培養基上的黑黴菌,以 S 型輕塗在另一 SDA 培養基上。
- (4) 放置於陰涼處,待約7天。
- (5) 以顯微鏡放大並拍照判定黴菌。

2.步驟1 培養廁所黴菌:

(1) 用無菌棉花棒沾取廁所角落上的明顯黑處(見圖十六),以 S型輕塗在另一 SDA 培養基上。

- (2) 放置於陰涼處,待約一周。
- (3) 用無菌棉花棒沾取 SDA 培養基上的黑黴菌,以 S 型輕塗在另一 SDA 培養基上。
- (4) 放置於陰涼處,待約7天。
- (5) 以顯微鏡放大並拍照判定黴菌。



圖十六:廁所角落上的明顯黑處

3.說明:因爲經由顯微鏡放大拍照後,微生物專業人士判定本研究所採集 之空氣黴菌及廁所黴菌爲同種黴菌,故**本研究只取其一作爲實驗代** 表。

4.步驟 2 不同中藥萃取液對空氣及廁所黴菌的抑制效果實驗:

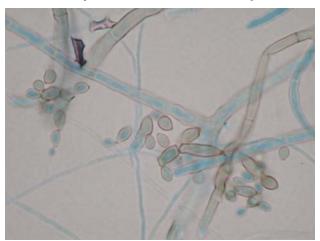
- (1) 中藥萃取液、去黴產品、對照組及空白組配置:五組爲原濃度中藥萃取液;五組爲 10 倍稀釋中藥萃取液、一組面去黴產品組、一組對照組及一組空白組。
 - A. 原濃度中藥萃取液:將金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及 雞冠花萃取液各取 9ml 於試管中,共五組。
 - B. 十倍稀釋中藥萃取液:將金銀花、苦參根、貝母、蛇床子 及雞冠花中藥萃取液各取 1ml 於試管中,加入 9ml 的蒸餾 水,混合均勻,各吸取 1ml 起來,共五組。
 - C. 去黴產品:將去黴產品原液取 9ml 於試管中,共一組。
 - D. 對照組:將原液取 1ml,加入 9ml 的蒸餾水,形成 10 倍稀 釋菌液,共一組。
 - E. 空白組:無加入任何東西的培養基,共一組。
- (2) 將裝有 250ml 蒸餾水的錐形瓶 1 瓶(以紗布包適量棉花塞住瓶口)、 9ml 蒸餾水試管 1 支(將蓋子半栓)、空試管(將蓋子半栓)、原濃 度中藥萃取液及 10 倍稀釋中藥萃取液 9ml 試管共 10 支(將蓋子半 栓)、試管架及 tip(裝入盒子中並將盒子用鋁箔紙包好)放入高溫 高壓滅菌釜中,將水加熱形成高蒸氣壓(1.2 kg/cm²),溫度達 121℃,滅菌約 30 分鐘。
- (3) 將器具表面噴酒精消毒後移至無菌操作台上。

- (4) 打開無菌操作台的布簾、UV 燈及風車 30~60 分鐘。
- (5) 將接種環用酒精棉片消毒並用火烤至變紅,冷卻後用接種環括取 SDA 培養基上的黑黴菌,加至裝有 250ml 蒸餾水錐形瓶中,攪拌使 其均勻,作爲原液。
- (6) 用微量吸管分別吸取 1ml 原液,加至裝有原濃度中藥萃取液 9ml、 10 倍稀釋中藥萃取液 9ml 及滅菌過蒸餾水 9ml 共 11 支試管中,形成 10 倍稀釋混合液。
- (7) 用微量吸管吸取 0.5mlA、B、C、D 分別滴在 SDA 培養基上,旋轉培養皿至水樣均勻分布在培養基表面。
- (8) 將培養基放置於培養箱內,在37℃下培養7天。

(二)結果:

1.判定黴菌:

(1) 空氣黴菌:屬於子囊菌門(Ascomycota)半知菌亞門(Deuteromycota)枝孢屬(Cladosporium)



圖十七:空氣黴菌 1000 倍放大圖

(2) 廁所黴菌:屬於子囊菌門(Ascomycota)半知菌亞門(Deuteromycota) 枝孢屬(Cladosporium)



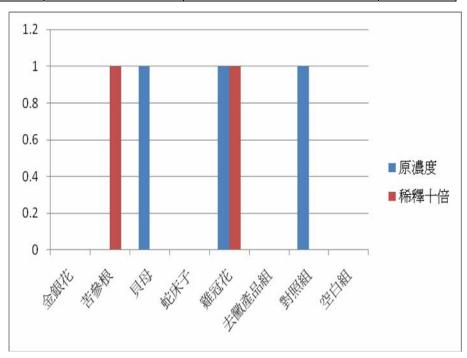
圖十八: 廁所黴菌 1000 倍放大圖

表七:不同中藥萃取液體對空氣及廁所黴菌的抑制效果結果

名稱	金銀花	苦參根	貝母	蛇床子	雞冠花
萃取液稀釋倍數	1	1	1	1	1
菌落數	無	無	1	無	1
萃取液稀釋倍數	10	10	10	10	10
菌落數	無	1	無	無	1

表八:去黴產品組、對照組及空白組實驗

名稱	去黴產品組	對照組(1000倍稀釋菌液)	空白組
菌落數	0	1	0



圖十九:不同中藥萃取液體對枝孢屬空氣及廁所黴菌的抑制效果結果圖表

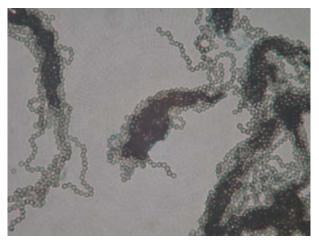
柒、實驗討論

一、黑黴菌是日常生活中最常見的黴菌種類之一,是厨房或廁所中形成黑點的元兇,所以在有限時間內選取黑黴菌來做實驗,未來希望實驗更多種黴菌,如: 青黴菌、水黴菌、木黴菌等。選取專門培養真菌的 Sabouraud dextrose agar (SDA),沙保氏葡萄糖培養基作爲實驗培養基。

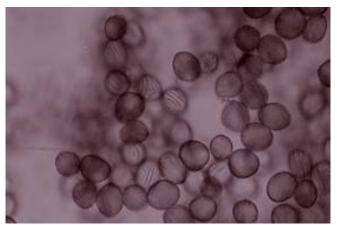
二、拍照初步判定黴菌

(一)討論:將培養的黴菌透過顯微鏡放大後拍照,比對圖片並請教微生物 科專業人士後判定本實驗培養之

(1) 麵包黴菌屬於接合菌門(Zygomycota)根黴屬(Rhizopus)

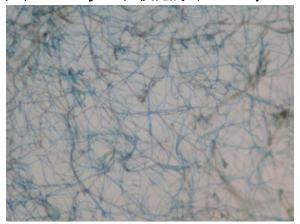


圖十四:麵包黴菌 1000 倍放大圖

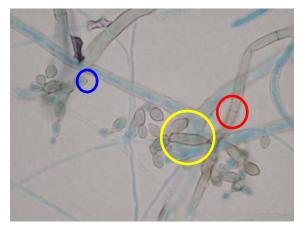


圖二十:根黴屬黴菌圖片【取自參考資料(二十八)】

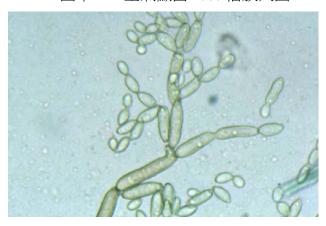
(2) 空氣黴菌屬於子囊菌門(Ascomycota)半知菌亞門(Deuteromycota)枝孢屬(Cladosporium)



圖二十一:空氣黴菌 400 倍放大圖

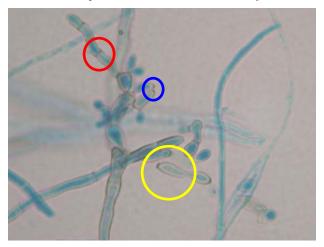


圖十七:空氣黴菌 1000 倍放大圖



圖二十二: 枝孢屬黴菌圖片【取自參考資料(二十九)】

(3) 廁所黴菌屬於子囊菌門(Ascomycota) 半知菌亞門(Deuteromycota) 枝孢屬(Cladosporium)



圖十八: 廁所黴菌 1000 倍放大圖

(4) 經由顯微鏡放大拍照後,微生物專業人士判定本研究所**採集之空氣黴菌及廁所黴菌爲同種黴菌,故本研究只取其一作爲實驗代表**。

三、實驗中藥材之篩選

(一)討論:透過參考本人參與之第四十六屆高雄市中小學科展作品「『藥草』in『細菌』out」研究中中藥對大腸桿菌抑菌效果,選取抑制大腸桿菌效果較佳的金銀花及貝母;中藥店老闆及研究中藥專業人士建議選擇中藥書籍中記載具有「殺蟲」功效的中藥苦參根、蛇床子及雞冠花,因爲自古以來中藥資料並不會特別記載具有「殺黴菌」功效,而是以「蟲」來泛指「細菌、黴菌及微生物」。

四、中藥萃取液製作

(一)討論:中藥店老闆建議**以燉鍋熬煮的方式最能將整個中藥的菁華皆萃取出來**,並且維持相等的濃度(木質的中藥會吸收較多水,所以以「加水至蓋過藥材熬煮」的方式,約600ml,最後煮出來接會是一碗水的量,約250ml),經測量後結果確認此五種中藥萃取液的pH值皆偏酸性。

五、實驗 1-1、1-2 黴菌稀釋倍數測試組

- (一)討論:經實驗後結果發現當麵包黴菌僅稀釋 10 倍時,長出來的菌落數會過多,導致實驗結果計數不方便,而稀釋 10000 倍時,菌落數太少,會導致實驗結果沒有判別性,因此往後將選擇較理想之稀釋 1000 倍 (54 個菌落)來做實驗;當空氣及廁所黴菌僅稀釋 10 倍時,長出來的菌落數有 9 個,而稀釋 100、1000、10000 倍時,菌落數爲 0,因此選擇較理想之稀釋 10 倍來做實驗。
- 六、實驗 2-1 金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花萃取液對麵包黴菌的抑制效果

(一) 討論:

- 1.從實驗結果可知,金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花萃取液對麵包黴菌的抑制皆有效果,其中以<mark>蛇床子與金銀花效果較佳</mark>,蛇床子可達 71%,金銀花可達 60%;雞冠花、苦參根其次,尙達 50%;貝母則效果最差,但貝母稀釋十倍後效果也可達 60%。從不同中藥其含化學成分整理發現,除蛇床子不含酮類外,這五種中藥皆含有醇類及酮類,金銀花、貝母及蛇床子皆含有 β-谷甾醇 (β-sitosterol),雞冠花也含有甾醇類;苦參根與雞冠花皆含有黃酮類化合物,從表二之整理也發現這五種中藥有「寒」、「苦」的特性,推測這些成分和特性與抑菌效果是否有關聯性,可再進一步研究。已有研究證明蛇床子中的花椒毒酚具有顯著的抗黴菌作用,但並未表示爲哪種黴菌。(參考附件一紅色標示成份)
- 2.在對不同濃度的研究中,貝母明顯於稀釋倍數較高時,抑菌效果反而較佳,與第四十六屆高雄市中小學科展作品「『藥草』in『細菌』out」研究中貝母對大腸桿菌抑菌效果以稀釋倍數越高越好之結果不謀而合,推測其對於抑菌具有「有效濃度」,而非濃度越高越佳。從

其它四種中藥的結果也顯示濃度對抑菌效果具有一定的影響力,往 後可再更深入的研究。

- 七、實驗 2-2 金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花萃取液對空氣及廁所黴 菌的抑制效果
 - (一)討論:從實驗結果可知,<mark>蛇床子與金銀花效果最佳</mark>,苦參根與貝母其次, 雞冠花效果最差,其中貝母於稀釋倍數較高時,抑菌效果又前述一樣較 佳,除前述推論之外,也有可能這就是貝母的特性。所以在原濃度時, 苦參根的抑制效果較貝母佳;在稀釋十倍時,貝母的抑制效果較苦參根 佳,可進一步做實驗探討。

八、綜合討論:

- (一)蛇床子及金銀花在本實驗中的兩種黴菌皆有不錯的抑制效果,而雞冠花 對麵包黴菌的抑菌率有近60%,但對於空氣及廁所的黴菌則是最差,推 測可能是雞冠花本身對根黴屬及枝孢屬黴菌有不同的抑制效果。
- (二)根據本實驗,金銀花對黴菌的抑制效果亦佳,且根據文獻(三)金銀花 對大腸桿菌抑菌率高達 99.9%,所以金銀花可能對黴菌及細菌是絕佳的 天然抑菌劑。
- (三)承上,本實驗結果顯示<mark>蛇床子對黴菌抑制效果較金銀花佳</mark>,也許對細菌 亦有很好的抑制效果,希望以後能進行實驗驗證。

九、金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花萃取液與市售去黴產品成本與效果 比較。

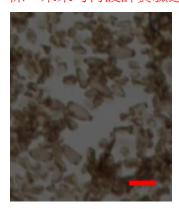
表九:金銀花、苦參根、貝母、蛇床子及雞冠花萃取液與市售去黴產品成本與效果比較表

項目上較		麵包黴菌(根黴屬)	空氣及廁所黴菌(枝孢屬)	每 100ml 成
	•	抑菌率	抑菌率	本約(元)
金銀花	原濃度	60%	1/1≒100%	240
	稀釋 10 倍	52%	1/1≒100%	24
苦參根	原濃度	54%	1/1≒100%	12
	稀釋 10 倍	39%	0/1≒0%	1.2
貝母	原濃度	38%	0/1≒0%	36
	稀釋 10 倍	59%	1/1≒100%	3.6
蛇床子	原濃度	71%	1/1≒100%	12
	稀釋 10 倍	64%	1/1≒100%	1.2
雞冠花	原濃度	57%	0/1≒0%	24
	稀釋 10 倍	46%	0/1≒0%	2.4
去黴產品	原濃度	96%	1/1≒100%	27.8

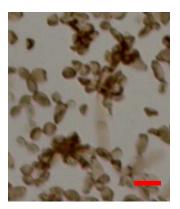
抑菌率:(對照組菌落數-菌落數)/對照組菌落數中藥萃取液每 100ml 成本: 100g 價格/250ml×100ml 去黴產品每 100ml 成本: 市價 139 元/500ml×100ml

經比較後可知,蛇床子、金銀花及雞冠花對於根黴屬麵包黴菌有不錯的抑制 效果,蛇床子抑制效果有超過71%,無論在原濃度或稀釋十倍的蛇床子及雞冠 花和稀釋十倍的金銀花,其成本皆較市面上去黴產品低;蛇床子及金銀花對於枝 孢屬空氣及廁所黴菌有抑制效果,除原濃度金銀花之外,中藥萃取液的成本皆比 市面上去黴產品低。貝母稀釋十倍的情況下有比原濃度較好的抑制效果,推論其 的濃度還可再降低,成本亦可隨之再下降。綜合以上結果及比較分析,蛇床子及 金銀花對於根黴屬的麵包黴菌及枝孢屬的空氣及廁所黴菌都有不錯的抑制效 果,爲透過定量實驗證實出符合天然、低成本、不傷手、無污染、抑制效果佳等 優點的中藥萃取液,可廣泛應用於環境及飼料去黴方面。 十、探究原因

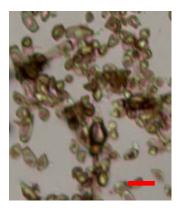
(一)討論:很多抑菌的原理都是滲透壓的關係如:75%的酒精抑菌效果最好, 所以想透過微觀的方式觀察其抑制黴菌原理,經照片比較後可發現,不 論是空氣及廁所中的黴菌,或是麵包中的黴菌,其孢子在加入蛇床子或 金銀花原濃度萃取液後,都有萎縮的趨勢,而呈現加水>無外加任何物 質>加稀釋十倍萃取液>加原濃度萃取液,而貝母則是加原濃度萃取液 >加稀釋十倍萃取液,剛好可與其稀釋倍數較高時抑制效果較好做呼 應,將三者比較時,呈現蛇床子<金銀花<貝母,且抑制效果爲蛇床子 >金銀花>貝母,故推測滲透壓及孢子萎縮程度與抑制黴菌效果有關 係,未來可再設計實驗進一步探討。



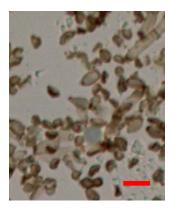
圖二十三: 廁所黴菌加水 1000 倍放大圖



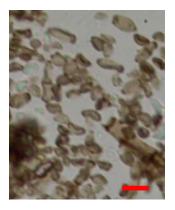
圖二十四: 廁所黴菌 1000 倍放大圖



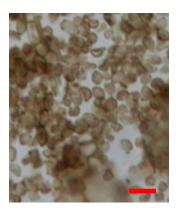
圖二十五: 廁所黴菌加十倍稀釋蛇床子 圖二十六: 廁所黴菌加原濃度蛇床子 萃取液 1000 倍放大圖



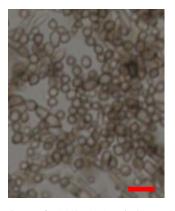
萃取液 1000 倍放大圖 - 21 -



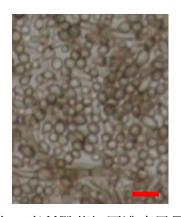
圖二十七:廁所黴菌加十倍稀釋金銀花 萃取液 1000 倍放大圖



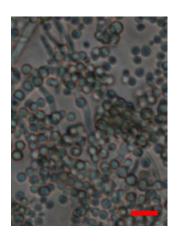
圖二十八: 廁所黴菌加原濃度金銀花 萃取液 1000 倍放大圖



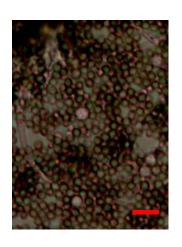
圖二十九: 廁所黴菌加十倍稀釋貝母 萃取液 1000 倍放大圖

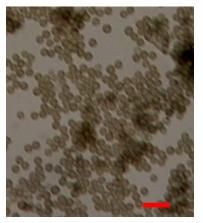


圖三十: 廁所黴菌加原濃度貝母 萃取液 1000 倍放大圖

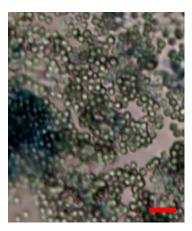


圖三十一:麵包黴菌加水 1000 倍放大圖 圖三十二:麵包黴菌 1000 倍放大圖

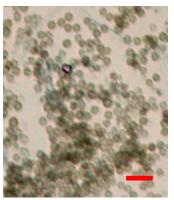




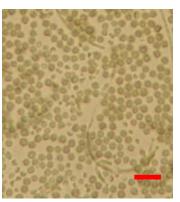
圖三十三:麵包黴菌加十倍稀釋蛇床子 萃取液 1000 倍放大圖



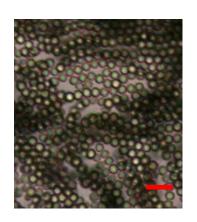
圖三十四:麵包黴菌加原濃度蛇床子 萃取液 1000 倍放大圖



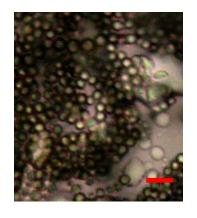
圖三十五:麵包黴菌加十倍稀釋金銀花 萃取液 1000 倍放大圖



圖三十六:麵包黴菌加原濃度金銀花 萃取液 1000 倍放大圖



圖三十七:麵包黴菌加十倍稀釋貝母 萃取液 1000 倍放大圖



圖三十八:麵包黴菌加原濃度貝母萃取液 1000 倍放大圖

十一、檢討

- (一)在前幾次實驗中,經歷多次失敗,如:使用接種環時因環太燙而將 黴菌殺死、蒸餾水因剛從滅菌釜中取出溫度太高以致黴菌無法存 活、黴菌稀釋倍數太低以致菌落數過多無法紀錄結果、無菌處理沒 做好導致長出五顏六色的黴菌等,從過程中學取經驗,改進後使本 次實驗能在時間限制下有初步結果,期望未來能將實驗控制的更精 進更有實證件。
- (二)在等待實驗結果中,無意發現黑黴菌在二十五、六度室溫下培養速度較於37℃下快。在本實驗中黑黴菌約需7日培養時間,較一般說的3~5日有所出入,可能就是溫度的差異,期以後改進。
- (三)實驗 2-2 中,對照組所長出的菌落僅一個,可能是實驗中所括取的 黴菌區塊的黴菌已經死亡或括取的孢子尚未活化,未來會注意被取 用黴菌的生長狀況,進而增加實驗精確度。

捌、結論

- 一、 實驗之五種中藥萃取液對根黴屬麵包黴菌抑制效果爲蛇床子>金銀 花>雞冠花>苦參根>貝母。
- 二、 實驗之五種中藥萃取液對枝孢屬空氣及廁所黴菌抑制效果爲蛇床子 =金銀花>苦參根≒貝母>雞冠花。
- 三、蛇床子及金銀花的中藥萃取液對於根黴屬的麵包黴菌及枝孢屬的空氣及廁所黴菌抑制效果皆佳,其中,金銀花對枝孢屬的空氣及廁所黴菌抑制率近乎 100%,而蛇床子對根黴屬麵包黴黴菌抑制率可達 71%,對枝孢屬空氣及廁所黴菌的抑制效果近乎 100%。
- 四、 貝母萃取液於稀釋倍數較高時,抑菌效果較佳,其對於抑菌具有「有效濃度」,而非濃度越高越佳。
- 五、 不同濃度中藥萃取液對其抑制黴菌效果有一定影響。
- 六、 <u>對黴菌抑制率最佳的蛇床子除了本身成本較低,且有效濃度也較</u> 低,故成本爲五種中藥最低,最具經濟效益。
- 七、中藥萃取液對於黴菌的抑制效果與滲透壓及孢子萎縮程度有關。
- 八、 蛇床子及金銀花的中藥萃取液對於黴菌抑制效果佳,雖然去黴產品 黴菌抑制效果亦佳,但市面上去黴產品成本較高,本實驗之中藥萃取液有 符合天然、低成本、不傷手、無污染等優點。

玖、未來展望

- (一)研究不同中藥抑制青黴菌的效果。
- (二)以更細微的角度研究中藥殺死黴菌的方法及過程。
- (三)分析出中藥中所含能抑制黴菌的物質。
- (四)研究中藥有效抑制黴菌之最低濃度。
- (五)多種中藥混合萃取液抑制黴菌的效果。
- (六)研究更多種不同中藥抑制黴菌的效果。
- (七)研究不同中藥抑制更多不同種黴菌的效果。
- (八)研究不同中藥處理方式抑制黴菌的效果。
- (九) 蛇床子對細菌的抑制效果。
- (十)研究不同濃度中藥萃取液抑制黴菌的效果。
- (十一) 進一步研究滲透壓及孢子萎縮程度與中藥萃取液對於黴菌 抑制效果的關係。

拾、參考資料

一、書籍

- (一)施河、黃啓穎主編。2010。普通高級中學基礎生物上冊。98 頁~100 頁。 南一書局。臺南。
- (二) 李一宏博士精編。1997。點校經編 本草備要。55~56 頁、174~175 頁、190~191 頁。明師出版公司。台北。
- (三)第四十六屆高雄市中小學科展作品「『藥草』in『細菌』out」
- (四) Neil A.Campbell&Jane B. Reece (2002), Biology, 6th ed., pp. 763-779, Pearson Education.Inc.
- (五) Liisa Tormakangas, Pia Vuorela, Elise Saario, Maija Leinonen, Pekka Saikku and Heikki Vuorela, "In vivo treatment of acute *Chlamydia pneumoniae* infection with the flavonoids quercetin and luteolin and an alkyl gallate, octyl gallate, in a mouse model," *Biochemical Pharmacology*, Vo1. 70, Issue 8 (15 October 2005), pp. 1222-1230。
- (六) Kumiko Horiuchi, Sumiko Shiota, Tsutomu Hatano, Takashi Yoshida, Teruo Kuroda and Tomofusa Tsuchiya, "Antimicrobial Activity of Oleanolic Acid from *Salvia officinalis* and Related Compounds on Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE)," *Biological & Pharmaceutical Bulletin* Vol. 30, No. 6 (2007), pp. 1147-1149); Suspensaside (見 *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* Vol. 30 (1982), pp. 4548-4553。

二、網頁

(七)金銀花,2010/12/20,取自:

http://www.cses.tcc.edu.tw/~tiwngien/picture%20datas/flower/f043.jpg

(八)貝母, 2010/12/20, 取自: http://gtoc.ningbo.gov.cn/picture/0/060814110334591.jpg

(九)蛇床子,2010/12/20,取自:

http://img.bimg.126.net/photo/1iCR4nK8AZmeIjK6rZNv6Q==/1999879709529819075.jpg (十) 苦參根,2010/12/20,取自:

http://www.yuancailiao.net/uploadfiles/2010/1/26/20100126104939.jpg

(十一)雞冠花,2010/12/20,取自:

http://www.99166.com/article/UpLoadFile/UploadFile/200962591659286.jpg

(十二)《神農本草精贊》,2010/12/15,取自:

http://db.39kf.com/zhongyiguji/35/shennongbencaojingzan/index.shtml?16925

(十三)《醫學微生物學》,2010/12/15,取自:

http://www.39kf.com/cooperate/book/05/14/2006-01-13-164032.shtml

(十四)中藥大全,2010/12/15,取自:

http://www.39kf.com/medicine/pro/zy/jianding/01/2006-12-06-290279.shtml

(十五)《新化高中生物網路教室》,2009/11/02,取自:

http://210.60.246.140/bio/new_page_1769.htm

(十六)蔡幸滿、莊雅婷。黴菌在身邊。黑黴菌,2010/12/22,取自:

http://www.shs.edu.tw/works/essay/2009/11/2009111217021652.pdf

(十七)金銀花化學成分,2010/12/22,取自:

http://big5.huaxia.com/zt/sh/07-054/598798.html

(十八)蛇床子化學成分,2010/12/22,取自:

http://www.hudong.com/wiki/%E8%9B%87%E5%BA%8A%E5%AD%90

(十九)金銀花,2010/12/22,取自:http://www.epochtimes.com/b5/6/11/3/n1509080.htm

(二十)金銀花,2010/12/22,取自:

http://www.e2121.com/herb_db/viewherb.php3?viewid=112&setlang=2

(二十一)雞冠花化學成分,2010/12/22,取自:

http://www.hudong.com/wiki/%E9%B8%A1%E5%86%A0%E8%8A%B1

(二十二)苦參根化學成分,2010/12/22,取自:http://baike.baidu.com/view/29032.htm

(二十三) 浙貝母,2010/12/22,取自:

http://www.e2121.com/herb_db/viewherb.php3?setlang=2&viewid=439

(二十四)根黴屬黴菌,2011/3/14,取自:http://www.hudong.com/wiki/根霉属

(二十五)環境黴菌,2011/3/14,取自:

http://www.lapislazuli.org/TradCh/magazine/200302/20030202.html

(二十六)根黴屬黴菌,2011/3/14,取自:http://en.wikipedia.org/wiki/Rhizopus

(二十七) 枝孢屬黴菌, 2011/3/14, 取自: http://zh.wikipedia.org/zh-hant/枝孢属

(二十八)根黴屬黴菌圖,2011/3/14,取自:

http://www.google.com.tw/images?hl=zh-TW&biw=1024&bih=625&gbv=2&tbs=isch%3A1&sa=1&q=Rhizopus&btnG=搜尋&aqi=g1&aql=&oq=

(二十九) 枝孢屬黴菌圖,2011/3/14,取自:

http://www.google.com.tw/imgres?imgurl=http://mycota-crcc.mnhn.fr/image/ImageMicroscope/CladosporiumCladosporoïdesMicroscope1.jpg&imgrefurl=http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/specie.php%3FidE%3D101&usg=__yvSBr0lO73Tid6yVyDKj4xS0w8M=&h=51 2&w=773&sz=67&hl=zh-TW&start=25&sig2=kYx_PCmQ25kWo3Ei6Idhrg&zoom=1&tbnid=kKhLQFiiqWcrLM:&tbnh=144&tbnw=195&ei=E31_TYzlGY_ovQP-no3nBw&prev=/images%3Fq%3DCladosporium%26hl%3Dzh-TW%26sa%3DG%26biw%3D1024% 26bih%3D625%26gbv%3D2%26tbs%3Disch:10%2C844&itbs=1&iact=hc&vpx=325&vpy=296&dur=759&hovh=183&hovw=276&tx=205&ty=113&oei=m3x_TZrrBIykugPt4qjoBw&page=3&ndsp=12&ved=1t:429,r:1,s:25&biw=1024&bih=625

LITII	. 1 .1-	引中榮兵近代榮珪及醫学学們附先登理
金銀花	1.	金銀花具有廣譜抗菌作用,對金黃色葡萄球菌、痢疾杆菌、溶血
		性鏈球菌、痢疾桿菌、傷寒桿菌、腦膜炎雙球菌、肺炎雙球菌、
		綠膿桿菌以及流感病毒等都有明顯抑製作用,對鉤端螺旋體、流
		感病及致病霉菌等多種病原微生物亦有抑制作用;有明顯抗炎及
		解熱作用;金銀花的水及酒浸液對肉瘤液化氣對肉瘤 180 及艾
		氏腹水瘤有明顯的細胞毒作用。
	2.	金銀花中的木 <mark>犀黃色精 (Luteolin), 能夠對付多種細菌</mark> ,尤其是
		很能入侵肺組織的 Pseudomonas 和 Clamydia 兩類
	3.	金銀花有一定的降低膽固醇作用。
苦參根	1.	抗菌作用: 苦參<mark>醚提物</mark>及<mark>醇提物</mark>對金黃色葡萄球菌有較強的
		抑菌作用;苦參水浸劑對堇色毛癬菌、同心性毛癬菌、許蘭
		毛癬菌、奧杜盎小芽孢癬菌等有抑製作用。 體外試驗證明、
		1%苦參鹼對痢疾桿菌、大腸桿菌、變形桿菌、乙型鏈球菌
		及金黃色葡萄球菌均有明顯抑製作用。醇浸膏在體外尚有抗
		滴蟲作用、強度弱於黃連、而與蛇床子相近 。在試管中、苦
		參煎劑高濃度 $(1:100)$ 對結核桿菌有抑製作用 \cdot 煎劑 (8)
		%)、水浸劑($1:3$) 在體外對某些常見的皮膚真菌有不同
		程度的抑製作用。
	2.	苦參鹼體內外均有抗菌作用,體內作用強度與氯黴素相當。
	3.	抗腫瘤作用。
貝母	1.	浙貝母碱及去氫浙貝母碱有明顯的鎮咳作用。
	2.	浙貝母碱在低濃度下對支氣管平滑肌有明顯的擴張作用。
	3.	中樞抑制作用及鎭靜、鎭痛作用。
蛇床子	1.	蛇床子中醫外用治療滴蟲性陰道炎。
	2.	抗真菌作用:蛇床子素、佛手柑內酯和異虎耳草素體外試驗對發
		癬菌的鬚髮癬菌有強的活性; <mark>花椒毒酚</mark> 具有顯著的抗黴菌作用。
	3.	殺孑孓將蛇床子投入污水中即可殺滅孑孓。
	4.	治療孕婦鉅細胞病毒感染:鉅細胞病毒是一種疱疹病毒,普通人
		感染多數無症狀,但孕婦感染常導致流產、死胎或死產,活產兒
		也常出現先天性心臟病、中樞神經系統畸形以及智力遲鈍等。
	5.	治療外陰白斑。
雞冠花	1.	試管法證明,本品煎劑 對人陰道毛滴蟲有良好殺滅作用 ,10%煎
		劑加等量陰道滴蟲培養液,30分鐘時蟲體變圓,活動力減弱,60
		分鐘時大部分蟲體消失;20%煎劑可使蟲體5-10分鐘內消失。

【評語】040801

本研究針對五種中藥材做抑制黴菌效能的研討,實驗方法恰當,討論內容亦頗明確,尤其針對一些現象的探討,惟若能針對五種中藥材所含重要化學成份與發現之特殊現象 做綜合討論則更佳。