

# 2015 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 070008  
參展科別 微生物學  
作品名稱 狐亂發臭—腋下細菌叢林的秘密  
得獎獎項 大會獎：三等獎

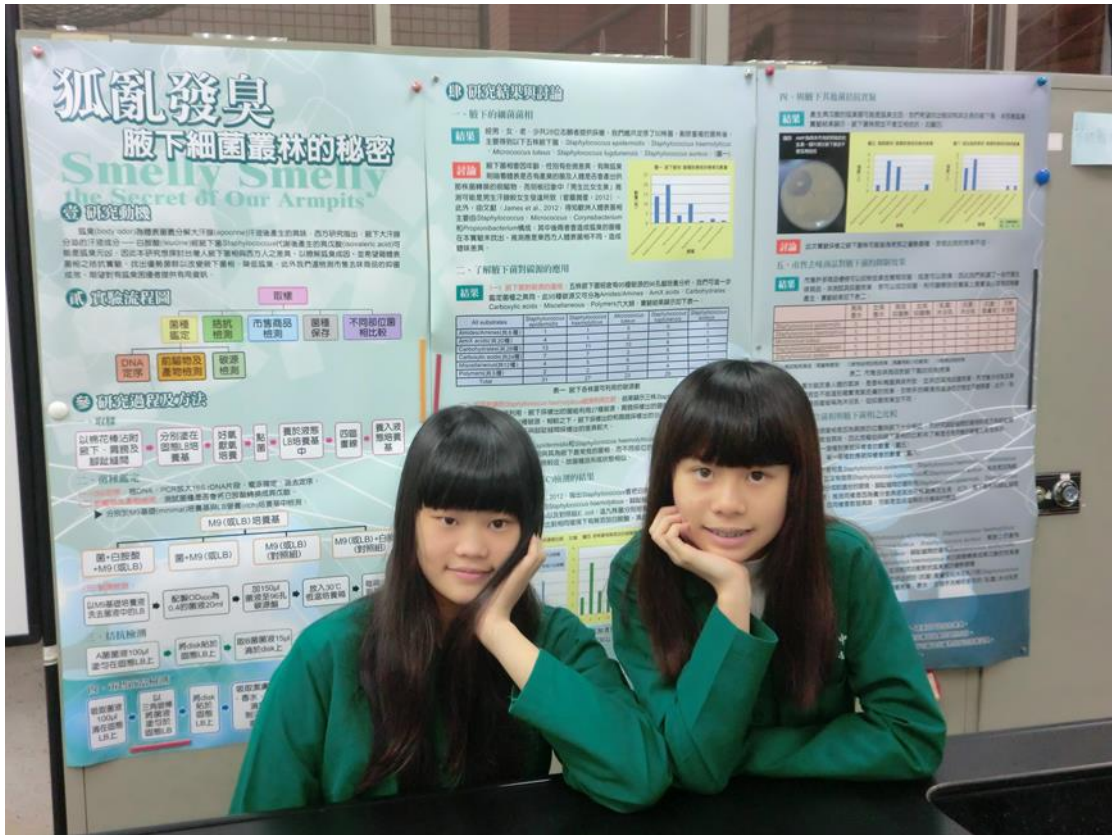
就讀學校 國立臺中女子高級中學

指導教師 邱伯勤

作者姓名 彭顥顥、黃炯菱

關鍵字 狐臭、體表菌相

## 作者簡介



大家好我們是彭顛顛(上圖左)和黃炯菱(上圖右)，目前就讀於台中女中二年級，很幸運能夠進入數理資優班，由於我們都對生物很有興趣，所以在開學後不久就毫不猶豫地選擇了生物專題。一年多以來，雖然經歷許多挫折，但從未減少我們對研究的熱忱，憑著對這個题目的熱愛，以及一路上眾人的協助，我們有了現在的成果。感謝教授、老師、各位學長姐以及同學們的幫助、支持與鼓勵，讓我們學習不少常用的生物技術，享受研究的樂趣，並對我們的作品有更深入的了解。而在為自己作品努力的過程中，我們磨出了永不放棄的毅力以及不怕失敗的勇氣，更培養出彼此的默契與包容。相信在實驗室奮鬥的點點滴滴，將會成為我們難忘且珍貴的回憶。

## 摘要

根據西方文獻造成狐臭的原因之一是因為 *Staphylococcus* 將汗液中的白胺酸(leucine)代謝產生異戊酸(isovaleric)，散發出臭味，但台灣人的狐臭菌是否與西方人類相似則較少被探討。

本研究透過好氧和厭氧的篩選方式篩出的優勢腋下菌種以 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus aureus* 為主，與國外研究結果略有不同。在 Gas Chromatography (GC，氣相層析儀) 檢測結果發現以上菌種中能將白胺酸轉換成異戊酸，效果最好的菌是 *Staphylococcus lugdunensis*，推測 *Staphylococcus lugdunensis* 為造成狐臭主因。

由結果推測，異戊酸只是臭味的一部分，未來可以藉由分析汗液成分與腋下菌的產物來找出導致狐臭的其他原因，找出更完整的腋下作用機制及更好改善狐臭的方法。

## Abstract

Body odor often affects a person's self-confidence, and makes social life inconvenient. The generation of malodor on various sites of the human body is caused by the microbial biotransformation of odorless natural secretions into volatile odorous molecules. On the skin surface, distinctive odors emanate, in particular, from the underarm (axilla), where a large and permanent population of microorganisms thrives on secretions from the eccrine, apocrine and sebaceous glands. It has been reported that this resident microbiota consists mainly of Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* and *Propionibacterium*. The major reason of body odor is that *Staphylococcus* metabolizes leucine into isovaleric acid, which causes a smell. However, the major resident microbiota of Taiwanese is scarcely studied.

Our study shows that the underarm microbiota consists primarily of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Micrococcus luteus*, and *Staphylococcus aureus*, which appears somewhat different from the study in Europe. Based on the results of the detection by Gas Chromatograph, *Staphylococcus haemolyticus* metabolizes leucine into isovaleric acid most effectively, indicating that it is the main reason for body odor. According to the detection experiments on the antibacterial effect of commercial products, we found that antibacterial agents achieve the expected effect, but the cleanser and body wash made by I.B.L(依必朗 in Chinese) Pharmaceutical Co. can only inhibit *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. In the experiments about microbial antagonism, however, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Micrococcus luteus*, and *Staphylococcus aureus* posed no antagonism to one another.

# 壹、前言

## 一、研究動機

狐臭影響了一個人的自信心，造成了許多人社交生活上的不便。人體的汗腺有三類，即頂泌汗腺(apocrine glands)、外泌汗腺 (eccrine sweat glands) 和皮脂腺(sebaceous glands)，狐臭來自細菌分解頂泌汗腺汗液所產生的異味(Guillet et al., 2000；James et al., 2012)，而腋下正是頂泌汗腺所分布的地方，因此我們認為，藉由研究腋下菌相我們能了解狐臭是如何產生的。希望藉由這個研究，除了了解形成狐臭的菌種，未來能進一步改變人體表面菌相，改善狐臭，期許這個題目，能替為此困擾的人貢獻心力。


## 二、研究目的

- (一) 透過研究腋下的細菌菌相找出導致狐臭的原因。
- (二) 瞭解導致狐臭的體表菌種可利用的碳源。
- (三) 檢測腋下菌的拮抗作用，希望找出能抑制或拮抗導致狐臭的菌，進一步改善人類的狐臭，替為此困擾的人盡一份心力。
- (四) 比較市面上香水、抑菌劑、沐浴乳、潔膚液、衣物手洗精對腋下菌的抑制效果。
- (五) 瞭解其他部位與腋下的菌相差異。

## 貳、研究方法或過程

### 一、 研究設備及器材

#### (一) 實驗設備

<p>已滅菌的 ENT 的棉棒</p>	<p>恆溫培養箱</p>
 <p>圖 2-1 已滅菌的 ENT 的棉棒</p>	 <p>圖 2-2 恆溫培養箱</p>
<p>冷凍離心機</p>	<p>水浴槽</p>
 <p>圖 2-3 冷凍離心機</p>	 <p>圖 2-4 水浴槽</p>
<p>乾熱器</p>	<p>-20°C 冷凍庫</p>
 <p>圖 2-5 乾熱器</p>	 <p>圖 2-6 -20°C 冷凍庫</p>



梯度核酸連鎖反應儀



圖 2-7 梯度核酸連鎖反應儀

水平電泳槽

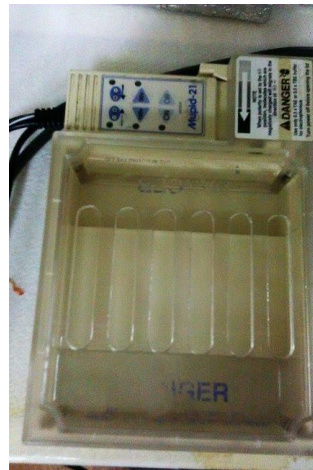


圖 2-8 水平電泳槽

氣相層析儀



圖 2-9 氣相層析儀  
(Gas Chromatography, 簡稱 G C)

96 孔盤

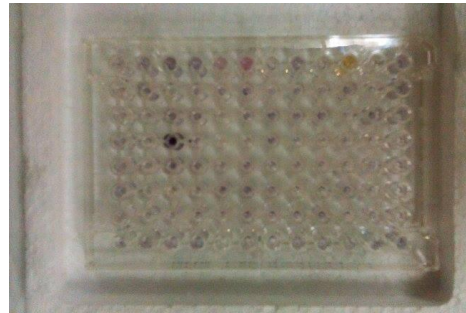


圖 2-10 96 孔盤

分光光譜儀



垂直式無菌操作台



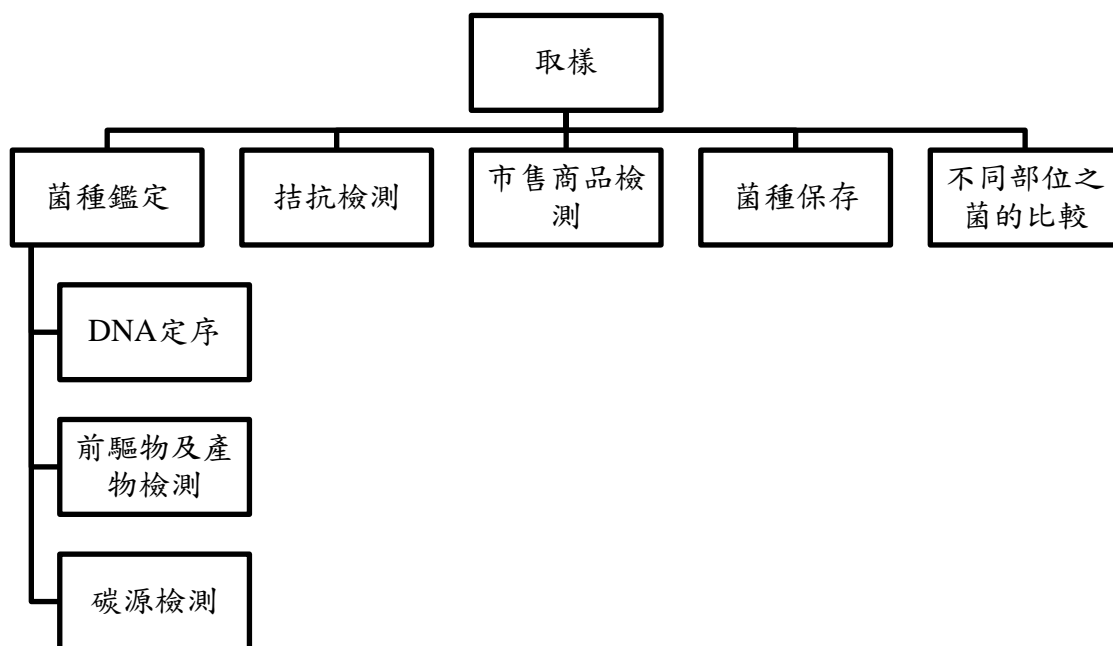
<p>圖 2-11 分光光譜儀</p>	<p>圖 2-12 垂直式無菌操作台</p>
<p>高溫高壓滅菌釜</p>	<p>超微量分光光度計</p>
	
<p>圖 2-13 高溫高壓滅菌釜</p>	<p>圖 2-14 超微量分光光度計</p>
<p>離心機</p>	
	
<p>圖 2-15 離心機</p>	



(二) 實驗藥品與耗材

LB Broth (Lysogeny broth)	LB Agar
<p>1.LB 粉末配方(每 500 g )</p> <p style="padding-left: 20px;">Tryptone-----200 g</p> <p style="padding-left: 20px;">Yeast Extract-----100 g</p> <p style="padding-left: 20px;">NaCl-----200 g</p> <p>2.配法</p> <p>(1) 每公升的水加入 25 g LB 粉末</p> <p>(2) 以 5 ml pipetman 分裝到試管</p> <p>(3) 蓋上試管蓋</p> <p>(4) 滅菌 121 °C、1.2 kg/cm<sup>2</sup>、20 分鐘</p> <p>(5) 待冷卻後，放進無菌操作台</p>	<p>1.配法</p> <p>(1) 在血清瓶裡放入400 ml的ddH<sub>2</sub>O和10g LB broth粉末和6 g Agar</p> <p>(2) 蓋上蓋子，包上鋁箔並貼上滅菌膠帶</p> <p>(3) 滅菌121 °C、1.2 kg/cm<sup>2</sup>、20分鐘</p> <p>(4) 放在冷水裡冷卻至約40-50 °C</p> <p>(5) 傾倒至塑膠培養皿，每盤約20ml</p> <p>(6) 開UV，並且蒸發培養基的水蒸氣30min</p> <p>(7) 寫上日期及名稱，儲存於4 °C冰箱</p>
M9	
<p>1. 配法</p> <p>(1) 500 ml ddH<sub>2</sub>O 加入 5.25 g M9 MEDIUM BROTH POWER</p> <p>(2) 10 ml ddH<sub>2</sub>O 加入 2.4648 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (濃度 1 M)</p> <p>(3) 10 ml ddH<sub>2</sub>O 加入 1.1099 g CaCl<sub>2</sub> (濃度 1 M)</p> <p>(4) 將以上三種藥品分別滅菌</p> <p>(5) 在無菌操作台中將滅過菌的 500 ml M9 MEDIUM BROTH POWER 加入濃度 1 M 的 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 ml，濃度 1 M 的 CaCl<sub>2</sub> 50 μL 混合均勻</p>	

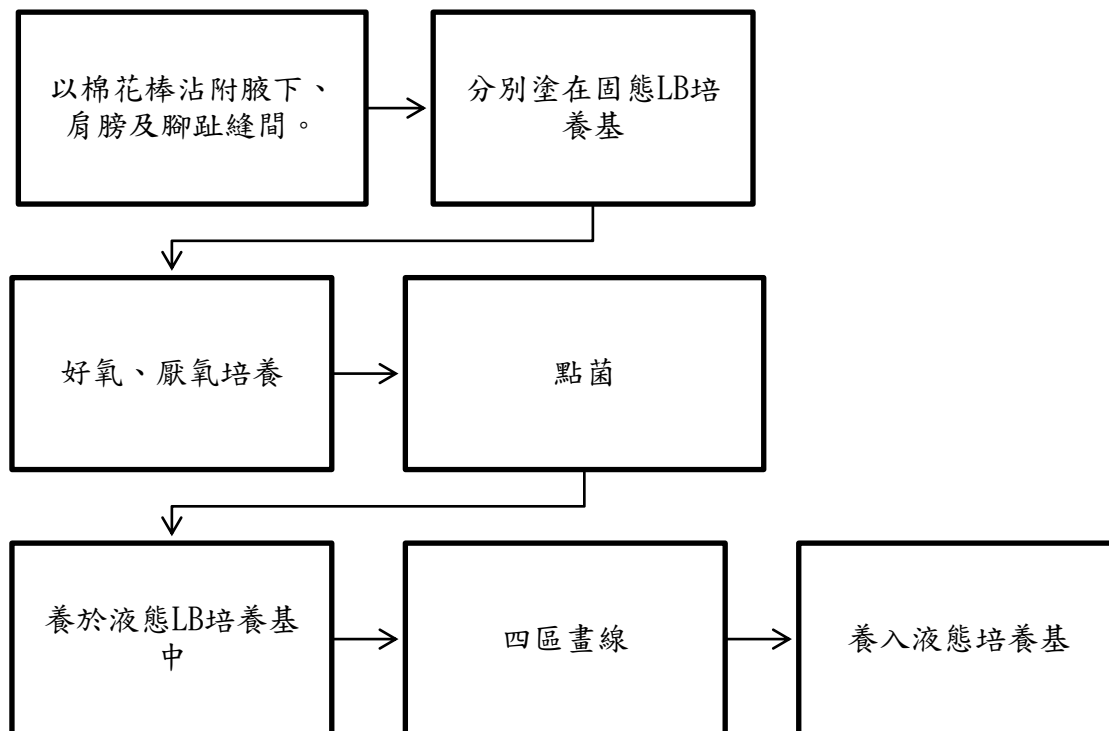
## 二、 總流程圖



## 三、 各步驟流程說明

### (一) 取樣

#### 1. 流程圖



## 2. 實驗步驟說明

- (1) 以棉花棒沾附腋下、肩膀及腳趾縫間。
- (2) 分別塗在固態 LB 培養基上。
- (3) 培養，約 16~18 小時後取出。
  - A. 好養培養：放入 37 °C 恆溫培養箱。
  - B. 厭氧培養：放入厭氧操作台中培養。

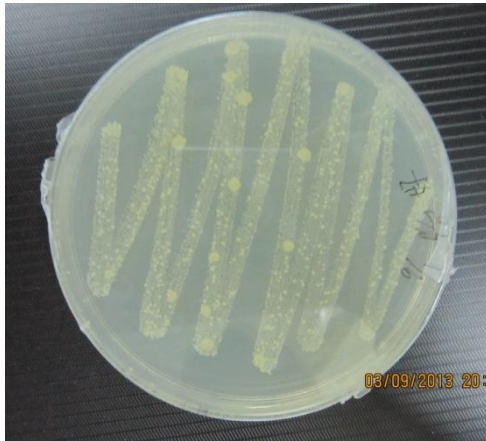


圖 2-16 塗盤於固態 LB 培養基

- (4) 點菌：以 tip 尖端沾取固態 LB 培養基上的不同菌落，分別點在新的固態 LB 培養基上。
- (5) 隔天觀察點菌結果。

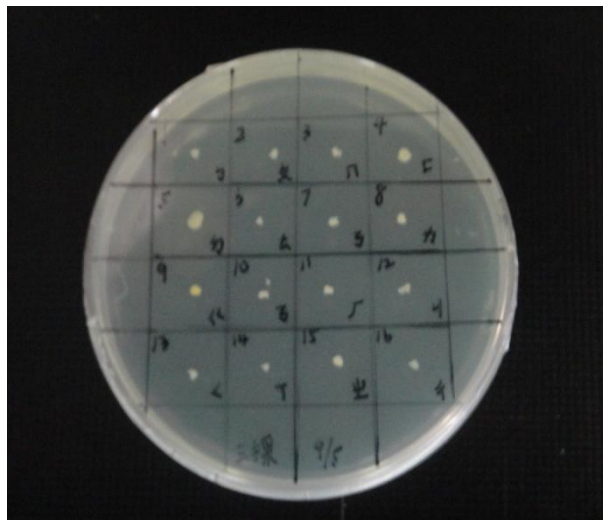


圖 2-17 挑選不同菌落並點菌

- (6) 將不同菌落養於液態 LB 培養基中。

- (7) 四區畫線：為了確保挑到的是單一菌落，故以四區畫線稀釋菌液，檢查是否有雜菌。



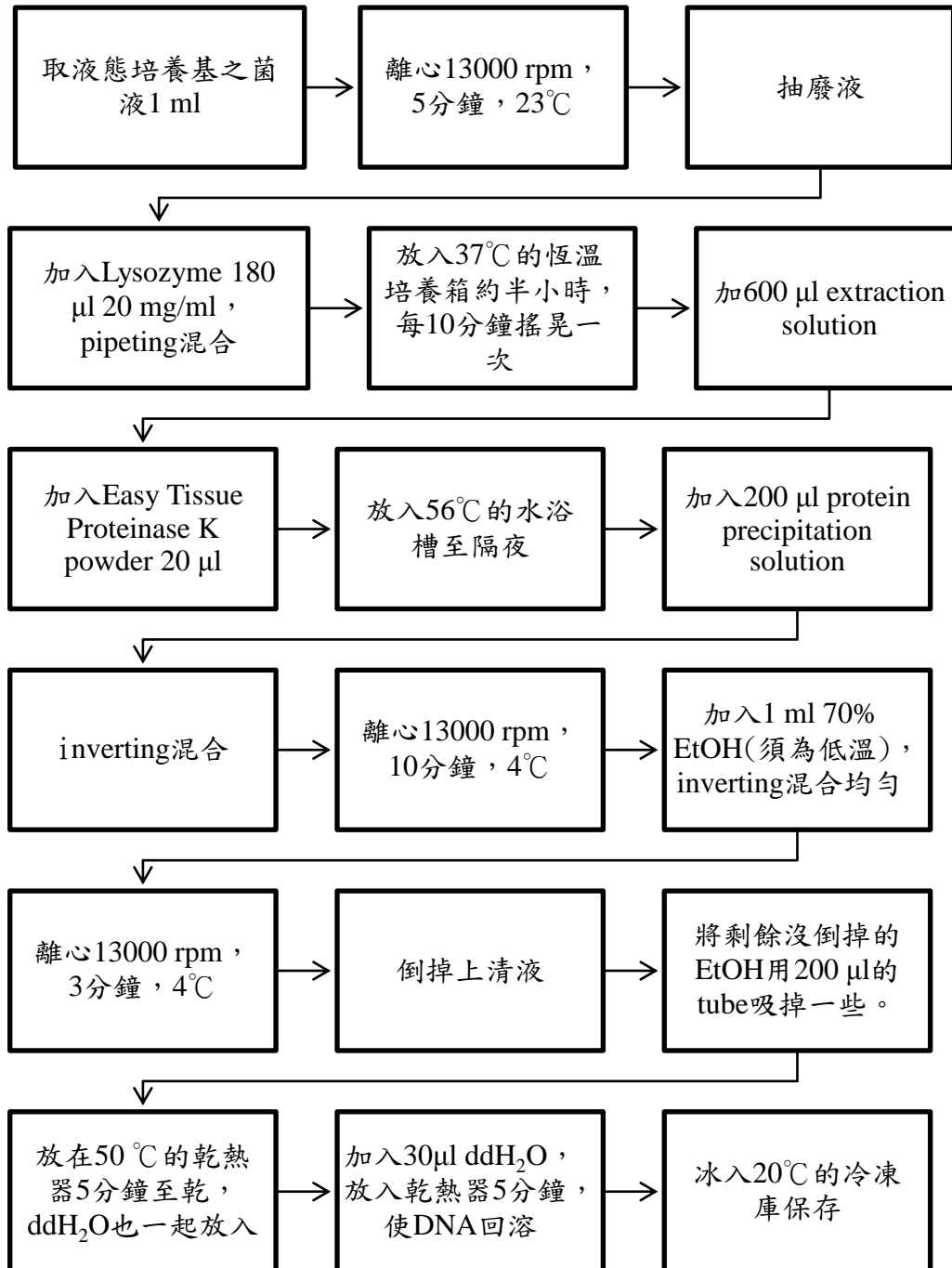
圖 2-18 四區畫線

- (8) 養入液態培養基

## (二) 菌種鑑定(DNA 定序)

### 1. 抽 DNA

#### (1) 流程圖



#### (2) 實驗步驟說明

##### A. 目的及原理

此實驗旨在分析人體腋下及其他部位菌相，故在取得菌種後，先抽取細菌 DNA，藉由 Lysozyme 溶解細菌的肽聚醣，再加入 Extraction Solution (GeneMark 105 ml 裝) 去除細胞膜，接著用 Easy Tissue

Proteinase K powder (GeneMark 36 ml 裝) 切斷蛋白質，以 Protein Precipitation solution 使蛋白質沉澱，再以 isopropanol 沉澱 DNA 並用 Ethanol 清洗去除雜質，最後用無菌水回溶 DNA 後，保存於  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中。

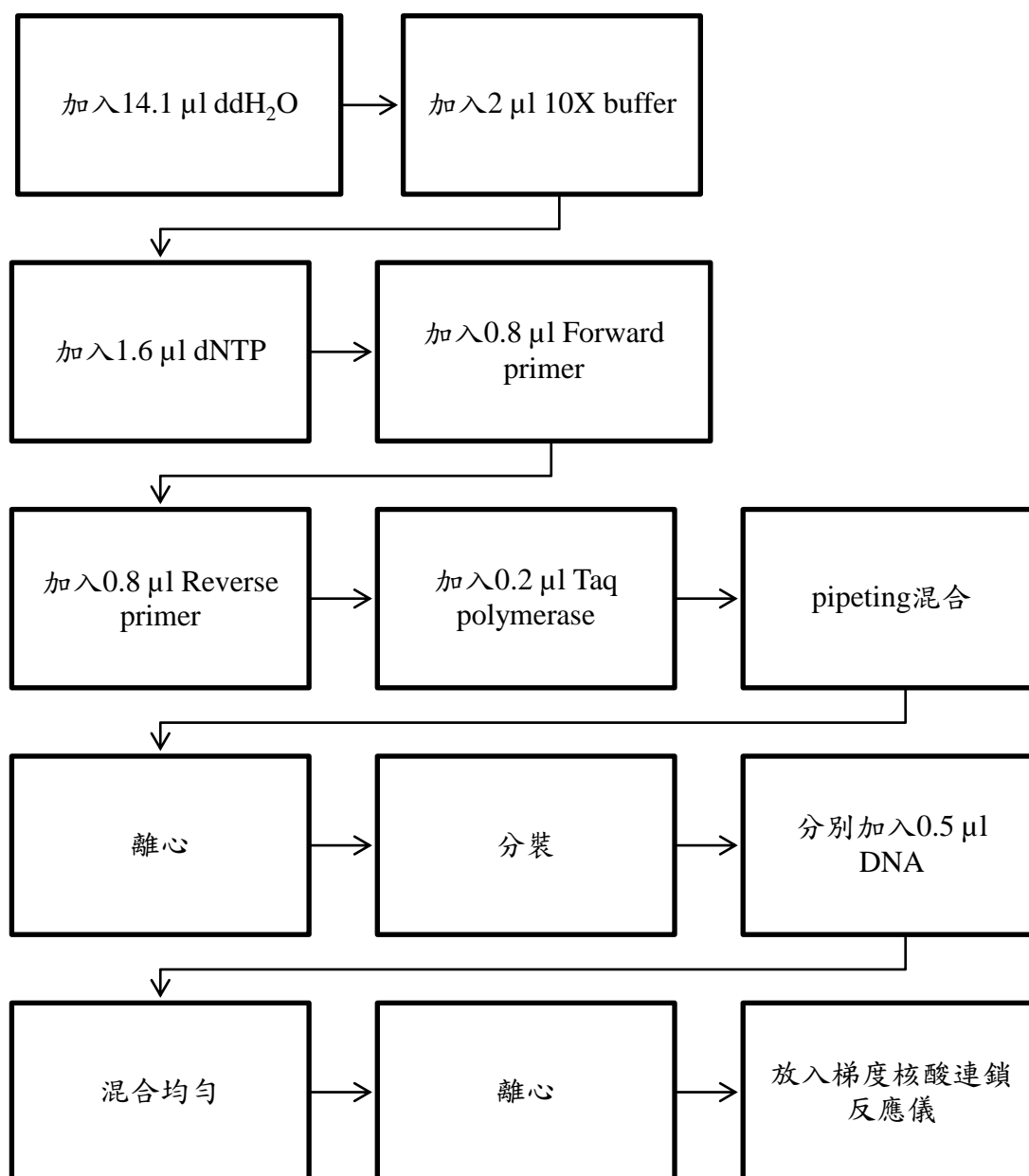
B. 操作步驟

- a. 取液態培養基之菌液 1 ml 裝入 eppendorf。
- b. 離心 13000 rpm，5 分鐘， $23^{\circ}\text{C}$ 。
- c. 抽廢液。
- d. 加入 Lysozyme 180  $\mu\text{l}$  20 mg/ml pipeting 混合 (破菌)。
- e. 放入  $37^{\circ}\text{C}$  的恆溫培養箱約半小時，每十分鐘搖晃一次。
- f. 加 600  $\mu\text{l}$  Extraction solution (用以萃取 DNA)。
- g. 加入 Easy Tissue Proteinase K powder 20  $\mu\text{l}$  (可破壞其他蛋白質)。
- h. 放入  $56^{\circ}\text{C}$  的水浴槽中 (放隔夜，待其變透明)。
- i. 加入 200  $\mu\text{l}$  Protein Precipitation solution (使被切斷的蛋白質沉澱)。
- j. inverting 混合。
- k. 離心 13000 rpm，10 分鐘， $4^{\circ}\text{C}$ 。
- l. 用 800  $\mu\text{l}$  的 tube 吸取上清液至另外的 eppendorf 中。
- m. 加入 600  $\mu\text{l}$  低溫的 Isopropanol (使 DNA 沉澱)。
- n. 倒掉上清液，離心 13000 rpm，3 分鐘， $4^{\circ}\text{C}$ 。
- o. 加入 1 ml 70% EtOH (須為低溫)，inverting 混合均勻。
- p. 離心 13000，3 分鐘， $4^{\circ}\text{C}$ 。
- q. 將上清液倒掉。
- r. 將剩餘沒倒掉的 EtOH 用 200  $\mu\text{l}$  的 pipetman 吸掉一些。
- s. 放在  $50^{\circ}\text{C}$  的乾熱器 5 分鐘至乾，ddH<sub>2</sub>O 也一起放入。
- t. 加入 30  $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O。放入乾熱器 5 分鐘，使之回溶。
- u. 冰入  $20^{\circ}\text{C}$  的冷凍庫保存。



## 2. 聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction)

### (1) 流程圖



### (2) 實驗步驟說明

#### A. 目的及原理

為了鑑別菌種，我們先把上步驟抽取完成的菌物 DNA 以 PCR 的方式放大微生物的 16S rDNA，以便之後送定序。PCR 分成三個步驟，首先是 DNA 變性 (denaturing)，變性溫度約為 95 °C，此時雙股 DNA 解開成單股 DNA；第二步驟為引子黏合 (annealing)，黏合溫度約為 55 °C，此溫度可使引子黏合至特定部位，而此特定部位視引子組成而定；最後一步驟為 DNA 延伸 (extension)，約在 72 °C 可使聚合酶開始作用，成功的完成複製。此三步驟約需進行 35 個循環，最終 DNA

會擴增為  $2^{35}$  倍。

原核生物之核糖體分為大小兩個次單元，分別為 50s 和 30s 次單元 (s 為離心時的沉澱速率，常被用來表示核糖體次單元之大小)，其中較小的 30s 次單元又包含了 16S rRNA，所謂的 16S rDNA 是指轉錄出 16S rRNA 的基因片段。之所以選定 16S rDNA 來放大是歸因於 16S rDNA 在不同菌種之間有所差異，因此可以透過具有 16S rDNA 保守片段的引子來標記我們所要複製的基因片段，經由 PCR 放大之後，就可以藉由比對資料庫辨別出某個擁有特定 16S rDNA 序列的細菌種類。

#### B. 操作步驟

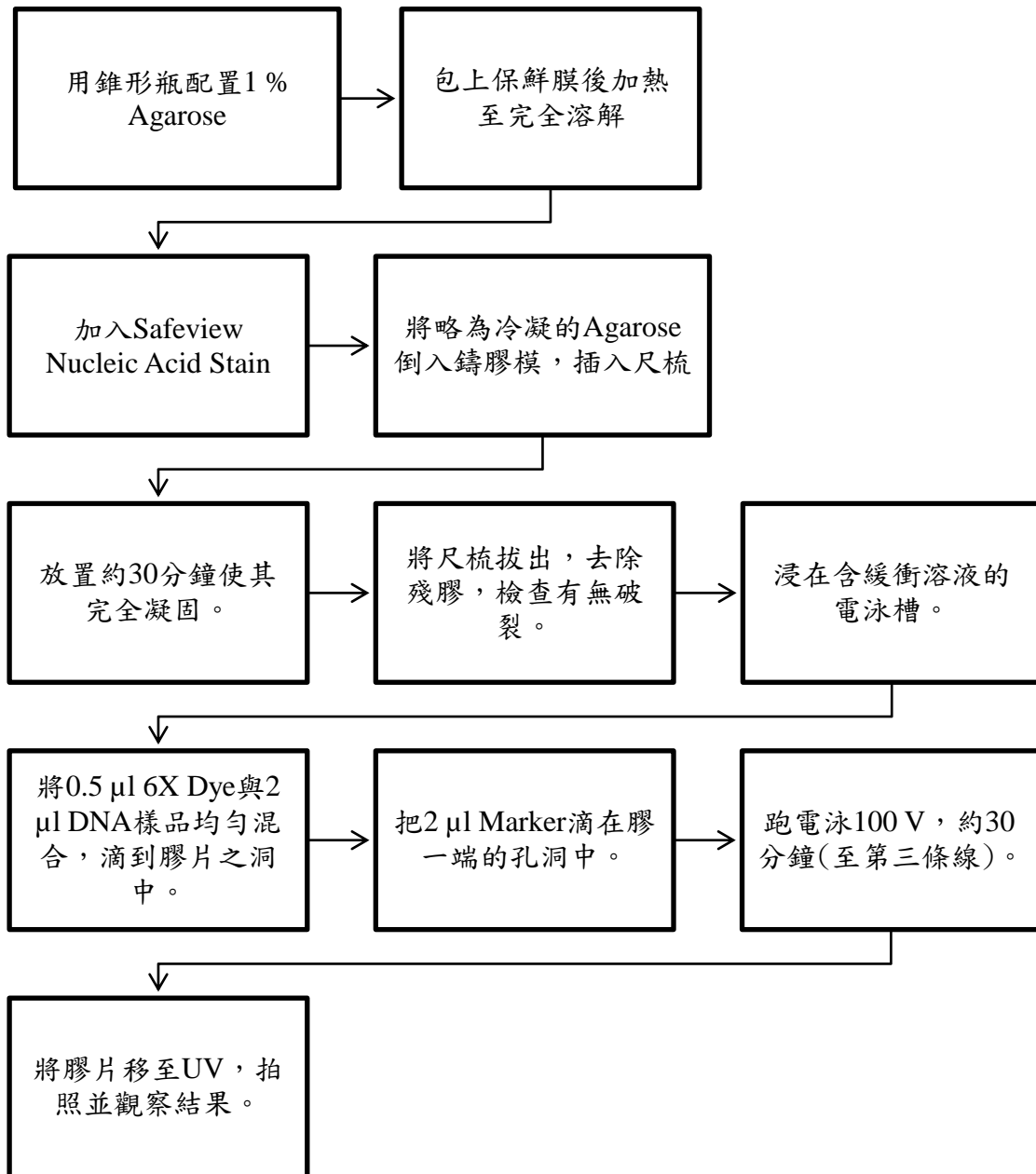
- 順序：每一管依序加入 14.1  $\mu\text{l}$  的 ddH<sub>2</sub>O， 2  $\mu\text{l}$  10X buffer， 1.6  $\mu\text{l}$  dNTP， 0.8  $\mu\text{l}$  Forward primer， 0.8  $\mu\text{l}$  Reverse primer， 0.2  $\mu\text{l}$  Taq polymerase， pipeting 混合。
- 加入 0.5  $\mu\text{l}$  DNA，並混合均勻。此時需多配一管不含 DNA 之 negative control，以確認藥品沒有被其他核酸污染，再配製一管大腸桿菌菌液，以確定 PCR 與電泳過程無誤。
- PCR 溫度：denaturing 為 95 °C，annealing 為 55 °C，extension 為 72 °C，cycle 35 次。
- PCR 結束後須用水平電泳檢測 16S rDNA 是否順利被複製擴增。



圖 2-20 PCR 機器設定條件

### 3. 水平電泳

#### (1) 流程圖



#### (2) 實驗步驟說明

##### A. 目的及原理

此實驗之目的為檢測 PCR 產物大小是否正確。膠體電泳可根據各個大小不同之 DNA 片段的移動速度來將之分離。對核酸而言，因其磷酸基帶有負電荷，所以 DNA 在電場之下會移往正極。一般用來跑水平電泳的瓊脂膠體 (Agarose) 為固態，DNA 的移動過程會因此而產生許多摩擦力，故 DNA 之移動速度與其長度成反比，並可藉由一大群特定大小 DNA 混合成的 Marker 來判斷其確切大小。在電泳時，

我們加入 Safeview (一種 DNA 嵌合染劑)，此染劑在紫外光的照射下可看見許多條帶，再利用拍照設備照相即可。

B. 操作步驟

- a. 用錐形瓶配置 1 % Agarose (0.2 g Agarose + 20 ml TAE buffer 或 0.4 g Agarose + 40 ml TAE buffer)。
- b. 包上保鮮膜後加熱至完全溶解，並加入 Safeview Nucleic Acid Stain (約 100ml 的 Agarose + TAE 溶液加入 3~5  $\mu$ l 的 Safeview Nucleic Acid Stain)。
- c. 將略為冷凝的 Agarose 倒入鑄膠模，插入尺梳。
- d. 放置約 30 分鐘使其完全凝固。
- e. 將尺梳拔出，去除殘膠，檢查有無破裂。
- f. 浸在含緩衝溶液的電泳槽。
- g. 將 0.5  $\mu$ l 6x Loading Dye 與 2  $\mu$ l DNA 樣品均勻混合，滴到膠片之洞中。
- h. 把 2  $\mu$ l Marker 滴在膠一端的孔洞中。
- i. 跑電泳 100V，約 30 分鐘(至第三條線)。
- j. 將膠片移至 UV，拍照並觀察結果。

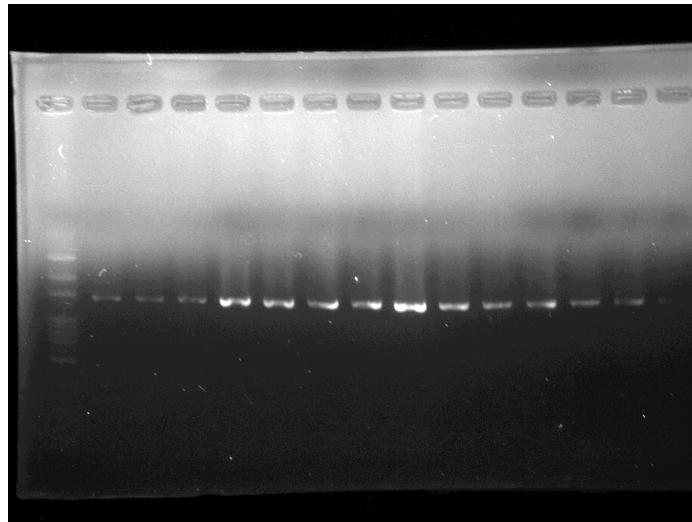
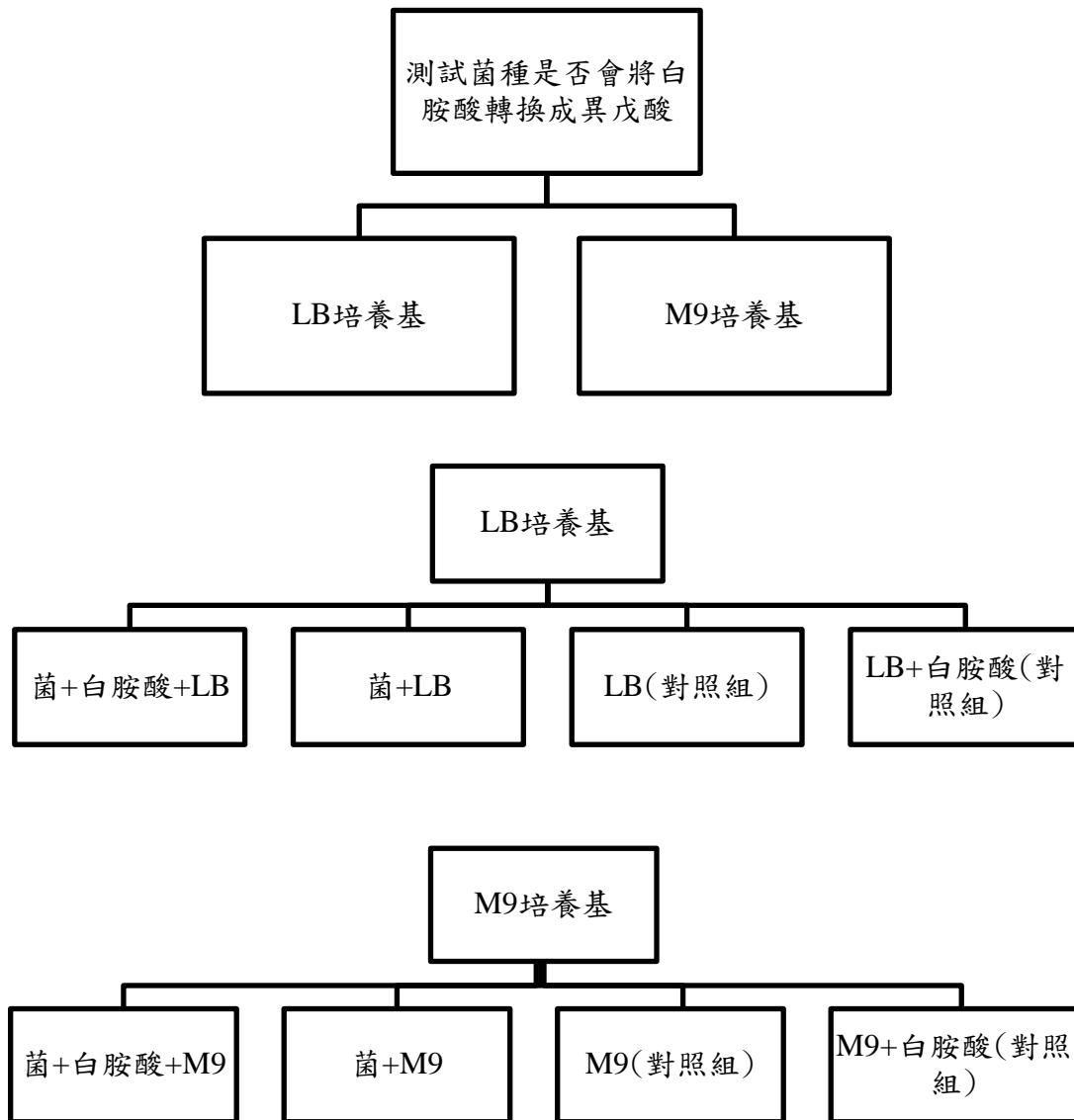


圖 2-21 電泳照

(三) 菌種鑑定(前驅物與產物檢測)

1. 流程圖



2. 實驗步驟說明

(1) 目的及原理：

為了測試生長在不同部位的 *Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus aureus* 是否會將白胺酸轉換成異戊酸產生臭味，或產生除了異戊酸以外的其他特殊氣味，因此我們挑選編號 3 (腋下的 *Staphylococcus epidermidis*)、編號 5 (腋下的 *Staphylococcus haemolyticus*)、編號 8 (腋下的 *Micrococcus luteus*)、編號 12 (腋下的 *Staphylococcus lugdunensis*)、編號 21 (腋下的 *Staphylococcus aureus*)、編號 A (肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*)、編號 T (肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*)、編號 V (腳趾縫間的 *Staphylococcus*

*epidermidis*) (共 8 株菌) 來進行測試。另外準備一管加入 *E.coli* 和一管沒加菌液的當作對照組，以比較其不同。

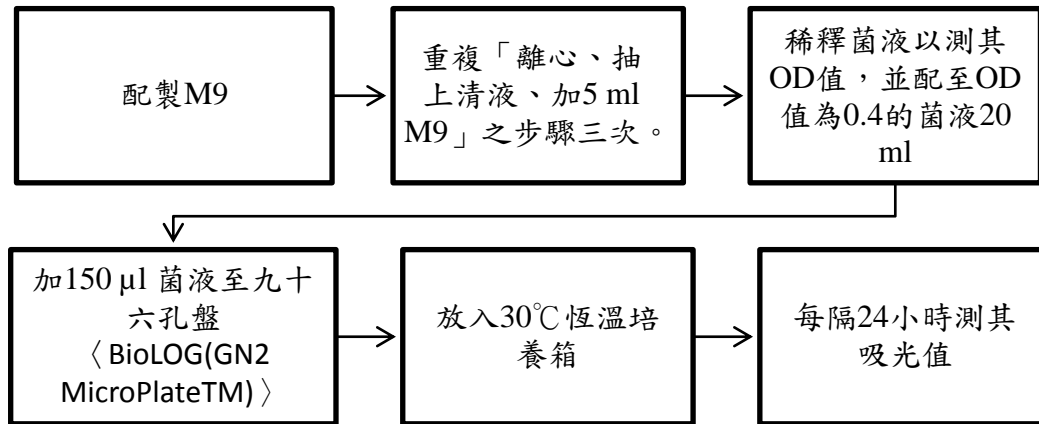
(2) 操作步驟

- A. 分別將離心管和試管加入 10 ml 的培養基，10 mg 的白胺酸，和 100  $\mu$ l 的菌液。
- B. 放入 37  $^{\circ}$ C 恆溫培養箱培養。
- C. 隔天以 GC (有關其條件請參見附錄 1) 測試是否含有異戊酸存在於菌液中，並搦聞菌液是否有特殊氣味。



#### (四) 菌種鑑定(碳源檢測)

##### 1. 流程圖



##### 2. 實驗步驟說明

###### (1) 目的及原理：

由於前述的 DNA 定序結果準確性僅止於屬，種名是否正確則需進一步證實，而即使是同種菌，其品系也不一定相同。經由了解各菌株的碳源利用我們可進一步鑑定菌種之異同，因此我們將待測菌種加入含各式碳源之九十六孔盤〈有關九十六孔盤各孔的詳細資料請參見附錄四〉，每隔 24 小時以分光光譜儀檢測其吸光值(OD 值，optical density，波長為 600 nm)，了解菌種在不同碳源下的生長情形，即可得知其可利用的碳源。

###### (2) 操作步驟

A. 配製 M9。

B. 取 M9 MEDIUM BROTH, POWDER 5.25 g 加入 500 ml ddH<sub>2</sub>O。

C. 取 MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 2.4648 g 加入 10 ml ddH<sub>2</sub>O (濃度 1 M)。

D. 取 CaCl<sub>2</sub> 1.1099 g 加入 10 ml ddH<sub>2</sub>O (濃度 1 M)。

E. 分別將以上三種溶液滅菌後，在無菌操作台內將濃度 1M 的 MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1 ml 以及濃度 1 M 的 CaCl<sub>2</sub> 50 μl 加入 M9 MEDIUM BROTH 500 ml 中，並混合均勻。

F. 由於前一天養入液態 LB 之菌液的 OD 值太高以致於實驗室的分光光度計無法測量，故取菌液 100 μl 與 900 μl 的無菌水混合 (稀釋十倍)，並分別測量乾淨 LB 與稀釋後菌液的 OD 值，記錄其 OD 值，菌液即可丟棄。

G. 洗去剩下菌液之 LB 成分。

H. 將剩下的菌液裝入離心管，離心 5000 rpm，26 °C (常溫)，5 分鐘。

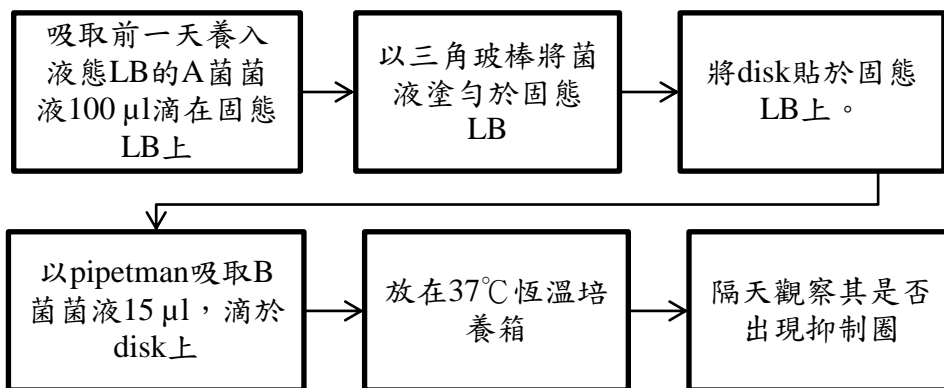
I. 抽上清液留沉澱物。

J. 各加 M9 (混合 MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O + CaCl<sub>2</sub> 後的溶液) 5 ml 到沉澱物中，

- pipeting 混合均勻。
- K. 重複以上步驟三次。
- L. 配製吸光值為 0.4 的菌液 20 ml。
- M. 取 100  $\mu$ l 之菌液與 900  $\mu$ l 之無菌水混合 (稀釋十倍)。
- N. 測其 OD 值，令其值為 x。
- O. 則可知原菌液的 OD 值為 10 x。
- P. 吸取 $[(0.4*20)/(10 x)]$  ml 的菌液，並加入無菌水至 20 ml。
- Q. pipeting 混合均勻。
- R. 將菌液倒入培養皿。
- S. 以手動的八爪 pipetman 吸取培養皿中的菌液，加 150  $\mu$ l 至九十六孔盤的每一孔。由於手動的八爪 pipetman 一次只能注入 50  $\mu$ l，所以要注三次。(不同孔要換 tip，以免汙染。)
- T. 放入 30  $^{\circ}$ C 恆溫培養箱，每隔 24 小時以測量其吸光值，觀察菌的生長情形。

#### (五) 拮抗檢測

##### 1. 流程圖



##### 2. 實驗步驟說明

###### (1) 目的及原理

由於汗液本身不臭，而是腋下細菌分解汗液後產生的物質才會臭。因此，我們想知道從流汗卻不會臭的人身上取得之菌種能不能抑制其它會分解汗液產生發臭物質的菌種，藉以改善人類體味。我們選取不同種的菌(以下用 A 菌和 B 菌代稱)，並兩兩檢測它們之間是否會拮抗。將 A 菌之菌液塗於固態 LB，並將 B 菌之菌液滴於貼在固態 LB 上 disk 上，若隔天 disk 周圍出現抑制圈，即可得知 B 菌會抑制 A 菌生長。

###### (2) 操作步驟

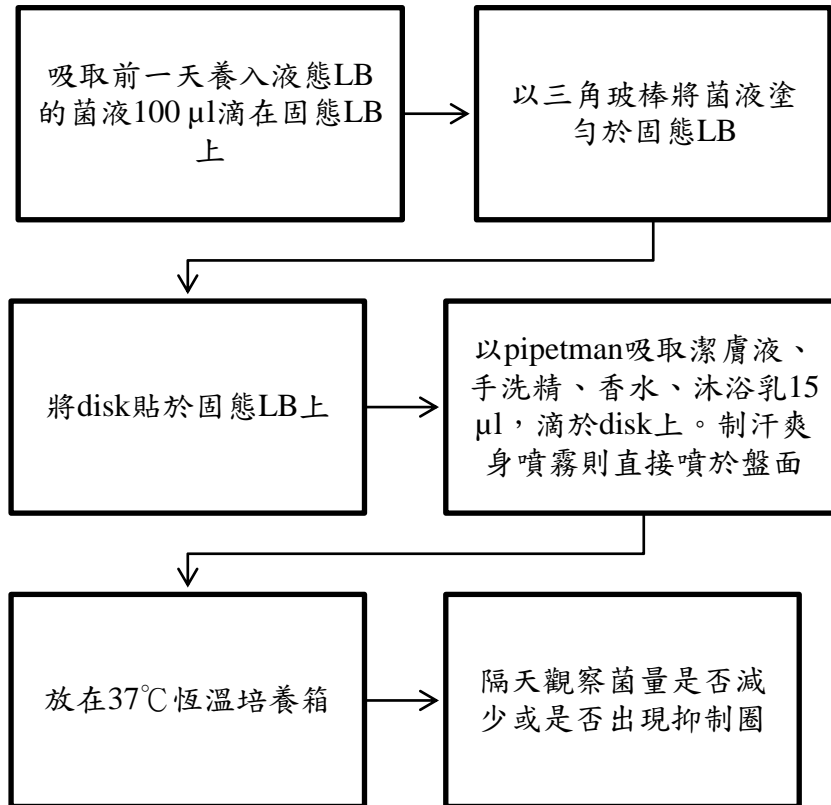
- A. 在無菌操作台內，吸取前一天養入液態 LB 的 A 菌菌液 100  $\mu$ l 滴在固態 LB 上。
- B. 以三角玻棒將菌液塗勻於固態 LB (每次更換菌液皆需過火)。
- C. 以鑷子夾四片 disk 貼於固態 LB 上。
- D. 以 pipetman 吸取另外三種菌液及抗生素(對照組)各 15  $\mu$ l disk 上。

E. 放在 37 °C 溫培養箱。

F. 隔天觀察固態 LB 上的 disk 周圍是否出現抑制圈。

## (六) 市售商品檢測

### 1. 流程圖



### 2. 實驗步驟說明

#### (1) 目的及原理

市面上可看到許多商品標榜可以抑制金黃色葡萄球菌，或是可以除臭，我們挑選了潔膚液、衣物手洗精、依必朗及多芬沐浴乳、男用香水、女用香水、男用制汗爽身噴霧、女用制汗爽身噴霧(廠牌及濃度請見附錄 2)，來測試其抑菌效果，若可以成功抑菌，則可觀察到菌量減少或到盤面上有抑制圈。

#### (2) 操作步驟

A. 在無菌操作台內，吸取前一天養入液態 LB 的 A 菌之菌液 100 μl 滴在固態 LB 上。

B. 以三角玻璃棒將菌液塗勻於固態 LB (每次更換菌液皆需過火)。

C. 加入各藥品。

- a. 由於平常使用潔膚液和香水時通常會直接使用，不會稀釋，所以實驗時潔膚液和香水皆維持其原濃度。以 pipetman 吸取液體 15 μl，滴於放在固態 LB 的 disk 上。另需準備抗生素 15 μl，滴於 disk 上，

一起放在盤面上。

b. 將衣物手洗精按照其瓶身標示之建議使用濃度配製，以 pipetman 吸取液體 15  $\mu$ l，滴於放在固態 LB 的 disk 上。另需準備抗生素 15  $\mu$ l，滴於 disk 上，一起放在盤面上。

c. 因為沐浴乳是黏稠狀，故以兩倍的水稀釋，以 pipetman 吸取液體 15  $\mu$ l，滴於放在固態 LB 的 disk 上。另需準備抗生素 15  $\mu$ l，滴於 disk 上，一起放在盤面上。

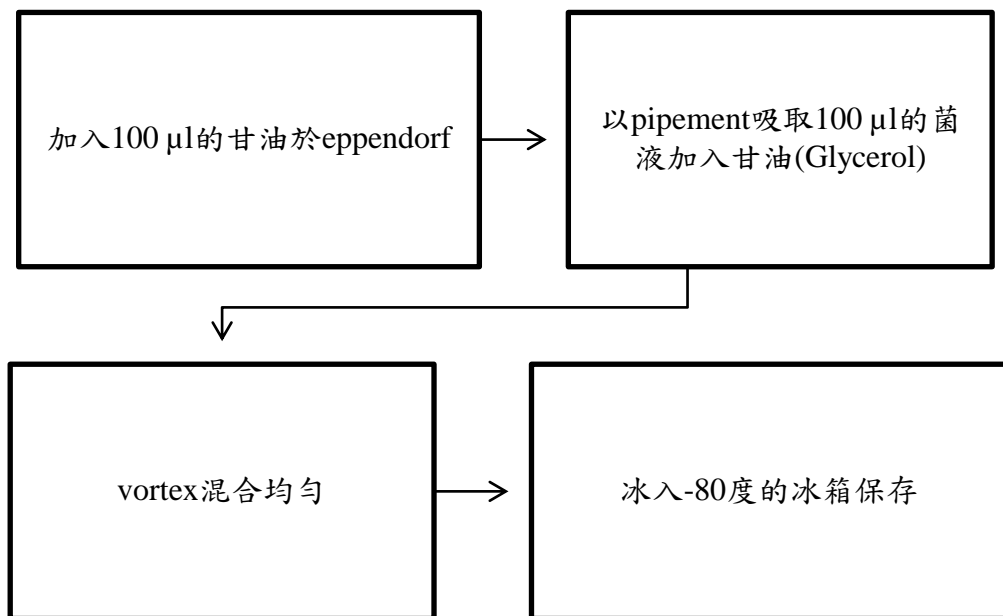
d. 制汗爽身噴霧的成分為粉末，故直接噴於盤面，模擬平常使用狀況。

D. 放在 37  $^{\circ}$ C 恆溫培養箱。

E. 隔天觀察固態 LB 上的菌是否減少或 disk 周圍是否出現抑制圈。

## (七) 菌保(菌種保存)

### 1. 流程圖



### 2. 實驗步驟說明

#### (1) 目的及原理

為了之後研究及實驗需要，必須保存及培養所使用的菌種，以維持研究持續進行。藉由超低溫冷凍可降低菌種之代謝速率，而甘油的作用是防止菌株在凍融過程中被冰晶刺破。

#### (2) 操作步驟

- 取出事先滅好菌並分裝 100  $\mu$ l 至 eppendorf 的甘油。
- 在無菌操作台內加入 100  $\mu$ l 的菌液(須於前一天養入液態 LB)
- Vortex 混合均勻

D. 保存於-80 度的冰箱

## 參、 實驗結果與討論

### 一、研究結果

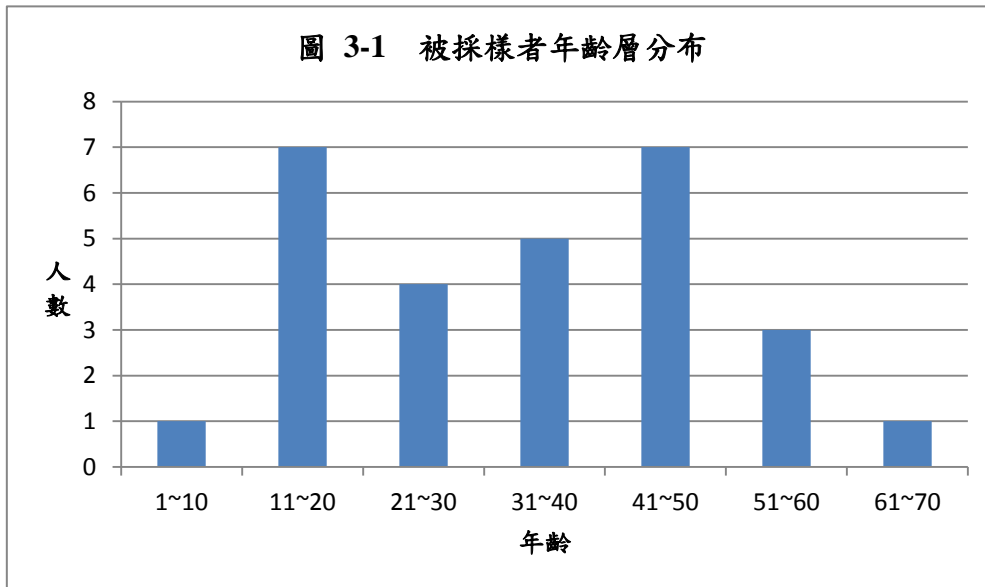
#### (一) 腋下的細菌菌相(詳細資料請見附錄 3)

本實驗經過採樣、純化、抽 DNA、定序等步驟，總共定序了 60 株菌，刪除重複的菌後，得到以下五株腋下菌：*Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Staphylococcus aureus*。

#### 1. 被採樣者資料分析：

##### (1) 被採樣者年齡層分佈:(如下圖 3-1)

- 1~10 歲：1 人
- 11~20 歲：7 人
- 21~30 歲：4 人
- 31~40 歲：5 人
- 41~50 歲：7 人
- 51~60 歲：3 人
- 61~70 歲：1 人

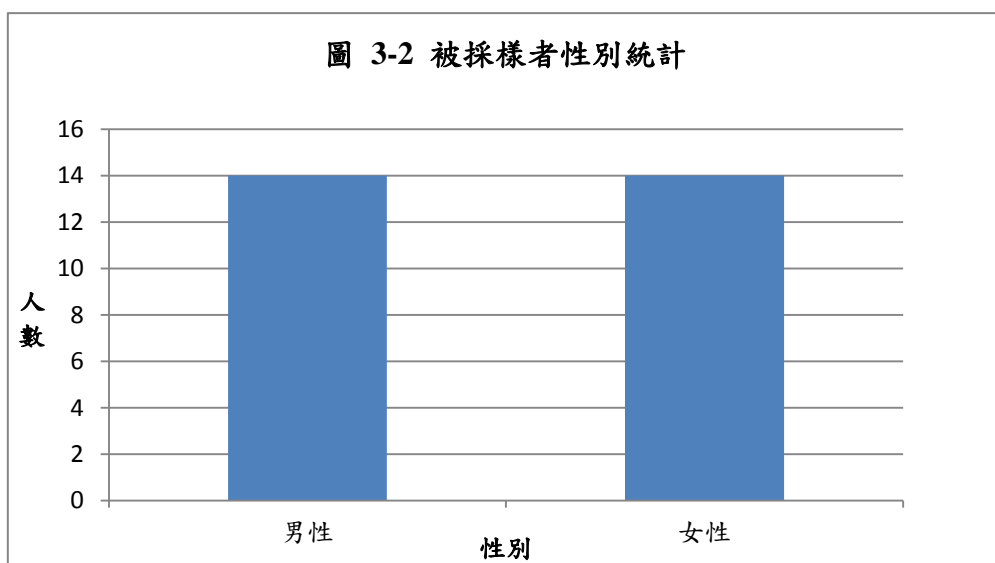




(2) 被採樣者性別比例:(如下圖 3-2)

男性：14 人

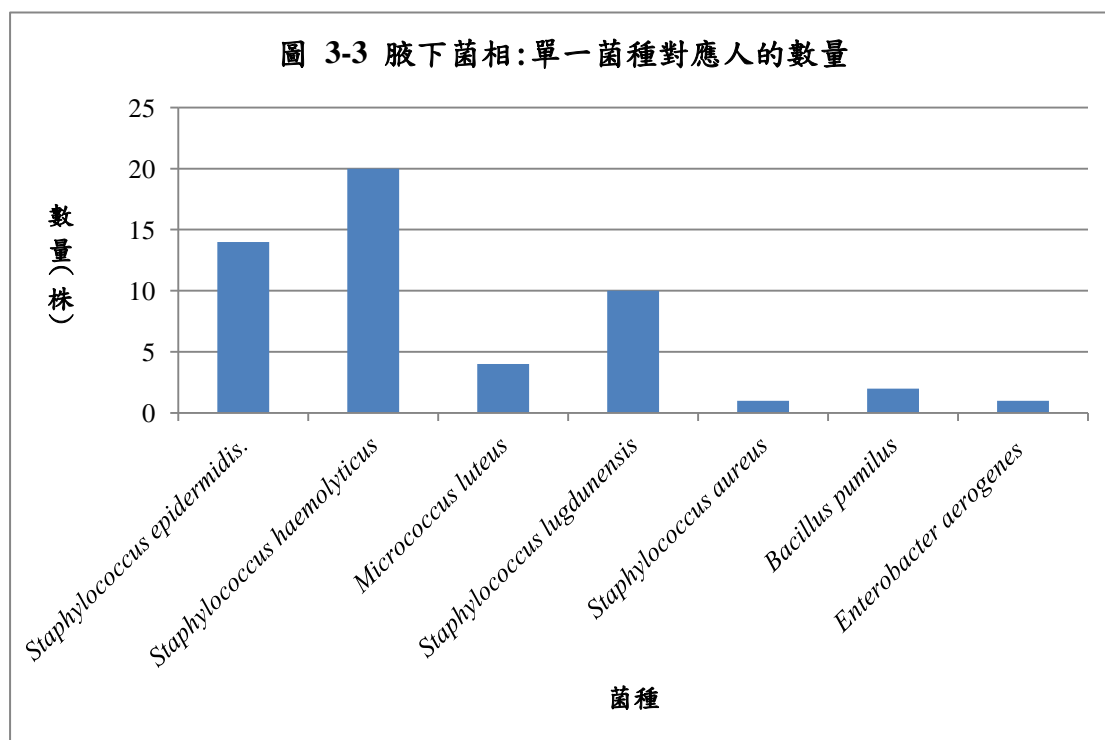
女性：14 人



2. 被採樣者與菌種類的關係

(1) 單一菌種對應人的數量:(如下圖 3-3)

在 60 株菌中定序出 14 株 *Staphylococcus epidermidis*、20 株 *Staphylococcus haemolyticus*、4 株 *Micrococcus luteus*、10 株 *Staphylococcus lugdunensis*、1 株 *Staphylococcus aureus*、2 株 *Bacillus pumilus*、1 株 *Enterobacter aerogenes*。



(2) 年齡層與菌種之間的關係:(如下表 3-1)

為探討年齡層與菌種之間的關係，故選擇樣本數較多的 11~20 歲及 41~50 歲進行比較。11~20 歲有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus aureus* 三株菌，41~50 歲有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis* 四株菌。

表 3-1 年齡層與菌種之間的關係

	11~20 歲	41~50 歲
發現菌種	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 、 <i>Staphylococcus haemolyticus</i> 、 <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 、 <i>Staphylococcus haemolyticus</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>

(3) 性別與菌種之間的關係:(如下表 3-2)

為探討性別與菌種之間的關係，經整理男性身上有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis* 四株菌，女性身上有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus* 三株菌。

表 3-2 性別與菌種之間的關係

	男性	女性
發現菌種	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 、 <i>Staphylococcus haemolyticus</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 、 <i>Staphylococcus haemolyticus</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i>

(二) 了解腋下菌對碳源的應用

1. 腋下菌對碳源的應用

為了更進一步瞭解由腋下採樣出的 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Staphylococcus aureus* 我們使用含有九十五種碳源的九十六孔盤來進行腋下菌對碳源運用的測試，其中的九十五種碳源又可分為 Amides/Amines、AmiX acids、Carbohydrates、Carboxylic acids、Miscellaneous、Polymers 六大類(詳細資料及分類請見附錄 4)。實驗結果顯示(由表 3-7)，*Staphylococcus epidermidis* 可利用 31 種碳源、*Staphylococcus haemolyticus* 可利用 27 種碳源、*Micrococcus luteus* 可利用 23 種碳源、*Staphylococcus lugdunensis* 可利用 26 種碳源、*Staphylococcus aureus* 可利用 20 種碳源。*Staphylococcus epidermidis* 可利用的碳源數最多，

*Staphylococcus aureus* 可利用的碳源數最少。且 *Staphylococcus epidermidis* 和 *Staphylococcus haemolyticus* 的碳源利用最為相似。統計各株菌可利用的碳源數如表 3-3:

表 3-3 各株菌可利用的碳源數

	3	5	8	12	21
A1 Water	X	X	X	X	X
A2 $\alpha$ -Cyclodextrin	X	X	X	X	X
A3 Dextrin	V	V	V	V	V
A4 Glycogen	V	V	V	V	V
A5 Tween 40	X	X	X	V	X
A6 Tween 80	X	X	X	V	X
A7 N-Acetyl-DGalactosamine	X	X	X	X	X
A8 N-Acetyl-DGlucosamine	X	X	X	X	X
A9 Adonitol	X	X	X	X	X
A10 L-ArabiXse	X	V	X	V	V
A11 D-Arabitol	X	X	X	X	X
A12 D-Cellobiose	V	V	V	V	V
B1 i-Erythritol	X	X	X	X	X
B2 D-Fructose	V	V	V	V	X
B3 L-Fucose	X	X	X	X	X
B4 D-Galactose	V	X	X	X	X
B5 Gentiobiose	X	X	X	X	X
B6 $\alpha$ -D-Glucose	V	V	V	V	V
B7 m-IXsitol	X	X	X	X	X
B8 $\alpha$ -D-Lactose	V	X	X	X	X
B9 Lactulose	X	X	X	X	X
B10 Maltose	V	V	V	X	V
B11 D-Mannitol	X	X	X	X	X
B12 D-ManXse	V	V	V	V	V
C1 D-Melibiose	X	X	X	X	X
C2 $\beta$ -Methyl-D-Glucoside	X	X	X	X	X
C3 D- Psicose	V	V	V	X	V
C4 D-RaffiXse	V	V	V	V	X
C5 L-RhamXse	X	X	X	X	X
C6 D-Sorbitol	V	X	X	X	X
C7 Sucrose	V	V	V	X	V

<b>C8 D-Trehalose</b>	V	V	V	V	V
<b>C9 TuraXse</b>	V	V	V	V	V
<b>C10 Xylitol</b>	X	X	X	X	X
<b>C11 Pyruvic Acid Methyl Ester</b>	V	V	V	X	X
<b>C12 Succinic Acid MoX-Methyl-Ester</b>	X	V	V	V	X
<b>D1 Acetic Acid</b>	V	V	V	V	V
<b>D2 Cis-Aconitic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>D3 Citric Acid</b>	X	X	X	V	X
<b>D4 Formic Acid</b>	X	X	X	V	X
<b>D5 D-Galactonic Acid Lactone</b>	X	X	X	X	X
<b>D6 D-Galacturonic Acid</b>	X	X	X	X	V
<b>D7 D-Gluconic Acid</b>	V	V	X	X	V
<b>D8 D-Glucosaminic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>D9 D-Glucuronic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>D10 <math>\alpha</math>-Hydroxybutyric Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>D11 <math>\beta</math>-Hydroxybutyric Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>D12 <math>\gamma</math>-Hydroxybutyric Acid</b>	V	X	X	V	V
<b>E1 p-Hydroxy Phenylacetic Acid</b>	X	X	X	V	X
<b>E2 Itaconic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>E3 <math>\alpha</math>-Keto Butyric Acid</b>	V	X	V	V	X
<b>E4 <math>\alpha</math>-Keto Glutaric Acid</b>	V	V	X	X	X
<b>E5 <math>\alpha</math>-Keto Valeric Acid</b>	X	V	X	V	X
<b>E6 D,L-Lactic Acid</b>	V	V	V	X	V
<b>E7 Malonic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>E8 Propionic Acid</b>	V	V	V	V	V
<b>E9 Quinic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>E10 D-Saccharic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>E11 Sebacic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>E12 Succinic Acid</b>	X	V	X	X	V
<b>F1 Bromosuccinic Acid</b>	V	V	V	V	X
<b>F2 Succinamic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>F3 Glucuronamide</b>	X	X	X	X	X
<b>F4 L-Alaninamide</b>	X	X	X	X	X
<b>F5 D-Alanine</b>	V	X	X	X	X
<b>F6 L-Alanine</b>	V	X	X	X	X
<b>F7 L-Alanylglycine</b>	X	X	X	V	X
<b>F8 L-Asparagine</b>	X	X	X	X	X

<b>F9 L-Aspartic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>F10 L-Glutamic Acid</b>	V	V	V	V	X
<b>F11 Glycyl-Laspartic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>F12 Glycyl-Lglutamic Acid</b>	X	X	X	X	V
<b>G1 L-Histidine</b>	X	X	X	X	X
<b>G2 Hydroxy-Lproline</b>	X	X	X	X	X
<b>G3 L-Leucine</b>	X	X	V	X	X
<b>G4 L-Ornithine</b>	X	X	X	X	X
<b>G5 Lphenylalanine</b>	X	X	X	X	X
<b>G6 L-Proline</b>	X	X	V	X	X
<b>G7 L-Pyroglutamic Acid</b>	X	X	X	V	X
<b>G8 D-Serine</b>	X	X	X	X	X
<b>G9 L-Serine</b>	V	X	X	X	X
<b>G10 L-Threonine</b>	X	X	X	X	X
<b>G11 D,L-Carnitine</b>	X	X	X	X	X
<b>G12 <math>\gamma</math>-AmiX Butyric Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>H1 Urocanic Acid</b>	X	X	X	X	X
<b>H2 IXsine</b>	X	X	X	X	X
<b>H3 Uridine</b>	X	X	V	X	X
<b>H4 Thymidine</b>	X	X	X	X	X
<b>H5 Phenylethylamine</b>	V	V	X	X	X
<b>H6 Putrescine</b>	X	X	X	X	X
<b>H7 2-AmiXethaXI</b>	X	X	X	X	X
<b>H8 2,3-Butanediol</b>	X	V	X	X	X
<b>H9 Glycerol</b>	V	V	V	V	X
<b>H10 D,L-<math>\alpha</math>-Glycerol Phosphate</b>	X	X	X	X	X
<b>H11 <math>\alpha</math>-D-Glucose-1-Phosphate</b>	X	X	V	X	X
<b>H12 D-Glucose-6-Phosphate</b>	V	X	X	X	V

註 1.

3 號菌: *Saphylococcus epidermidis*

5 號菌: *Staphylococcus haemolyticus*

8 號菌: *Micrococcus luteus*

12 號菌: *Staphylococcus lugdunensis*

21 號菌: *Staphylococcus aureus*

註 2.顏色是為了區分六大類碳源，詳細資料及分類請見附錄 4。

表 3-4 腋下各株菌可利用的碳源數

All substrates	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Amides/Amines (總共 6 種)	1	1	0	0	0
AmiX acids (總共 20 種)	4	1	2	3	1
Carbohydrates (總共 28 種)	13	11	10	8	9
Carboxylic acids (總共 24 種)	7	7	3	8	7
Miscellaneous (總共 12 種)	4	5	6	3	1
Polymers (總共 5 種)	2	2	2	4	2
Total	31	27	23	26	20

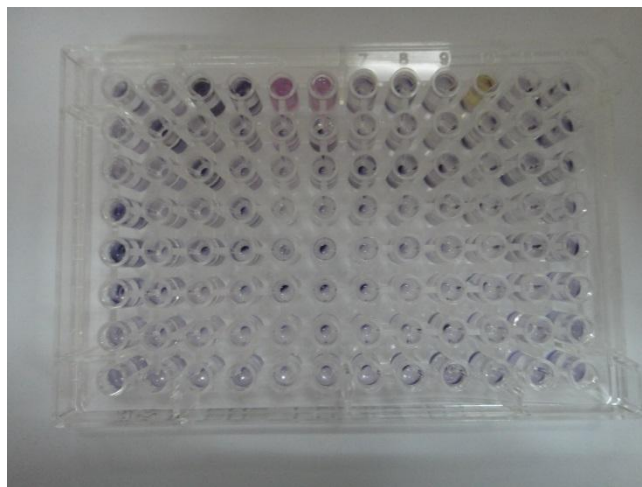


圖 3-4 *Staphylococcus haemolyticus* 的九十六孔盤



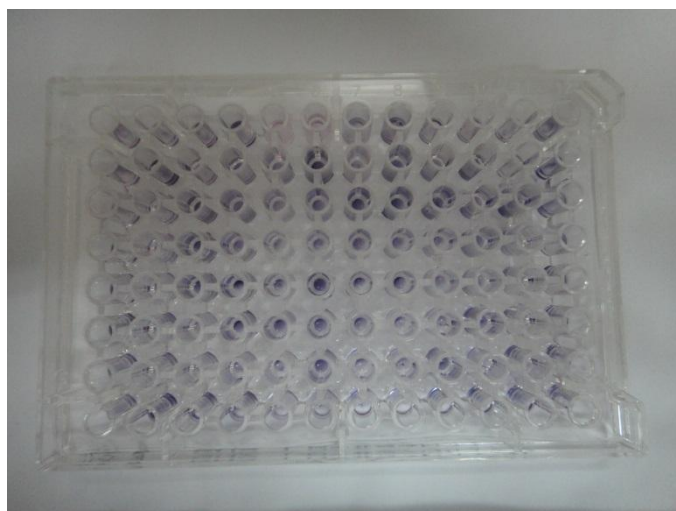


圖 3-5 *Micrococcus luteus* 的九十六孔盤

此外，本實驗為了驗證由不同部位採樣下來的同種菌株會有同樣的碳源利用。因此我們分析了不同來源的 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus* 的碳源利用。

2. 不同部位的 *Staphylococcus epidermidis* 碳源利用比較表: (如下表 3-5)

實驗結果顯示兩株 *Staphylococcus epidermidis* 有些微的碳源利用不同，腋下採樣出的菌能利用 31 種碳源，腳趾縫間採樣出的菌能利用 28 種碳源。腋下採樣出的 *Staphylococcus epidermidis* 能利用 D-Galactose、D-Sorbitol、 $\gamma$ -Hydroxybutyric Acid、 $\alpha$ -Keto Glutaric Acid、Phenyethylamine、Glycerol、D-Glucose-6-Phosphate 但腳趾縫間採樣出的 *Staphylococcus epidermidis* 卻不能。而腳趾縫間採樣出的 *Staphylococcus epidermidis* 能利用 N-Acetyl-Dglucosamine、L-Alanylglycine、Uridine、Thymidine 但腋下採樣出的 *Staphylococcus epidermidis* 卻不能。

表 3-5 肩膀上的 *Staphylococcus epidermidis* 和腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis* 之碳源利用比較

	腋下採樣出的 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	腳趾縫間採樣出的 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<b>A1 Water</b>	X	X
<b>A2 <math>\alpha</math>-Cyclodextrin</b>	X	X
<b>A3 Dextrin</b>	V	V
<b>A4 Glycogen</b>	V	V
<b>A5 Tween 40</b>	X	X
<b>A6 Tween 80</b>	X	X
<b>A7 N-Acetyl-DGalactosamine</b>	X	X

<b>A8 N-Acetyl-DGlucosamine</b>	X	V
<b>A9 Adonitol</b>	X	X
<b>A10 L-ArabiXse</b>	X	X
<b>A11 D-Arabitol</b>	X	X
<b>A12 D-Cellobiose</b>	V	V
<b>B1 i-Erythritol</b>	X	X
<b>B2 D-Fructose</b>	V	V
<b>B3 L-Fucose</b>	X	X
<b>B4 D-Galactose</b>	V	X
<b>B5 Gentiobiose</b>	X	X
<b>B6 <math>\alpha</math>-D-Glucose</b>	V	V
<b>B7 m-IXsitol</b>	X	X
<b>B8 <math>\alpha</math>-D-Lactose</b>	V	V
<b>B9 Lactulose</b>	X	X
<b>B10 Maltose</b>	V	V
<b>B11 D-Mannitol</b>	X	X
<b>B12 D-ManXse</b>	V	V
<b>C1 D-Melibiose</b>	X	X
<b>C2 <math>\beta</math>-Methyl-D-Glucoside</b>	X	X
<b>C3 D-Psicose</b>	V	V
<b>C4 D-RaffiXse</b>	V	V
<b>C5 L-RhamXse</b>	X	X
<b>C6 D-Sorbitol</b>	V	X
<b>C7 Sucrose</b>	V	V
<b>C8 D-Trehalose</b>	V	V
<b>C9 TuraXse</b>	V	V
<b>C10 Xylitol</b>	X	X
<b>C11 Pyruvic Acid Methyl Ester</b>	V	V
<b>C12Succinic Acid MoX-Methyl-Ester</b>	X	X
<b>D1 Acetic Acid</b>	V	V
<b>D2 Cis-Aconitic Acid</b>	X	X
<b>D3 Citric Acid</b>	X	X
<b>D4 Formic Acid</b>	X	X
<b>D5 D-Galactonic Acid Lactone</b>	X	X
<b>D6 D-Galacturonic Acid</b>	X	X
<b>D7 D-Gluconic Acid</b>	V	V
<b>D8 D-Glucosaminic Acid</b>	X	X

<b>D9 D-Glucuronic Acid</b>	X	X
<b>D10 <math>\alpha</math>-Hydroxybutyric Acid</b>	X	X
<b>D11 <math>\beta</math>-Hydroxybutyric Acid</b>	X	X
<b>D12 <math>\gamma</math>-Hydroxybutyric Acid</b>	✓	X
<b>E1 p-Hydroxy Phenylacetic Acid</b>	X	X
<b>E2 Itaconic Acid</b>	X	X
<b>E3 <math>\alpha</math>-Keto Butyric Acid</b>	✓	✓
<b>E4 <math>\alpha</math>-Keto Glutaric Acid</b>	✓	X
<b>E5 <math>\alpha</math>-Keto Valeric Acid</b>	X	X
<b>E6 D,L-Lactic Acid</b>	✓	✓
<b>E7 Malonic Acid</b>	X	X
<b>E8 Propionic Acid</b>	✓	✓
<b>E9 Quinic Acid</b>	X	X
<b>E10 D-Saccharic Acid</b>	X	X
<b>E11 Sebacic Acid</b>	X	X
<b>E12 Succinic Acid</b>	X	X
<b>F1 Bromosuccinic Acid</b>	✓	✓
<b>F2 Succinamic Acid</b>	X	X
<b>F3 Glucuronamide</b>	X	X
<b>F4 L-Alaninamide</b>	X	X
<b>F5 D-Alanine</b>	✓	✓
<b>F6 L-Alanine</b>	✓	✓
<b>F7 L-Alanylglycine</b>	X	✓
<b>F8 L-Asparagine</b>	X	X
<b>F9 L-Aspartic Acid</b>	X	X
<b>F10 L-Glutamic Acid</b>	✓	✓
<b>F11 Glycyl-Laspartic Acid</b>	X	X
<b>F12 Glycyl-Lglutamic Acid</b>	X	X
<b>G1 L-Histidine</b>	X	X
<b>G2 Hydroxy-Lproline</b>	X	X
<b>G3 L-Leucine</b>	X	X
<b>G4 L-Ornithine</b>	X	X
<b>G5 Lphenylalanine</b>	X	X
<b>G6 L-Proline</b>	X	X
<b>G7 L-Pyroglutamic Acid</b>	X	X
<b>G8 D-Serine</b>	X	X
<b>G9 L-Serine</b>	✓	✓

<b>G10 L-Threonine</b>	X	X
<b>G11 D,L-Carnitine</b>	X	X
<b>G12 <math>\gamma</math>-AmiX Butyric Acid</b>	X	X
<b>H1 Urocanic Acid</b>	X	X
<b>H2 IXsine</b>	X	X
<b>H3 Uridine</b>	X	V
<b>H4 Thymidine</b>	X	V
<b>H5 Phenyethylamine</b>	V	X
<b>H6 Putrescine</b>	X	X
<b>H7 2-AmiXethaXI</b>	X	X
<b>H8 2,3-Butanediol</b>	X	X
<b>H9 Glycerol</b>	V	X
<b>H10 D,L-<math>\alpha</math>-Glycerol Phosphate</b>	X	X
<b>H11 <math>\alpha</math>-D-Glucose-1-Phosphate</b>	X	X
<b>H12 D-Glucose-6-Phosphate</b>	V	X

註.顏色是為了區分六大類碳源，詳細資料及分類請見附錄 4。

表 3-6 不同來源的 *Staphylococcus epidermidis* 碳源利用比較表

All substrates	腋下採樣出的 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	腳趾縫間採樣出的 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Amides/Amines (總共 6 種)	1	0
AmiX acids (總共 20 種)	4	5
Carbohydrates (總共 28 種)	13	12
Carboxylic acids (總共 24 種)	7	5
Miscellaneous (總共 12 種)	4	4
Polymers (總共 5 種)	2	2
Total	31	28

3. 不同部位的 *Staphylococcus haemolyticus* 碳源利用比較表: (如下表 3-7)

實驗結果顯示三株 *Staphylococcus haemolyticus* 有部分相似的碳源利用。腋下採樣出的菌能利用 27 種碳源，肩膀採樣出的菌能利用 28 種碳源，腳趾縫間採樣出的菌能利用 12 種碳源。比較之下，腋下採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 和肩膀採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 碳源相似度較高，而與腳趾縫間採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 差異較大。

表 3-7 不同部位 *Staphylococcus haemolyticus* 的碳源利用

	腋下採樣出的 <i>Staphylococcus</i> <i>haemolyticus</i>	肩膀採樣出的 <i>Staphylococcus</i> <i>haemolyticus</i>	腳趾縫間採樣出的 <i>Staphylococcus</i> <i>haemolyticus</i>
A1 Water	X	X	X
A2 $\alpha$ -Cyclodextrin	X	X	X
A3 Dextrin	V	V	V
A4 Glycogen	V	V	V
A5 Tween 40	X	X	X
A6 Tween 80	X	X	X
A7N-Acetyl-DGalactosamine	X	X	X
A8 N-Acetyl-DGlucosamine	X	X	X
A9 Adonitol	X	X	X
A10 L-ArabiXse	V	V	V
A11 D-Arabitol	X	X	V
A12 D-Cellobiose	V	V	X
B1 i-Erythritol	X	X	X
B2 D-Fructose	V	V	X
B3 L-Fucose	X	X	X
B4 D-Galactose	X	X	X
B5 Gentiobiose	X	X	X
B6 $\alpha$ -D-Glucose	V	V	V
B7 m-IXsitol	X	X	X
B8 $\alpha$ -D-Lactose	X	V	X
B9 Lactulose	X	V	X
B10 Maltose	V	V	V
B11 D-Mannitol	X	X	X
B12 D-ManXse	V	V	V
C1 D-Melibiose	X	X	X
C2 $\beta$ -Methyl-D-Glucoside	X	X	X

<b>C3 D-Psicose</b>	√	√	X
<b>C4 D-RaffiXse</b>	√	√	X
<b>C5 L-RhamXse</b>	X	X	X
<b>C6 D-Sorbitol</b>	X	√	X
<b>C7 Sucrose</b>	√	√	√
<b>C8 D-Trehalose</b>	√	√	X
<b>C9 TuraXse</b>	√	√	X
<b>C10 Xylitol</b>	X	X	X
<b>C11Pyruvic Acid Methyl Ester</b>	√	√	X
<b>C12Succinic Acid MoX-Methyl-Ester</b>	√	X	X
<b>D1 Acetic Acid</b>	√	√	√
<b>D2 Cis-Aconitic Acid</b>	X	X	X
<b>D3 Citric Acid</b>	X	X	X
<b>D4 Formic Acid</b>	X	X	X
<b>D5D-GalactonicAcid Lactone</b>	X	X	X
<b>D6 D-Galacturonic Acid</b>	X	X	√
<b>D7 D-Gluconic Acid</b>	√	√	X
<b>D8 D-Glucosaminic Acid</b>	X	X	X
<b>D9 D-Glucuronic Acid</b>	X	X	X
<b>D10 <math>\alpha</math> -Hydroxybutyric Acid</b>	X	X	X
<b>D11 <math>\beta</math> -Hydroxybutyric Acid</b>	X	X	X
<b>D12 <math>\gamma</math> -Hydroxybutyric Acid</b>	X	√	X
<b>E1p-HydroxyPhenylacetic Acid</b>	X	X	X
<b>E2 Itaconic Acid</b>	X	X	X
<b>E3 <math>\alpha</math> -Keto Butyric Acid</b>	X	√	√
<b>E4 <math>\alpha</math> -Keto Glutaric Acid</b>	√	X	X
<b>E5 <math>\alpha</math> -Keto Valeric Acid</b>	√	X	√
<b>E6 D,L-Lactic Acid</b>	√	√	X
<b>E7 Malonic Acid</b>	X	X	X
<b>E8 Propionic Acid</b>	√	√	√
<b>E9 Quinic Acid</b>	X	X	X
<b>E10 D-Saccharic Acid</b>	X	X	X
<b>E11 Sebacic Acid</b>	X	X	X
<b>E12 Succinic Acid</b>	√	X	X
<b>F1 Bromosuccinic Acid</b>	√	√	√
<b>F2 Succinamic Acid</b>	X	X	X
<b>F3 Glucuronamide</b>	X	X	X

<b>F4 L-Alaninamide</b>	X	X	X
<b>F5 D-Alanine</b>	X	V	X
<b>F6 L-Alanine</b>	X	V	X
<b>F7 L-Alanylglycine</b>	X	X	X
<b>F8 L-Asparagine</b>	X	X	X
<b>F9 L-Aspartic Acid</b>	X	X	X
<b>F10 L-Glutamic Acid</b>	V	X	X
<b>F11 Glycyl-Laspartic Acid</b>	X	X	X
<b>F12 Glycyl-Lglutamic Acid</b>	X	X	X
<b>G1 L-Histidine</b>	X	X	X
<b>G2 Hydroxy-Lproline</b>	X	X	X
<b>G3 L-Leucine</b>	X	X	V
<b>G4 L-Ornithine</b>	X	X	X
<b>G5 Lphenylalanine</b>	X	X	X
<b>G6 L-Proline</b>	X	X	X
<b>G7 L-Pyroglutamic Acid</b>	X	X	X
<b>G8 D-Serine</b>	X	X	X
<b>G9 L-Serine</b>	X	X	X
<b>G10 L-Threonine</b>	X	X	X
<b>G11 D,L-Carnitine</b>	X	X	X
<b>G12 <math>\gamma</math>-AmiX Butyric Acid</b>	X	V	X
<b>H1 Urocanic Acid</b>	X	X	X
<b>H2 IXsine</b>	X	X	X
<b>H3 Uridine</b>	X	X	X
<b>H4 Thymidine</b>	X	X	X
<b>H5 Phenethylamine</b>	V	X	X
<b>H6 Putrescine</b>	X	X	X
<b>H7 2-AmiXethaXI</b>	X	X	X
<b>H8 2,3-Butanediol</b>	V	V	X
<b>H9 Glycerol</b>	V	V	V
<b>H10D,L- <math>\alpha</math>-Glycerol Phosphate</b>	X	X	X
<b>H1 <math>\alpha</math>-D-Glucose-1-Phosphate</b>	X	X	X
<b>H12 D-Glucose-6-Phosphate</b>	X	X	X

註.顏色是為了區分六大類碳源，詳細資料及分類請見附錄 4。

表 3-8 不同來源的 *Staphylococcus haemolyticus* 碳源利用比較表

All substrates	腋下採樣出的 <i>Staphylococcus</i> <i>haemolyticus</i>	肩膀採樣出的 <i>Staphylococcus</i> <i>haemolyticus</i>	腳趾縫間採樣出的 <i>Staphylococcus</i> <i>haemolyticus</i>
Amides/Amines (總共 6 種)	1	0	0
AmiX acids (總共 20 種)	1	3	1
Carbohydrates (總共 28 種)	11	13	6
Carboxylic acids (總共 24 種)	7	6	5
Miscellaneous (總共 12 種)	5	4	2
Polymers (總共 5 種)	2	2	2
Total	27	28	12

(三) GC 檢測出的結果(詳細數據請見附錄 5)

我們由文獻 (James et al., 2012) 得知 *Staphylococcus* 會把白胺酸轉換成異戊酸，因此我們把腋下的 *Staphylococcus epidermidis*、腋下的 *Staphylococcus haemolyticus*、腋下的 *Micrococcus luteus*、腋下的 *Staphylococcus lugdunensis*、腋下的 *Staphylococcus aureus*、肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis*、*E.coli*，這九株菌分別養入 LB 和 M9 培養基中，另外再準備一管沒有加入任何菌的當作對照組。培養一天之後，再經由 GC 測量以上菌株產生異戊酸的量。此外，為了解有無添加白胺酸是否會造成異戊酸產量的差異，本實驗比較了在同樣環境下有無添加白胺酸的差異。



1.各樣本加入白胺酸的試管之異戊酸濃度與未加入白胺酸的試管之異戊酸濃度的比值高低比較(如圖 3-6 和 3-7)

濃度：mg/L 圖 3-6 各株菌將白胺酸轉換成異戊酸的濃度比較

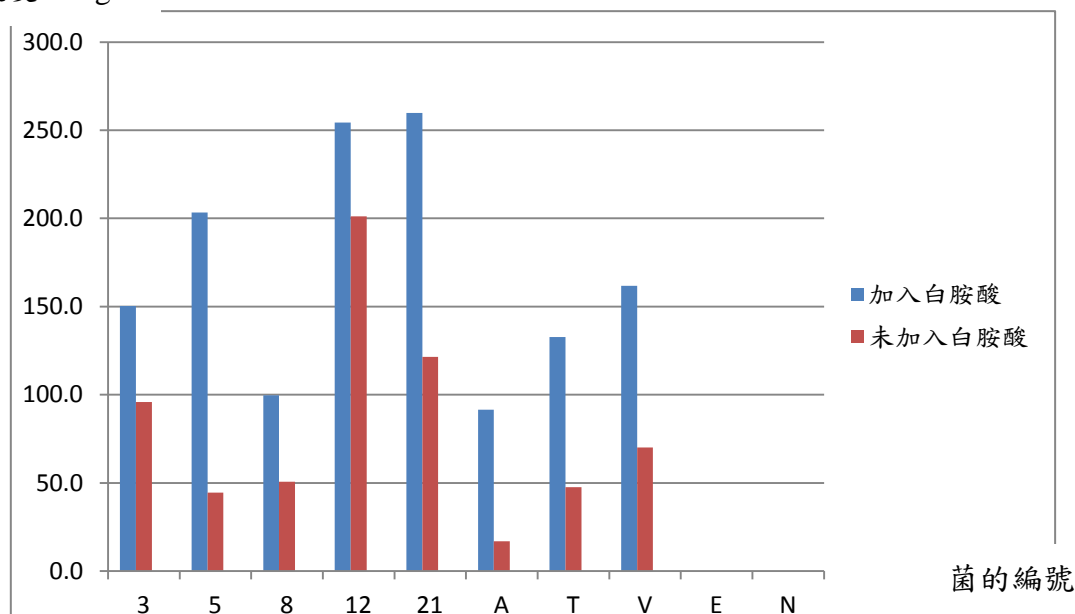
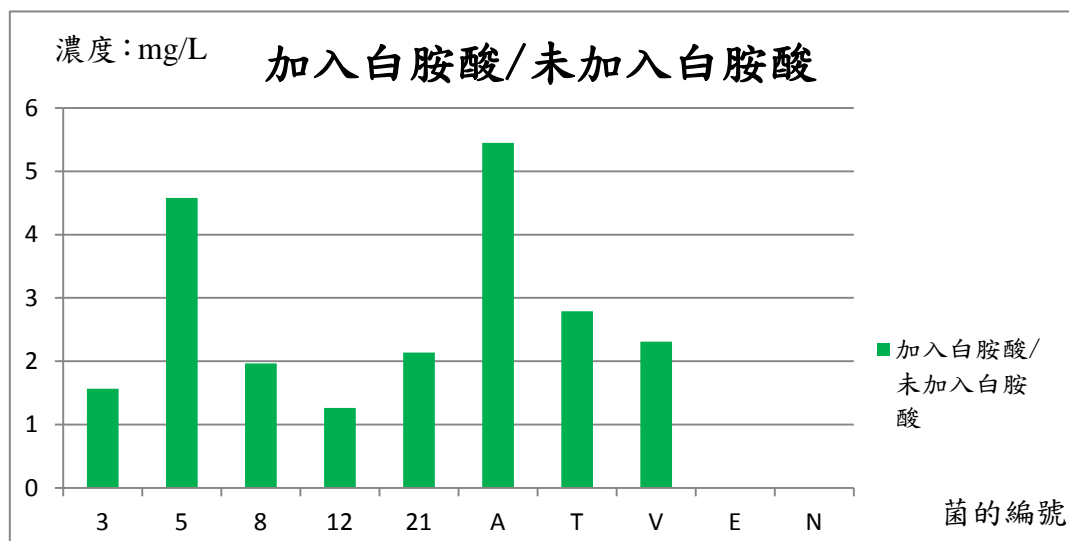


圖 3-7 各樣本加入白胺酸的試管之異戊酸濃度與未加入白胺酸的試管之異戊酸濃度的比值高低比較



3：腋下的 *Staphylococcus epidermidis*

5：腋下的 *Staphylococcus haemolyticus*

8：腋下的 *Micrococcus luteus*

12：腋下的 *Staphylococcus lugdunensis*

21：腋下的 *Staphylococcus aureus*

A：肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*

T：腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus*

V：腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis*

E：*E.coli*

N：未加入任何菌種

在用試管培養的 LB 環境中，不論有無加白胺酸，肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*、腋下的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis*、腋下的 *Staphylococcus aureus*、腋下的 *Micrococcus luteus*、腋下的 *Staphylococcus epidermidis*、腋下的 *Staphylococcus lugdunensis* 皆會產生異戊酸。其中，腋下的 *Staphylococcus haemolyticus* 和肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus* 在此環境屬於產異戊酸效率高，而腋下的 *Staphylococcus epidermidis*、腋下的 *Micrococcus luteus*、腋下的 *Staphylococcus lugdunensis*、腋下的 *Staphylococcus aureus*、肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis*。在用試管培養的 M9 環境中，每一管皆沒檢測到異戊酸。〈如下表 3-9〉

表 3-9 各樣本加入白胺酸的試管之異戊酸濃度與未加入白胺酸的試管之異戊酸濃度的比值高低

菌名	比值
腋下的 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	低
腋下的 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	高
腋下的 <i>Micrococcus luteus</i>	低
腋下的 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	低
肩膀上的 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	高
腳趾縫間的 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	低
腳趾縫間的 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	低
<i>E.coli</i>	無
未加入任何菌種	無

(四) 與腋下其他菌拮抗結果

由於狐臭菌將白胺酸轉換成異戊酸而造成狐臭來源，我們希望找出能抑制狐臭菌生長的腋下菌，進一步改善人類的狐臭，因此進行了本實驗。實驗結果顯示，由腋下篩選出來的菌株並不會互相拮抗，如表 3-10（拮抗效果佳：V；無拮抗效果：X）以及圖 3-8 所示。

表 3-10 腋下篩選出來的菌株互相拮抗結果

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		X	X	X	X
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	X		X	X	X
<i>Micrococcus luteus</i>	X	X		X	X
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	X	X	X		X
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	X	X	

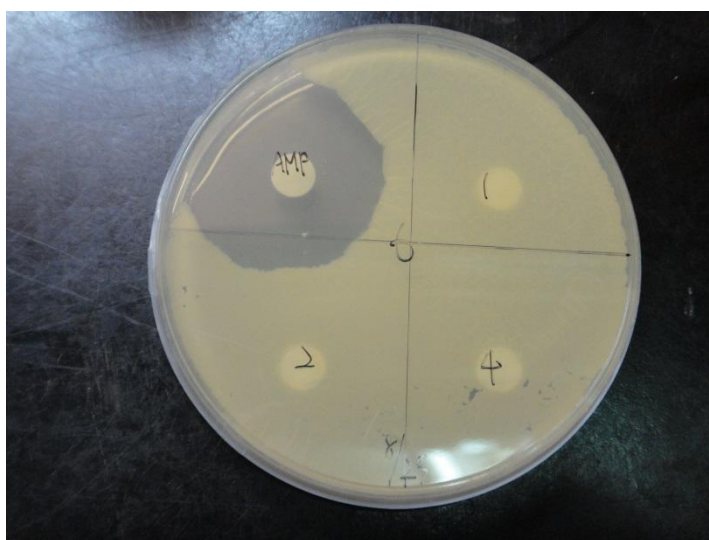


圖 3-8 AMP 為用來作為對照組的抗生素，圖片顯示腋下菌並不會互相拮抗

(五) 市面上香水、抑菌劑、沐浴乳、潔膚液、衣物手洗精對腋下菌的抑制效果（表 3-11）（圖 3-9~3-20）

市面上可看到許多商品標榜可以抑制金黃色葡萄球菌，或是可以除臭，我們挑選了潔膚液、衣物手洗精、沐浴乳、男用香水、女用香水、男用制汗爽身噴霧、女用制汗爽身噴霧(廠牌及濃度請見附錄 2)，來測試其抑菌效果，若可以成功抑菌，則可觀察到菌量減少或到盤面上有抑制圈。

香水並無抑菌效果，男用和女用抑菌劑對 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis*、

*Staphylococcus aureus* 皆有效，周圍並無菌落產生。依必朗的沐浴乳和潔膚液對 *Staphylococcus aureus* 有良好抑制效果，對 *Staphylococcus epidermidis* 和 *Staphylococcus lugdunensis* 只有些微抑菌效果，周圍有較小的菌落產生，對 *Staphylococcus haemolyticus* 和 *Micrococcus luteus* 則完全無效。衣物手洗精以及多芬的沐浴乳對以上五株菌皆無抑菌效果，周圍的菌正常生長。

表 3-11 市面上香水、抑菌劑、沐浴乳、潔膚液、衣物手洗精對腋下菌的抑制效果

	男用香水	女用香水	男用抑菌劑	女用抑菌劑	沐浴乳(多芬)	沐浴乳(依必朗)	潔膚液	衣物手洗精
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	X	X	V	V	X	O	O	X
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	X	X	V	V	X	X	X	X
<i>Micrococcus luteus</i>	X	X	V	V	X	X	X	X
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	X	X	V	V	X	O	O	X
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	V	V	X	V	V	X

註：V 表抑制效果佳(周圍無菌落)；O 表有些微抑制效果(周圍有較小的菌落)；X 表無抑制效果

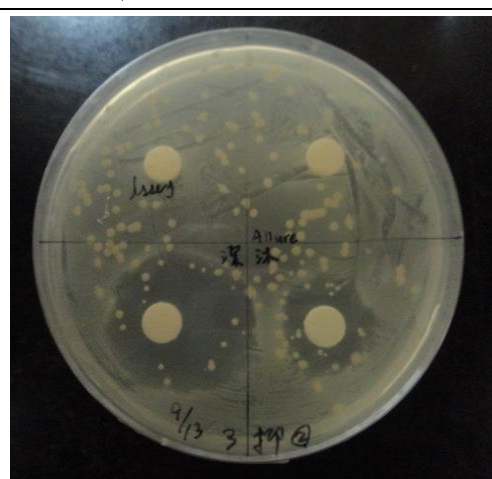


圖 3-9 由圖中可知，潔膚液和依必朗沐浴乳周圍有抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus epidermidis* 有抑制效果。而男用香水和女用香水香水周圍皆無抑菌圈，表示它對其沒有抑制效果。



圖 3-10 由圖中可知，潔膚液、依必朗沐浴乳、男用香水和女用香水香水周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus haemolyticus* 沒有抑制效果。

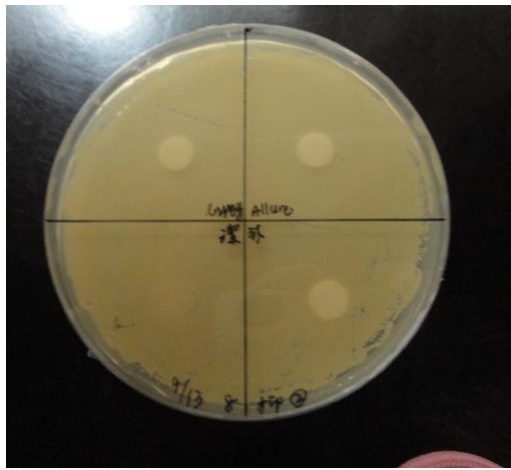


圖 3-11 由圖中可知，潔膚液、依必朗沐浴乳、男用香水和女用香水周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Micrococcus luteus* 沒有抑制效果。



圖 3-12 由圖中可知，潔膚液和依必朗沐浴乳周圍有抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus lugdunensis* 有抑制效果。而男用香水和女用香水周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus lugdunensis* 沒有抑制效果。

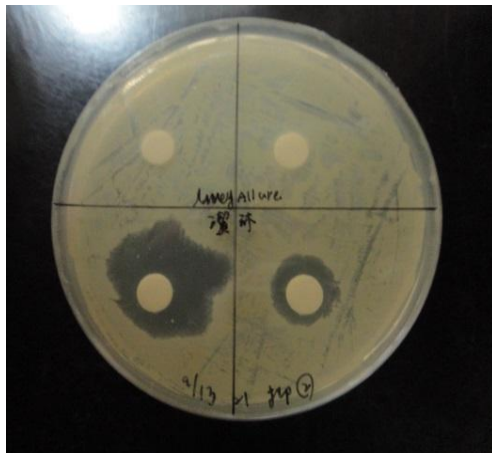


圖 3-13 由圖中可知，潔膚液和依必朗沐浴乳周圍有抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus aureus* 有抑制效果。而男用香水和女用香水周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus aureus* 沒有抑制效果。

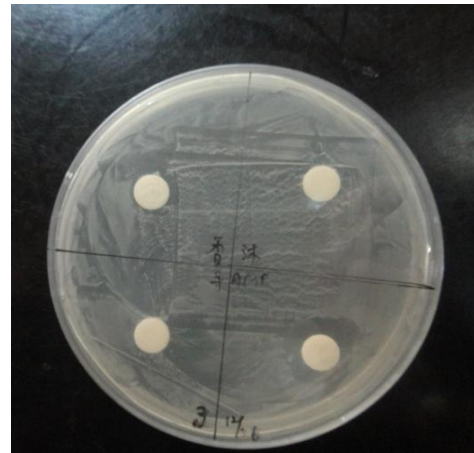


圖 3-14 由圖中可知，AMP(對照組)周圍有抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus epidermidis* 有抑制效果。而香水、衣物手洗精，和多芬的沐浴乳周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus epidermidis* 沒有抑制效果。



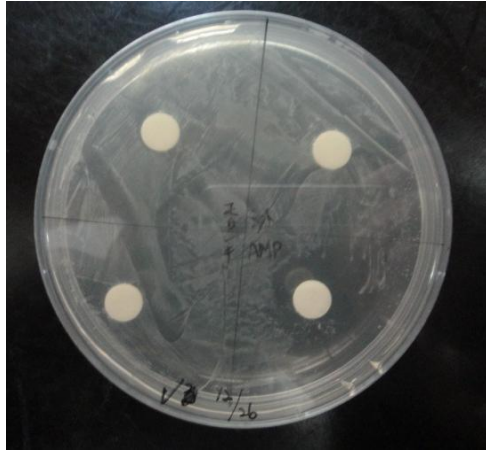


圖 3-15 由圖中可知，AMP(對照組)周圍有抑菌圈，表示它對腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis* 有抑制效果。而香水、衣物手洗精，和多芬的沐浴乳周圍皆無抑菌圈，表示它對腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis* 沒有抑制效果。

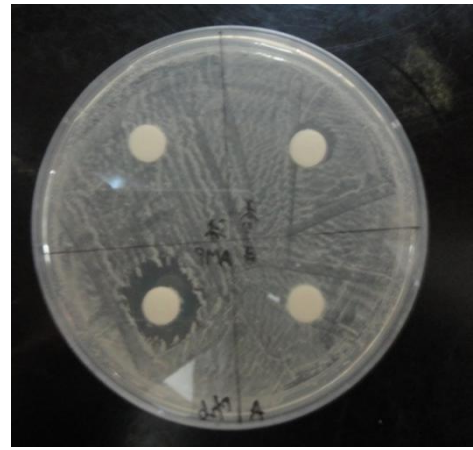


圖 3-16 由圖中可知，AMP(對照組)周圍有抑菌圈，表示它對肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus* 有抑制效果。而香水、衣物手洗精，和多芬的沐浴乳周圍皆無抑菌圈，表示它對肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus* 沒有抑制效果。



圖 3-17 由圖中可知，AMP(對照組)周圍有抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus aureus* 有抑制效果。而香水、衣物手洗精，和多芬的沐浴乳周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus aureus* 沒有抑制效果。



圖 3-18 由圖中可知，AMP(對照組)周圍有抑菌圈，表示它對腋下的 *Micrococcus luteus* 有抑制效果。而香水、衣物手洗精，和多芬的沐浴乳周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Micrococcus luteus* 沒有抑制效果。



圖 3-19 由圖中可知，AMP(對照組)周圍有抑菌圈，表示它對腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus* 有抑制效果。而香水、衣物手洗精，和多芬的沐浴乳周圍皆無抑菌圈，表示它對腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus* 沒有抑制效果。

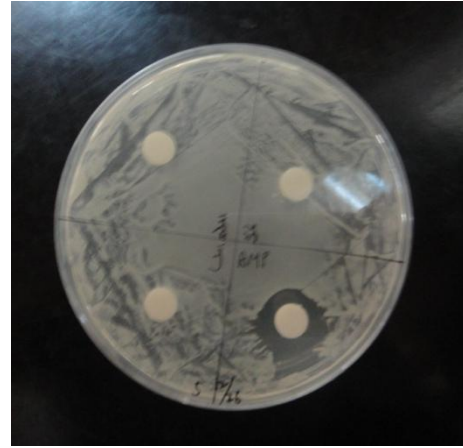


圖 3-20 由圖中可知，AMP(對照組)周圍有抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus haemolyticus* 有抑制效果。而香水、衣物手洗精，和多芬的沐浴乳周圍皆無抑菌圈，表示它對腋下的 *Staphylococcus haemolyticus* 沒有抑制效果。

(六) 其他部位菌相與腋下菌相的比較(詳細數據請見附錄 3)

本實驗是為了瞭解身體其他部位的菌相並與腋下菌相進行比較，選擇研究肩膀菌相是因為肩膀的位置與腋下十分相近。研究腳趾縫間的菌相則是因為腳趾縫同樣會散發異味，因此想藉由研究菌相了解是否是同樣的菌種在散發異味。本實驗共定序了肩膀菌 11 株，腳趾縫間的菌 33 株。腋下菌相總共有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Staphylococcus aureus* 五株菌，肩膀的菌相則是 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus* 三株菌，腳趾縫間則是 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*。

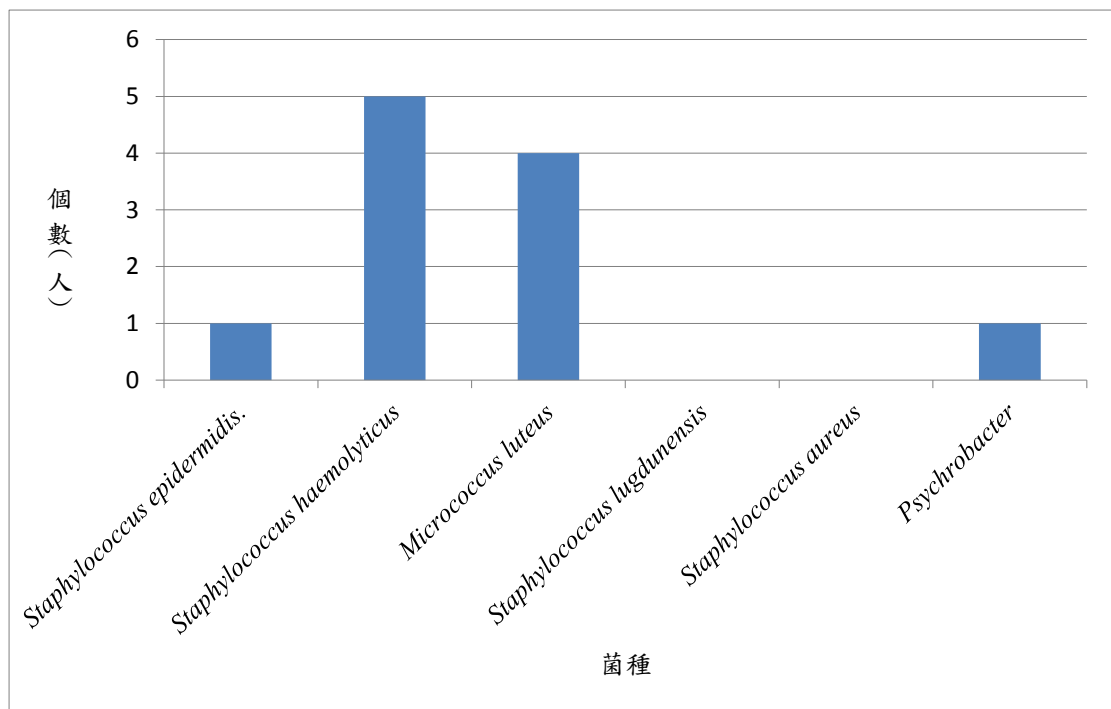
1. 肩膀的菌：單一菌種對應人的數量 (圖 3-21)：

*Staphylococcus epidermidis* 1 株

*Staphylococcus haemolyticus*：5 株

*Micrococcus luteus*：4 株

圖 3-21 肩膀菌相:單一菌種對應人的數量



註：採樣者資料：男性：6 人，女性：6 人

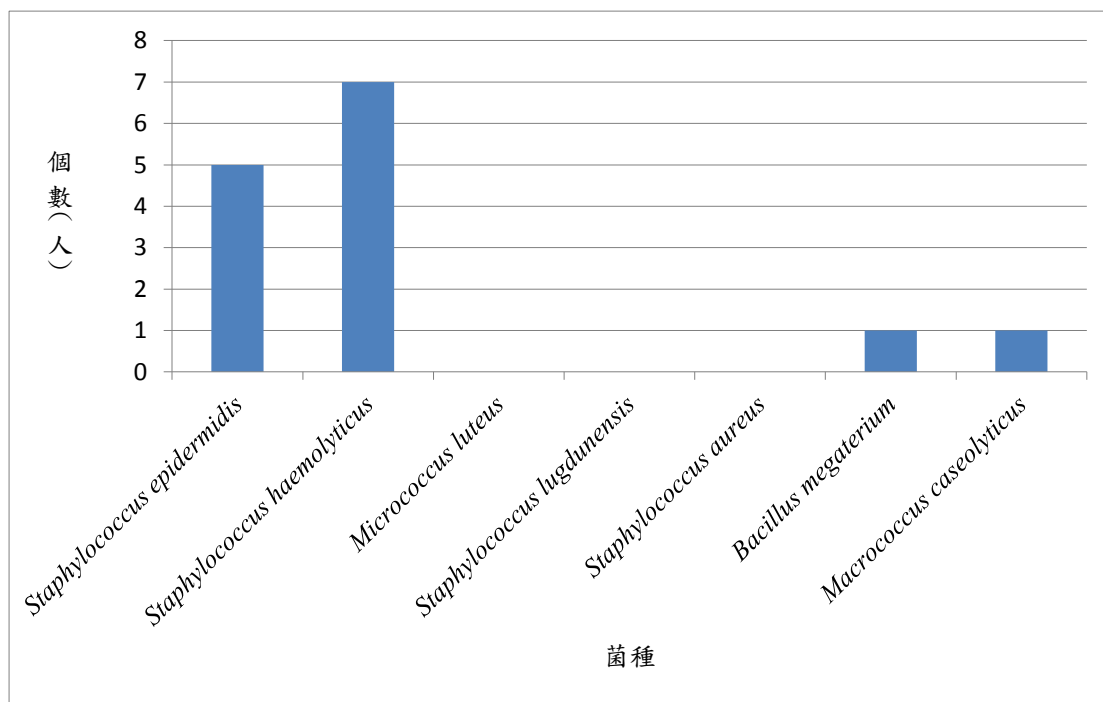


2. 腳趾縫間的菌：單一菌種對應人的數量（圖 3-22）：

*Staphylococcus epidermidis*:5 株

*Staphylococcus haemolyticus*:7 株

圖 3-22 腳趾縫間菌相:單一菌種對應人的數量



註：採樣者資料：男性：6 人，女性：6 人

## 二、研究討論

### (一) 腋下菌相討論

本實驗由 28 個人身上採樣，經過純化、定序後總共有 60 株菌，刪除重複的菌後，得出樣本的腋下菌相是 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Staphylococcus aureus* 這五株菌。其中，*Staphylococcus aureus* 只在一個樣本身上發現，或許不是腋下普遍菌相。為探討年齡層與菌種之間的關係，故選擇樣本數較多的 11~20 歲及 41~50 歲進行比較。11~20 歲有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus aureus* 三株菌，41~50 歲有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis* 四株菌。為探討性別與菌種之間的關係，經整理男性身上有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis* 四株菌，女性身上有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus* 三株菌。由結果可知，腋下菌相會因年齡層、性別有些微差異。有無狐臭則端看身上是否有導致臭味的菌及身體是否會產出供那株菌轉換的前驅物。而刻板印象中，"男生比女生臭"推測男生汗腺較女生發達可能是原因之一

(菅屋潤壹、橫關博雄, 2012)。此外, 本實驗由文獻 (James et al., 2012) 得知西方人菌相主要由 *Staphylococcus*、*Micrococcus*、*Corynebacterium* 和 *Propionibacterium* 構成。其中 *Corynebacterium* 和 *Propionibacterium* 本實驗並未找出, 推測應是東西方人的菌相不同。據文獻 (James et al., 2012) 記載, *Corynebacterium* 也是會早成狐臭的菌種, 推測應是造成東西方人體味差異的原因。

## (二) 碳源結果討論

腋下的 *Staphylococcus epidermidis* 可利用 31 種碳源、腋下的 *Staphylococcus haemolyticus* 可利用 27 種碳源、腋下的 *Micrococcus luteus* 可利用 23 種碳源、腋下的 *Staphylococcus lugdunensis* 可利用 26 種碳源、腋下的 *Staphylococcus aureus* 可利用 20 種碳源。*Staphylococcus epidermidis* 可利用的碳源數最多, *Staphylococcus aureus* 可利用的碳源數最少。此外, *Staphylococcus epidermidis* 和 *Staphylococcus haemolyticus* 的碳源利用最為相似且能利用最多碳源, 推測與他們是腋下最常見的菌相有關。而本實驗也測試不同部位的兩株 *Staphylococcus epidermidis*、三株 *Staphylococcus haemolyticus* 是否有同樣的碳源利用, 實驗結果顯示兩株 *Staphylococcus epidermidis* 有些微的碳源利用差異, 腋下採樣出的菌能利用 31 種碳源, 腳趾縫間採樣出的菌能利用 28 種碳源。三株 *Staphylococcus haemolyticus* 有部分相似的碳源利用。腋下採樣出的菌能利用 27 種碳源, 肩膀採樣出的菌能利用 28 種碳源, 腳趾縫間採樣出的菌能利用 12 種碳源。比較之下, 腋下採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 和肩膀採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 碳源相似度較高, 而與腳趾縫間採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 差異較大, 推測同種菌的碳源利用不盡相同, 可能是由於同種但不同品系的緣故。腋下採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 和肩膀採樣出的 *Staphylococcus haemolyticus* 碳源相似度較高, 應是腋下與肩膀部位相近的緣故。

## (三) GC 結果討論

我們由文獻 (James et al., 2012) 得知 *Staphylococcus* 會把白胺酸轉換成異戊酸, 因此我們把 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Staphylococcus aureus* 這五株菌分別養入 LB 和 M9 培養基中, 再經由 GC 測量以上菌株產生異戊酸的量。此外, 為了解有無添加白胺酸是否會造成異戊酸產量的差異, 本實驗比較了在同一環境下有無添加白胺酸的差異。

本實驗的目的是要比較各菌種分解白胺酸轉換成異戊酸的效率。因此我們比較有加入白胺酸的試管之異戊酸濃度與未加入白胺酸的試管之異戊酸濃度的比值, 比值大小依序是肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*、腋下的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis*、腋下的 *Staphylococcus aureus*、腋下的 *Micrococcus luteus*、腋下的

*Staphylococcus epidermidis*、腋下的 *Staphylococcus lugdunensis*，而加入 *E.coli* 和未加入菌液的對照組皆無檢測出異戊酸，這可能造成人體的狐臭濃淡上的差異。由參考文獻 (James et al., 2012) 可知，該論文認為是 *Staphylococcus* 轉換白胺酸成異戊酸造成狐臭，但在本實驗中發現，*Micrococcus luteus* 也同樣能轉換白胺酸成異戊酸造成狐臭。

此外，我們發現腋下的 *Staphylococcus haemolyticus*、肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*、腳趾縫間的 *Staphylococcus haemolyticus* 的數值最高，其中肩膀上及腋下 *Staphylococcus haemolyticus* 其比值與其它的比值有顯著的差異，推測其將白胺酸轉換成異戊酸效果最好。而雖然養入腋下的 *Staphylococcus lugdunensis* 的試管測出的異戊酸濃度很高，但其加入白胺酸的試管之異戊酸濃度與未加入白胺酸的試管之異戊酸濃度的比值很低，推測有可能是因為 *Staphylococcus lugdunensis* 也會將 LB 液態培養基中的其他養分轉換成異戊酸，造成其測出的異戊酸濃度很高，但其加入白胺酸的試管之異戊酸濃度與未加入白胺酸的試管之異戊酸濃度的比值卻很低。另外，根據採集菌種並定序的資料，*Staphylococcus haemolyticus* 在該實驗中的樣本者不論是腋下、肩膀或腳趾縫間出現率皆是所有菌種中最高的，推測 *Staphylococcus haemolyticus* 應該是東方人腋下最主要的菌種，也是造成狐臭的主要因素。

#### (四) 腋下其他菌拮抗結果討論

由參考文獻 (James et al., 2012) 可知，腋下菌可以轉換白胺酸成為異戊酸，並造成狐臭。而由 GC 結果可知 *Staphylococcus haemolyticus* 產生異戊酸的量最高。我們希望能在腋下菌相中，找出能抑制狐臭菌生長的腋下菌。但由結果可知，腋下的菌並不會互相拮抗，推測本次實驗採樣到的多為優勢菌群，因此拮抗效果不佳。未來可嘗試增加樣本數，找出能抑制狐臭菌生長的腋下菌。

#### (五) 市面上香水、抑菌劑、沐浴乳、潔膚液、衣物手洗精對腋下菌的抑制效果討論

市面上可看到許多商品標榜可以抑制金黃色葡萄球菌，或是可以除臭，我們挑選了潔膚液、衣物手洗精，沐浴乳、男用香水、女用香水、男用制汗爽身噴霧、女用制汗爽身噴霧(廠牌及濃度請見附錄 2)，來測試其抑菌效果，若可以成功抑菌，則可觀察到菌量減少或到盤面上有抑制圈。

由實驗結果可知，香水能改善人體的氣味，是因為裡頭添加香料掩蓋異味所致，並非因為它有抑菌效果。抑菌劑對腋下菌皆有效，依必朗的沐浴乳和潔膚液對 *Staphylococcus aureus* 有良好抑制效果，對 *Staphylococcus epidermidis* 和 *Staphylococcus lugdunensis* 只有些微抑菌效果，對 *Staphylococcus haemolyticus* 和 *Micrococcus luteus* 則完全無效。因此沐浴乳及潔膚液並不能達到確實清潔皮膚的效果。衣物手洗精清洗過後的衣物並不能去除上頭的細菌，推測可能會造成有無狐臭的人共穿同一件衣物後，無狐臭的人身上也有了較會散發臭味的菌進而導致

未來腋下也會發出異味。另外，我們還發現，同樣品名都是沐浴乳，但多芬和依必朗的抑菌效果不太相同，推測可能有些商品雖然用途一樣，但效果不盡相同，所以要慎選商品。

根據依必朗的潔膚液和沐浴乳以及多芬沐浴乳的瓶身之成分標示，他們皆含有 methylisothiazolinone，methylisothiazolinone 抑制對革蘭氏陰、陽性細菌、黴菌及酵母菌均有抑制作用，但根據實驗結果，依必朗的產品只能抑制 *Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis* 和 *Staphylococcus lugdunensis*，而多芬沐浴乳則完全無法抑制，其原因推測應該為濃度所致。

#### (六) 其他部位菌相與腋下菌相的比較討論

肩膀上的菌相是 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus* 三株菌，並沒有發現 *Staphylococcus lugdunensis* 和 *Staphylococcus aureus* 兩株菌。推測是因為腋下能提供較特殊的養分或較適合的環境。腳趾縫間的菌則有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus* 兩株菌，推測同樣是因為養分差異使 *Micrococcus luteus*、*Staphylococcus lugdunensis* 和 *Staphylococcus aureus* 無法生長。此外，腋下菌相和腳趾縫間的菌相有部分相同，且同樣會散發異味，可能是造成這兩部分臭味的原因。

## 肆、 結論與應用

### 一、結論：

本實驗所篩出的腋下菌種包括 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus aureus*，肩膀上的菌有 *Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus*，腳趾縫間的菌有 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*。在 GC 檢測結果可以發現 *Staphylococcus haemolyticus* 將白氨酸轉換成異戊酸的效果最好。實驗用的兩種抑菌劑對 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus aureus* 皆有良好效果，但依必朗的潔膚液和沐浴乳只對 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus aureus* 有些微抑菌效果，而無法抑制 *Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Micrococcus luteus* 生長。香水、衣物手洗精和多芬的沐浴乳對 *Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus aureus* 則都無抑制效果。拮抗實驗中，*Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus lugdunensis*、*Micrococcus luteus*、*Staphylococcus aureus*，肩膀上的菌有 *Staphylococcus haemolyticus*、*Micrococcus luteus* 皆無法互相拮抗。

### 二、應用

- (一) 未來可比較各個國家或不同環境的人的腋下菌相，以了解菌相是否會因為人種、環境等等因素而改變。
- (二) 異戊酸只是臭味的一部分，未來能分析菌的產物藉以找出導致狐臭的其他成分。
- (三) 找出更完整的腋下作用機制，藉以找出更好的改善狐臭的方法，希望仍藉由非藥物的方式改善狐臭。
- (四) 研究腳趾縫間和腋下菌種的相似及的菌種為何相似及臭味來源是否相同。

## 伍、參考文獻

管屋潤壹、橫關博雄 (2012), 「汗液」祕密知多少? , *牛頓雜誌 No. 61*, 牛頓媒體股份有限公司, 台灣, 頁 98-103。

G. Guillet, A. Zampetti and M. L. Aballain-Colloc (2000), "Correlation between bacterial population and axillary and plantar bromidrosis: study of 30 patients," *European Journal of Dermatology 10(1)*, pp. 41-42.

A. Gordon James, Corrine J. Austin, Diana S. Cox, David Taylor and Ralph Calvert (2012), " Microbiological and biochemical origins of human axillary odour," *Federation of European Materials Societies (83)*, pp. 527-540.

何櫻寧 (2013), 植物內共生菌對於植生復育與生物防治的應用與研究, 台灣, 頁 32、70-72

## 附錄 1

### G C 酸醇條件：

Glass column (Length 1.6 m Inner diameter 3.2 mm)

Column packing (FON 10% MESH 80~100, support: Celite 545 A)

Column flow: 20 mL/min

Injector temperature:190°C

Detector temperature:200°C

Column temperature step:

90°C hold 2 minutes

heating rate: 20°C/min 135°C hold 7 minutes

heating rate: 10°C/min 170°C hold 1.25 minutes

total analysis time: 16 minutes

## 附錄 2

### 1.男用香水：

ALLURE，不稀釋，直接滴於 disk



### 2.女用香水：

ISSEY MIYAKE，不稀釋，直接滴於 disk



### 3.男用抑菌劑：

NIVEA，150 ml 裝直接噴於盤面



### 4.女用抑菌劑：

Rexona，150 ml 裝，直接噴於盤面





**5.潔膚液：**

依必朗，35ml 裝，不稀釋，直接滴於 disk



**6.沐浴乳：**

依必朗，35 ml 裝，以無菌水稀釋 3 倍



多芬，55ml 裝，以無菌水稀釋三倍



7.衣物手洗精：

白鴿，9 g/5 L，耐斯企業股份有限公司



### 附錄 3

#### 一採

1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	9	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
3	<i>Staphylococcus epidermidis.</i>	11	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
4	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	12	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
5	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	13	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
6	<i>Bacillus pumilus</i>	14	<i>Micrococcus luteus</i>
7	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	15	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
8	<i>Micrococcus luteus</i>	16	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>

#### 二採

17	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	21	<i>Staphylococcus aureus</i>
18	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	22	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
19	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	23	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
20	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	24	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>

#### 三採

25	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	34	<i>Micrococcus luteus</i>
26	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	35	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
27	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	36	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
28	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	37	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
29	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	38	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
30	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	39	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
31	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	40	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
32	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	41	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
33	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	42	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

#### 四採

43	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	46	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
44	因為定序訊號混亂故無結果	47	<i>Bacillus pumilus</i>
45	<i>Micrococcus luteus</i>		

五採

48	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	55	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
49	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	56	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
50	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	57	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
51	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	58	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
52	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	59	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
53	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	60	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
54	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		

四採

肩膀菌：

A	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	F	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
B	<i>Micrococcus luteus</i>	G	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
C	<i>Micrococcus luteus</i>	H	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
D	<i>Micrococcus luteus</i>	I	<i>Micrococcus luteus</i>
E	<i>Micrococcus luteus</i>		

腳趾縫間的菌：

J	<i>Bacillus pumilus</i>	W	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
K	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	X	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
L	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Y	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
M	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Z	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
N	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ㄅ	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
O	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ㄆ	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
P	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ㄇ	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Q	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ㄏ	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
R	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ㄏ	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
S	因為定序訊號混亂故無結果	ㄏ	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
T	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ㄏ	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
U	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ㄏ	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
V	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		

## 附錄 4

九十六孔盤各孔中的詳細資料:

- 1 Amides/Amines
- 2 Amino acids
- 3 Carbohydrates
- 4 Carboxylic acids
- 5 Miscellaneous
- 6 Polymers

A1 Water		B1 i-Erythritol	3
A2 $\alpha$ -Cyclodextrin	6	B2 D-Fructose	3
A3 Dextrin	6	B3 L-Fucose	3
A4 Glycogen	6	B4 D-Galactose	3
A5 Tween 40	6	B5 Gentiobiose	3
A6 Tween 80	6	B6 $\alpha$ -D-Glucose	3
A7 N-Acetyl-DGalactosamine	3	B7 m-Inositol	3
A8 N-Acetyl-DGlucosamine	3	B8 $\alpha$ -D-Lactose	3
A9 Adonitol	3	B9 Lactulose	3
A10 L-Arabinose	3	B10 Maltose	3
A11 D-Arabitol	3	B11 D-Mannitol	3
A12 D-Cellobiose	3	B12 D-Mannose	3

C1 D-Melibiose	3	D1 Acetic Acid	4
C2 $\beta$ -Methyl-D-Glucoside	3	D2 Cis-Aconitic Acid	4
C3 D- Psicose	3	D3 Citric Acid	4
C4 D-Raffinose	3	D4 Formic Acid	4
C5 L-Rhamnose	3	D5 D-Galactonic Acid Lactone	4
C6 D-Sorbitol	3	D6 D-Galacturonic Acid	4
C7 Sucrose	3	D7 D-Gluconic Acid	4
C8 D-Trehalose	3	D8 D-Glucosaminic Acid	4
C9 Turanose	3	D9 D-Glucuronic Acid	4
C10 Xylitol	3	D10 $\alpha$ -Hydroxybutyric Acid	4
C11 Pyruvic Acid Methyl Ester	5	D11 $\beta$ -Hydroxybutyric Acid	4
C12 Succinic Acid Mono-Methyl-Ester	5	D12 $\gamma$ -Hydroxybutyric Acid	4

E1 p-Hydroxy Phenylacetic Acid	4	F1 Bromosuccinic Acid	5
E2 Itaconic Acid	4	F2 Succinamic Acid	1
E3 $\alpha$ -Keto Butyric Acid	4	F3 Glucuronamide	1
E4 $\alpha$ -Keto Glutaric Acid	4	F4 L-Alaninamide	1
E5 $\alpha$ -Keto Valeric Acid	4	F5 D-Alanine	2
E6 D,L-Lactic Acid	4	F6 L-Alanine	2
E7 Malonic Acid	4	F7 L-Alanylglycine	2
E8 Propionic Acid	4	F8 L-Asparagine	2
E9 Quinic Acid	4	F9 L-Aspartic Acid	2
E10 D-Saccharic Acid	4	F10 L-Glutamic Acid	2
E11 Sebacic Acid	4	F11 Glycyl-Laspartic Acid	2
E12 Succinic Acid	4	F12 Glycyl-Lglutamic Acid	2

G1 L-Histidine	2	H1 Urocanic Acid	5
G2 Hydroxy-Lproline	2	H2 Inosine	5
G3 L-Leucine	2	H3 Uridine	5
G4 L-Ornithine	2	H4 Thymidine	5
G5 Lphenylalanine	2	H5 Phenylethylamine	1
G6 L-Proline	2	H6 Putrescine	1
G7 L-Pyroglutamic Acid	2	H7 2-Aminoethanol	1
G8 D-Serine	2	H8 2,3-Butanediol	5
G9 L-Serine	2	H9 Glycerol	5
G10 L-Threonine	2	H10 D,L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate	5
G11 D,L-Carnitine	2	H11 $\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphate	5
G12 $\gamma$ -Amino Butyric Acid	2	H12 D-Glucose-6-Phosphate	5

## 附錄 5

### 各試管中的異戊酸濃度

編號 3 (腋下的 *Staphylococcus epidermidis*)

編號 5 (腋下的 *Staphylococcus haemolyticus*)

編號 8 (腋下的 *Micrococcus luteus*)

編號 12 (腋下的 *Staphylococcus lugdunensis*)

編號 21 (腋下的 *Staphylococcus aureus*)

編號 A (肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*)

編號 T (肩膀上的 *Staphylococcus haemolyticus*)

編號 V (腳趾縫間的 *Staphylococcus epidermidis*)

(Unit: mg/L)	Valerate	(Unit: mg/L)	Valerate
3LB 有白胺酸	150.4	5LB 有白胺酸好氧	203.3
3LB 無白胺酸好氧	95.5	5LB 無白胺酸好氧	44.4
3M9 有白胺酸好氧	-	5M9 有白胺酸好氧	-
3M9 無白胺酸好氧	-	5M9 無白胺酸好氧	-
8LB 有白胺酸好氧	99.6	12LB 有白胺酸好氧	254.3
8LB 無白胺酸好氧	50.7	12LB 無白胺酸好氧	201.2
8M9 有白胺酸好氧	-	12M9 有白胺酸好氧	-
8M9 無白胺酸好氧	-	12M9 無白胺酸好氧	-
21LB 有白胺酸好氧	259.8	A LB 有白胺酸好氧	91.5
21LB 無白胺酸好氧	121.4	A LB 有白胺酸好氧	-16.8
21M9 有白胺酸好氧	-	A LB 有白胺酸好氧	-
21M9 無白胺酸好氧	-	A LB 有白胺酸好氧	-
T LB 有白胺酸好氧	132.8	V LB 有白胺酸好氧	161.9
T LB 有白胺酸好氧	47.6	V LB 有白胺酸好氧	70.1
T LB 有白胺酸好氧	-	V LB 有白胺酸好氧	-
T LB 有白胺酸好氧	-	V LB 有白胺酸好氧	-
E LB 有白胺酸好氧	-	N LB 有白胺酸好氧	-
E LB 有白胺酸好氧	-	N LB 有白胺酸好氧	-
E LB 有白胺酸好氧	-	N LB 有白胺酸好氧	-
E LB 有白胺酸好氧	-	N LB 有白胺酸好氧	-

## 【評語】 070008

探討東西方人類狐臭菌分布，並發現不同之處，也觀察這些細菌將白胺酸轉換亦戊酸的效果，作品有趣也有確切的結果，並探討是受益菌劑香水潔膚液對腋下菌之抑制效果有其應用性。