

台灣二〇〇五年國際科學展覽會

科 別：微生物學

作品名稱：天然 A 尙好-

探討天然果實無患子的殺菌力與時效性

學 校：臺北市私立延平高級中學

作 者：李昫軒、蔡岳霖

作者簡介

從小我有一個成績優秀的好哥哥，因為他在台北市私立延平中學的表現很令父母及師長滿意，因此我在哥哥炫麗的保護傘之下，肩負著父母的期望以及師長的肯定，理所當然進入同一所學校就讀。

國一時，我的生物科教師是一位很年輕的留美碩士，她的教學態度嚴謹，教學內容豐富，讓我印象深刻，很希望將來能像老師一樣，追求生物科技。國三時，我主動找生物老師，在老師的指引下，得以進行油污分解細菌的純化與分離之實驗，並參加第三十六屆台北市科展，獲得佳作。我希望將來能繼續從事生命科學的研究與探討。

姓名：蔡岳霖

性別：男

學校：台北市私立延平中學

年級：高中部二年級

生日：77年1月9日

排行：老么，有一哥哥

興趣：打球、單車

電話：(02)2365-3700

地址：台北市溫州街16巷12號3樓



作者簡介

從小開始我對自然科學很有興趣，爸媽訂購的小牛頓是伴我度過童年歲月的最佳良師，書中對動植物的介紹，喚起我對動物飼養的悸動，例如蝴蝶、小魚、小烏龜、小鳥等，都是我的最佳良友。

爸媽對我的要求很嚴謹，因此送我就讀台北市私立延平中學，國中部一年級時，我的導師是一名生物老師，在她的教導下，我深深感覺生命科學的廣博與豐富，決心將來從事生物醫學的研究。後來國三時，由於成績優異，得以進入本校高中部直升班。我目前為高中部二年級第三類組的學生，在生物老師的鼓勵下，得以參與這次無患子果實之殺菌力的實驗及探討，相信這些實驗經驗及邏輯方法，有助於我將來在大學學府中學習生物科技的能力。

姓名：李昀軒

性別：男

學校：台北市私立延平中學

年級：高中部二年級

生日：76年10月18日

排行：老大，有一弟弟

興趣：鋼琴、爬山

電話：(02)2893-6780

地址：台北市北投區雙全街48巷7號4樓

電話：(02)2893-6780

地址：台北市北投區雙全街48巷7號4樓



二〇〇五年台灣國際科學展覽會 研究報告

區 別：北區

科 別：微生物學科

作品名稱：天然A尚好 探討天然果實無患子的殺菌力與時效性

關 鍵 詞：無患子、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌

編 號：



Abstract

The natural fruits of soap berry are worth-while detergent in the aspect of environmental conservation. It has been shown that the soap berry fruits can reduce the itching of head and inhibit the growth of fungi. Here we would like to test the inhibitory activity of soap berry fruits on the bacteria. This might benefit to the further application of the soap berry fruits.

First, the soap berry extract was prepared and mixed with *E.coli* or *S. aureus*. The number of bacteria was counted to realize the inhibitory activity of the soap berries. We found that the soap berry extract can inhibit the growth of *E.coli* and *S. aureus*. Higher concentration of the soap berry extract and longer duration for the mixture make better inhibitory activities.

摘要

天然的**無患子**果實是一種極具**環保價值**的清潔劑，已知它有抑制**黴菌**生長的能力，可以去頭皮屑、止頭皮癢。因此，我們想進一步探討無患子果實對於**細菌**生長的抑制能力，以期了解無患子清潔劑在廣泛推廣上的應用價值。

在實驗設計上，我們自製無患子萃取液，並選擇日常生活中常見的**大腸桿菌**及**金黃色葡萄球菌**，並然後使菌液與適量的無患子萃取液混合，計算菌液在加入無患子之前、後的細菌個數，藉以了解無患子的殺菌力。我們發現無患子萃取液對大腸桿菌及金黃色葡萄菌有明顯的殺菌力，且無患子濃度愈高、作用時間愈長，**殺菌力愈好**。

一、研究動機

有一天，從新聞中得知南投縣有一位年約八十歲的老婆婆，她從小用山林中撿來的**無患子果實**洗頭，至今仍是一頭烏黑亮麗的頭髮，而且她從來沒有頭皮屑及頭皮癢的問題。

當我們讀到國中生物課本第十二章，我們了解到「地球只有一個」，而且努力作好環境保育，是每一個人的責任。近來，**環境保育**的課題逐漸受到人們重視，大家發現許多**合成清潔劑**在達到清潔的效果之後，常常由於不易分解而造成**環境污染**，然後在食物鏈的轉移過程中，累積在各階層的生物體內，對於生物的健康影響很大。

於是，我們開始思考，是否可以找到一種既有清潔的效果，又不會造成環境污染的天然清潔劑？恰巧，新聞報導中的無患子，似乎正是我們急欲追求的**天然清潔劑**。因此，我們想進一步了解無患子這種天然果實對於人體皮膚的影響及清潔效果。由於相關資料已顯示無患子可以抑制**黴菌**生長，因此我們將殺菌力的探討放在抑制**細菌**生長的主題上。

二、研究目的及研究問題

生活環境中處處充滿細菌，不論是居家灑掃、園藝工作、或是走向大自然，我們的雙手或多或少都會接觸到細菌，甚至於我們的消化道中也有一些共生性細菌。我們將選擇日常生活中常見的大腸桿菌及金黃色葡萄球菌，並自行製備無患子萃取液，以檢驗無患子對大腸桿菌及金黃色葡萄球菌的殺菌力。

根據細菌的生長曲線，我們知道細菌的族群生長過程可分為適應期、對數期、及穩定期。由於我們初步的實驗結果顯示無患子對於不同生長時期的細菌，有不同程度的殺菌力，因此，我們將分別選取細菌生長曲線中的穩定期、或對數期的大腸桿菌、或金黃色葡萄球菌的菌液，加入不等量的無患子萃取液，數分鐘後，檢驗細菌個數變化量與無患子含量的關係，以了解無患子的殺菌力。同時，我們將於菌液中加入等量的無患子萃取液，每隔數分鐘取出菌液，檢驗細菌個數變化量與時間的關係，以了解無患子的殺菌速率。

另外，市面上所購買的無患子皂乳中，常含有香精及油脂等添加物，除了增加產品的香味之外，亦有穩定造乳、防止腐敗、及長期保存的功效。然而，這些人工添加物的成分，由於長時間難以被微生物分解，無形之中也增加了環境的負擔，在生態保育上是一個值得注意的課題。

天然果實無患子在自然界中會由於微生物的分解作用而逐漸腐敗、消失，不會造成環境負擔及污染的問題，而我們自製的無患子萃取液在沒有特別穩定及防腐的處理下，保存期間有多長？無患子萃取液將於多久之後失去殺菌力？即無患子的時效性有多久呢？

因此，我們將使自製的無患子萃取液在室溫下的開放空間中靜置數週、甚至數月，然後根據上述方法來檢驗其殺菌力，以了解無患子萃取液的時效性。

三、研究方法或過程

(一) 無患子萃取液的製備

1. 將無患子的果肉剝開，除去其中的種子。
2. 將果肉稱重，置於 500ml 的燒杯中，加入適量的水並加熱。
3. 加熱過程中持續攪拌，趁熱過濾。
4. 以活性炭除去濾液中的雜質，趁熱過濾。
5. 重複步驟 4 數次。
6. 於室溫下靜置冷卻，使溶液逐漸分層。
7. 除去水層，留下之淡黃色的無患子汁液，即為無患子萃取液。

(二) 無患子的最佳殺菌濃度之檢驗

1. 以滅菌的牙籤挑選某一細菌的菌落，接種於 LB 培養液中，置於 37 培養箱內，以 200 rpm 轉速震盪培養 20 小時，即得隔夜菌液。
2. 取 1 ml 隔夜菌液，加入 2ml 不同濃度的無患子萃取液，均勻混合後，於 37 培養箱內，以 200 rpm 轉速震盪培養 10 分鐘。
3. 取 0.1 ml 混合液，經適當稀釋後，以滅菌的 L 形玻棒將混合液平均塗於 LB 培養基上，置於 37 培養箱內 24 小時。
4. 計算菌落數目，並推算混合液中細菌濃度。

(三) 無患子的最佳殺菌時間之檢驗

1. 以滅菌的牙籤挑選某一細菌的菌落，接種於 LB 培養液中，置於 37 培養箱內，以 200 rpm 轉速震盪培養 20 小時，即得隔夜菌液。
2. 取 1 ml 隔夜菌液，加入 2 ml 無患子溶液中，均勻混合後，於 37 培養箱內，以 200 rpm 轉速震盪培養。

3. 在不同時間點(0、10、20、30、60 分鐘), 分別取出 0.1 ml 混合液, 經適當稀釋後, 以滅菌的 L 形玻棒將混合液平均塗於 LB 培養基上, 置於 37 培養箱內 24 小時。
4. 計算菌落數目, 並推算混合液中細菌濃度。

(四) 無患子的時效性之檢驗

1. 使自製的無患子萃取液在室溫下的開放空間中靜置數週至數月。
2. 重複上述(二)、(三)部分的實驗, 以了解無患子的時效性。



四、研究結果與討論

(一) 無患子萃取液對大腸桿菌有良好的殺菌力

我們於培養 20 小時的大腸桿菌中加入無患子萃取液，發現大腸桿菌於 30 分鐘內，由於無患子萃取液的作用，細菌個數隨無患子濃度增加而逐漸減少（圖 1）。很顯然，無患子萃取液可使大腸桿菌生長速度減慢，甚至死亡；也就是說，無患子萃取液對大腸桿菌有良好的殺菌力。

我們比較加入無患子萃取液之前的細菌個數、以及加入無患子萃取液之後的細菌個數，計算無患子萃取液於一定時間內對細菌個數的影響。我們定義細菌在此一定時間內的增殖率為：

$$\text{增殖率 (\%)} = \frac{\text{後來的細菌個數} - \text{原來的細菌個數}}{\text{原來的細菌個數}} \times 100 \%$$

我們可以理解的是，當細菌快速增殖時，表示無患子的殺菌力不佳，相反地，當細菌的增殖受到抑制時，表示無患子的殺菌力良好。因此，我們將無患子的殺菌力定義為細菌的「**負增殖率**」。

於是，我們分析不同濃度的無患子萃取液及其殺菌力，並繪製圖形，發現無患子萃取液對大腸桿菌有良好的殺菌力，且殺菌力與無患子萃取液的濃度之間呈**正相關**（圖 2）。

另外，我們在若干時間點（0、10、20、30、60 分鐘）檢驗大腸桿菌的個數，並計算大腸桿菌的增殖率，以了解無患子萃取液的最佳殺菌時間。我們發現無患子萃取液對大腸桿菌確實有良好的殺菌力，其殺菌力於 10 分鐘達到將近 **80%** 的成效，且時間增長，殺菌力更加，於 30 分鐘達到最佳殺菌成效（圖 3、4）。

(二) 無患子萃取液對金黃色葡萄球菌有良好的殺菌力

我們於培養 20 小時的金黃色葡萄球菌中加入無患子萃取液，發現金黃色葡萄球菌於 30 分鐘內，由於無患子萃取液的作用，細菌個數隨無患子濃度增加而逐漸減少(圖 5)。很顯然，無患子萃取液可使金黃色葡萄球菌生長速度減慢，甚至死亡；也就是說，無患子萃取液對金黃色葡萄球菌有良好的殺菌力。

我們定義無患子的殺菌力為細菌的「負增殖率」，而細菌的增殖率也如前所述。

於是，我們分析不同濃度的無患子萃取液及其殺菌力，並繪製圖形，發現無患子萃取液對金黃色葡萄球菌有良好的殺菌力，且殺菌力與無患子萃取液的濃度之間呈正相關(圖 6)。

另外，我們在若干時間點(0、10、20、30、60 分鐘)檢驗金黃色葡萄球菌的個數，並計算大腸桿菌的增殖率，以了解無患子萃取液的最佳殺菌時間。我們發現無患子萃取液對金黃色葡萄球菌確實有良好的殺菌力，其殺菌力於 10 分鐘達到將近 100% 的成效，且殺菌成效可維持約 60 分鐘(圖 7、8)。

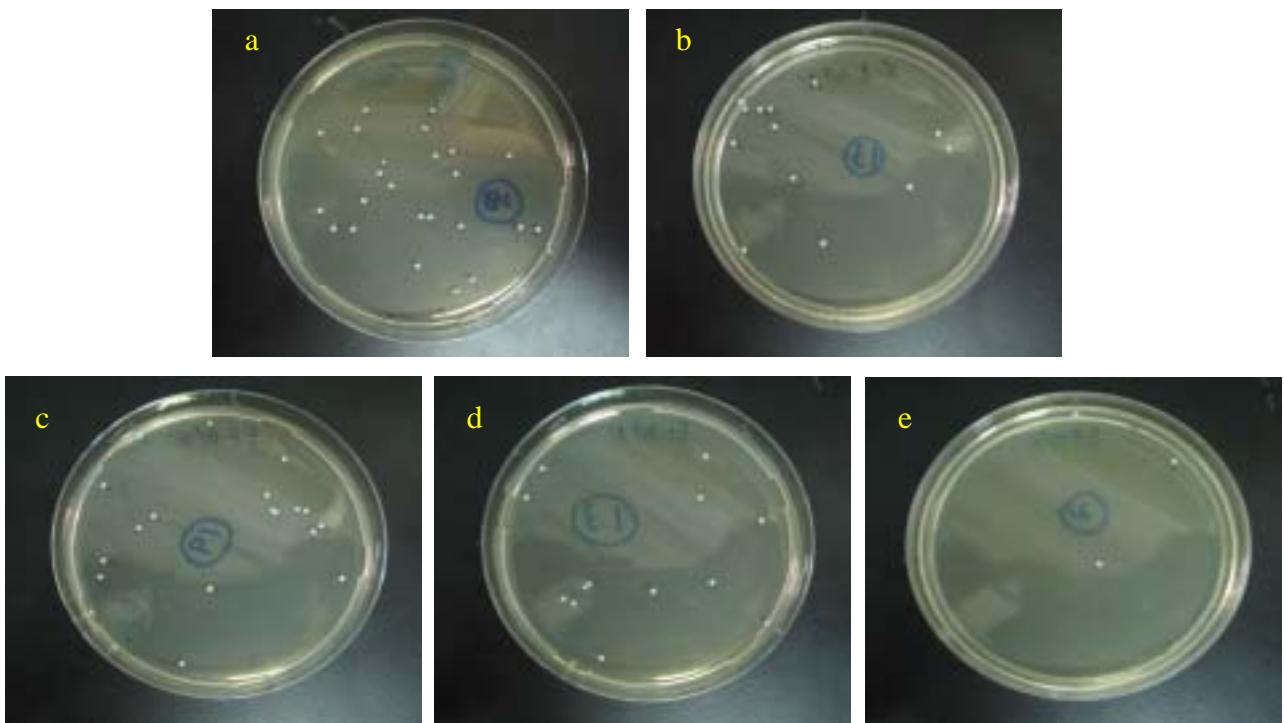


圖 1. 無患子萃取液的濃度及其對大腸桿菌的殺菌力。a.0%無患子萃取液；b.25%無患子萃取液；c.50%無患子萃取液；d.75%無患子萃取液；e.100%無患子萃取液。

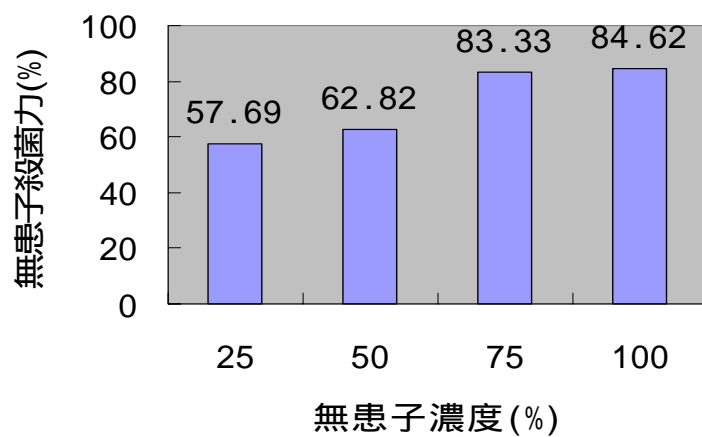


圖 2. 無患子萃取液的濃度及其對大腸桿菌的殺菌力

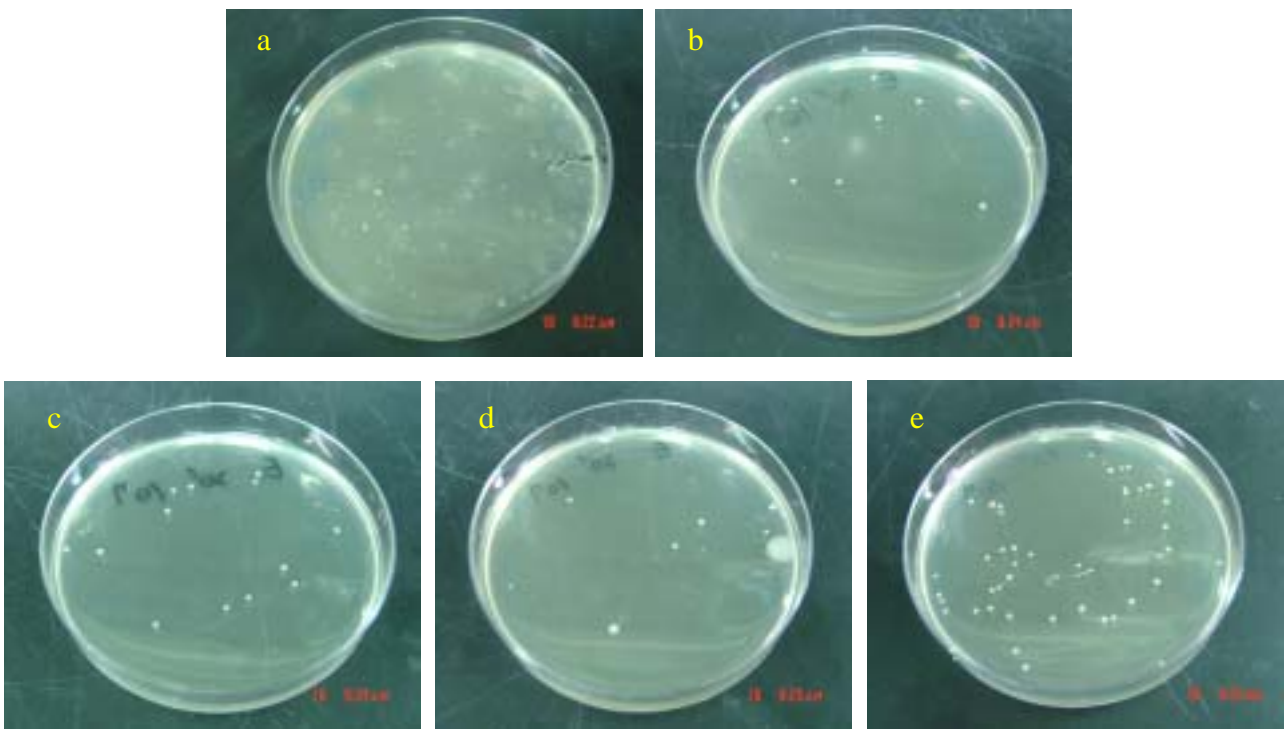


圖 3. 無患子萃取液的作用時間及其對大腸桿菌的殺菌力。a.0 分鐘；b.10 分鐘；c.20 分鐘；d.30 分鐘；e.60 分鐘。

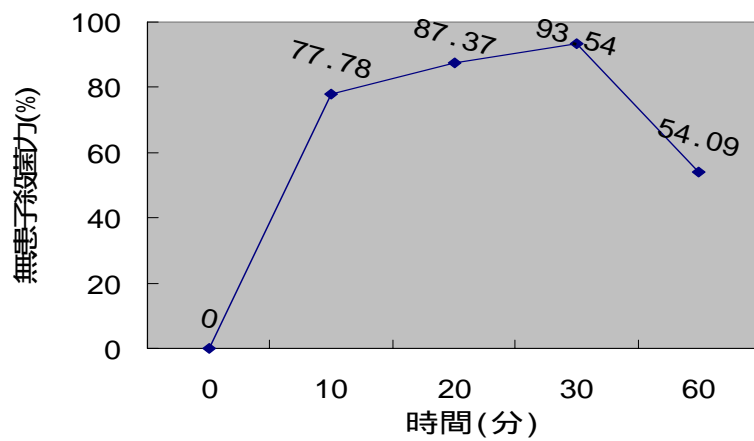


圖 4. 無患子萃取液的作用時間及其對大腸桿菌的殺菌力

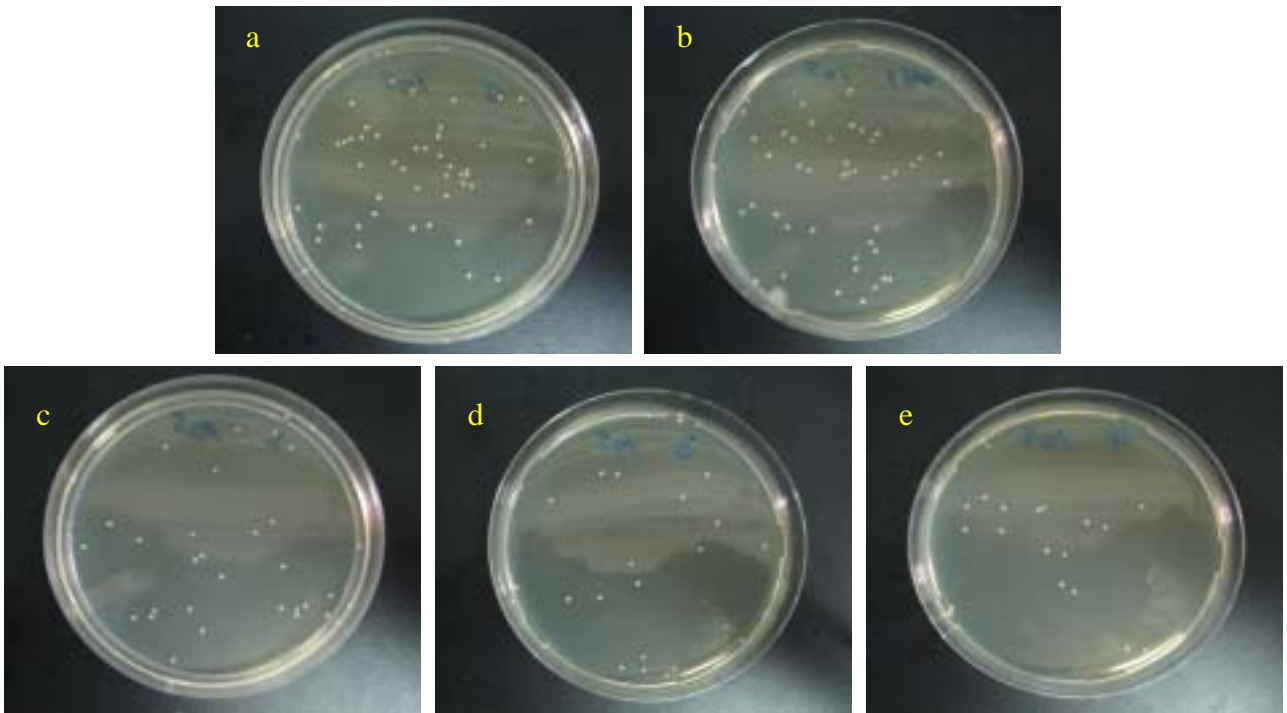


圖 5. 無患子萃取液的濃度及其對金黃色葡萄球菌的殺菌力。a.0%無患子萃取液；b.25%無患子萃取液；c.50%無患子萃取液；d.75%無患子萃取液；e.100%無患子萃取液。

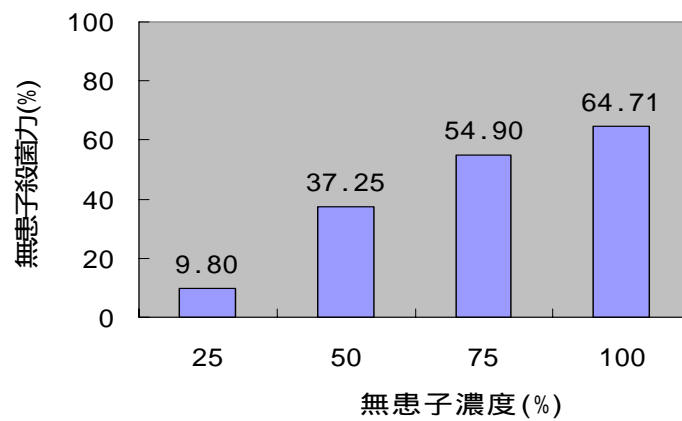


圖 6. 無患子萃取液的濃度及其對金黃色葡萄球菌的殺菌力

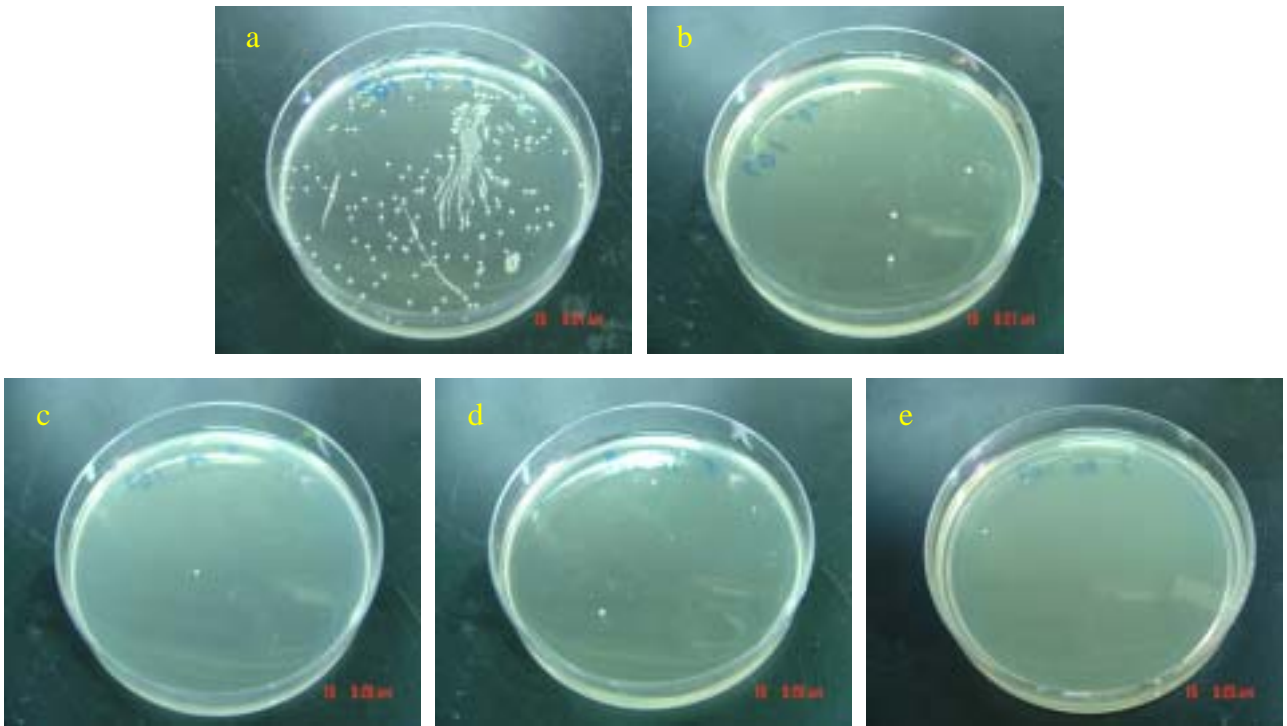


圖 7. 無患子萃取液的作用時間及其對金黃色葡萄球菌的殺菌力。a.0 分鐘；b.10 分鐘；c.20 分鐘；d.30 分鐘；e.60 分鐘。

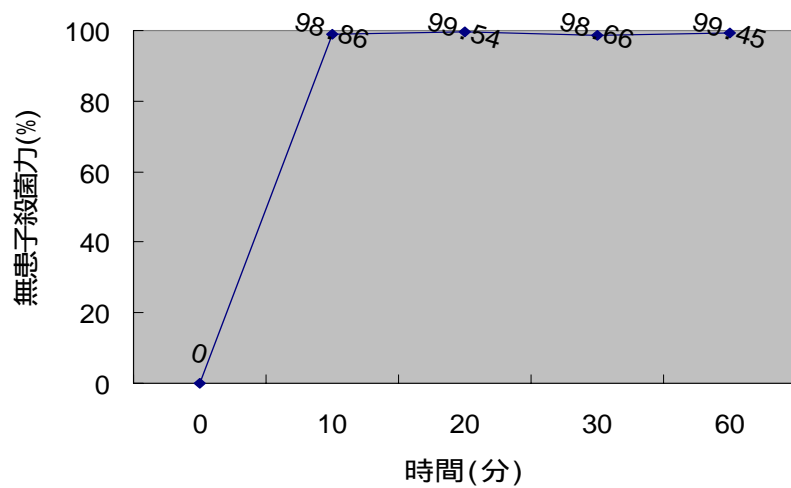


圖 8. 無患子萃取液的作用時間及其對金黃色葡萄球菌的殺菌力

五、結論與應用

(一) 無患子是兼具**環保與健康**的天然清潔劑

隨著工商業的發達及高科技的發展，許多人工合成清潔劑相繼問世，這些人工合成清潔劑都有極佳的清潔力，但常常隨著廢水排放至環境中，對我們的河川造成嚴重污染；由於**生物放大作用**，一些不易分解的化學成分在食物鏈中層層轉移，對生物的健康危害很大。

在阿媽的時代，用無患子果實製成的肥皂很常見，是一種**天然的清潔劑**，既有很好的清潔力，而且很環保，不會對環境造成污染及負擔。隨著工商業的發達及高科技的發展，許多人工合成清潔劑相繼問世，取代了無患子肥皂，而無患子樹也由於都市計畫的結果，數量大為驟減。當我們看到新聞中一頭烏黑亮麗頭髮的阿媽，興起了我們探究無患子的興趣，希望無患子的研究與推廣，可以喚起世人對無患子的回憶，以及對**環保與健康**的關懷。

(二) 無患子的**時效性及保存性**有待進一步探討

我們研究無患子的殺菌力之過程中，發現無患子萃取液對於大腸桿菌及金黃色葡萄球菌有很好的殺菌力，讓我們確定無患子的清潔功能。另外，無患子在自然情況下，由於細菌或黴菌的腐敗作用，將隨著時間而自然分解，對於生態環境將不會造成污染及負擔，是極具環保價值的天然清潔劑。然而，我們自製的無患子萃取液在室溫下靜置**五個月**後，重複上述的方法來檢驗無患子的殺菌力時，發現無患子萃取液的**殺菌力並沒有明顯地下降**。這個結果顯示，我們自製的無患子萃取液至少有五個月的有效期間。無患子萃取液的**時效性**以及**保存性**到底有多久，是一個可以繼續探討的問題。

(三) 無患子可否**瞬間殺菌及長期抗菌**

我們的實驗設計中，將細菌菌液與無患子萃取液混合培養 10 60 分鐘，果然發現無患子在此期間確實具有殺菌力。讓我們感到好奇的是，無患子一定要作用 10 60 分鐘才能發揮殺菌力嗎？我們於日常生活中使用洗手乳進行清潔工作時，往往於分鐘之內完成，若無患子

需要 10 60 分鐘才能殺菌，似乎不符合現實且缺乏生活功效。若要探討無患子的瞬間殺菌力，我們可在實驗設計上，讓細菌菌液與無患子萃取液充分**混合數秒鐘**，立刻以滅菌的 L 形玻棒將該混合液平均塗抹於 LB 培養基上，置於 37 培養箱內 24 小時，然後計算菌落數目，並推算混合液中細菌的濃度，應不難了解無患子的**瞬間殺菌**功效。

其實，我們所曾經使用 1 3 小時混合培養液進行殺菌力的探討，我們認為長時間培養有另一層意義。新聞中所得知的那一位南投縣年約八十的老婆婆，她由於從小用山林中撿來的無患子果實洗頭，至今頭髮依然烏黑亮麗，且沒有頭皮屑及頭皮癢的問題。頭部屑及頭皮癢的問題乃由黴菌所引起，顯然，長期使用無患子的結果，不只瞬間發揮清潔的功效，無患子在**頭部**所形成的**保護層**，更是**杜絕黴菌**造訪的無形防護網。或許無患子可以使我們的手部、臉部、及身體各處**皮膚**產生一層**長期抗菌**的防護網，對於清潔與健康更具深層的意義。

(四) 無患子的殺菌力與**細菌的細胞壁結構**高度相關

另外，我們發現無患子萃取液對大大腸桿菌的殺菌力比對金黃色葡萄球菌的殺菌力佳。我們已知大腸桿菌為**革蘭氏陰性細菌**，金黃色葡萄球菌為**革蘭氏陽性細菌**，革蘭氏陽性及陰性細菌的**細胞壁結構**不同，無患子的殺菌力似乎與細菌的細胞壁結構有關，這是一個耐人尋味且值得深入研究的問題 (data not shown)。

(五) 無患子的殺菌力主要表現於**迫使細菌死亡**，還是**抑制細菌生長**

如果無患子的殺菌力與細菌的細胞壁結構相關，那麼無患子對於細菌的影響是直接使其細胞壁破裂瓦解，導致細菌解體死亡？還是間接造成細菌細胞內的生理機制改變，導致細菌生長速度遲緩？

我們知道，細菌的生長曲線中，可分為**適應期**、**對數期**、**穩定期**、及**下降期**等四個階段，每一階段中細菌的數目及生理狀況不盡相同。首先為**適應期**，細菌對於新環境中的養分正在探索中，細菌的數目不多，增殖的速度緩慢。當細菌適應該環境，這時細菌生長狀況良好，

增殖速度加快，稱為**對數期**。當細菌數目逐漸增多而環境中養分逐漸減少時，細菌數目趨於一穩定值，稱為**穩定期**，這時細菌分裂生殖速度趨於緩慢，生理狀況不佳。穩定期以後，細菌代謝的有毒物質逐漸累積，此時若沒有由外界加入新的養分，細菌一方面由於養分不足，二方面由於毒素增多，於是細菌數目會逐漸減少，稱為**下降期**。

我們可以在實驗設計上，取得不同生長階段的細菌菌液，使該生長階段的細菌菌液與無患子萃取液混合培養，然後檢驗無患子的殺菌力。若無患子的殺菌力於細菌的**對數期**表現較佳，可能說明無患子的殺菌力主要表現於**抑制細菌生長**；若無患子的殺菌力於細菌的**穩定期**表現較佳，可能說明無患子的殺菌力主要表現於**迫使細菌死亡**。

六、參考資料及其他

1. 王群光、王才義合著（2002年1月）。無患子傳奇。台北市：一展有限公司。
2. 陳玉峰著（1996年）。展讀大坑天書。台北市：台灣地球日出版社。第53-57頁。