

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫名稱：百合之成份分析與功能性評估

子計畫：百合莖醇萃取物抗菌能力評估

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CNHN9503

執行期間：95 年 1 月 1 日至 95 年 12 月 31 日

計畫主持人：邱淑媛

共同主持人：

計畫參與人員：王櫻娟

執行單位：嘉南藥理科技大學保健營養系

中華民國 95 年 12 月 31 日

計畫編號：CNHN9503

計畫名稱：百合鱗莖醇萃取物抗菌能力評估

執行期間：95年1月1日至95年12月31日

執行單位：嘉南藥理科技大學保健營養系

計畫主持人：邱淑媛

### 中文摘要

本研究以護來麗寶醫藥科學股份有限公司提供之百合 (*Lilium lancifolium* Thunb.) 進行抗菌能力之評估。研究採用抑菌環生成方式進行，分別以正己烷 (n-hexane)、95% 乙醇(ethanol)及丙酮(acetone)於室溫下萃取百合鱗莖粉末的可溶性成分，經過濾收集溶劑後，以減壓濃縮方式於 40°C 去除溶劑，所得的萃取物以相同溶劑回溶成樣品 20%之體積，以 0.22 um 濾膜除菌過濾後，進行抗菌能力評估，結果顯示正己烷萃取物對 *Streptococcus thermophilus* BCRC 12257 有抗菌性，乙醇萃取物對 *Bacillus thuringiensis* BCRC 11501 及 *Streptococcus thermophilus* BCRC 12257 有抗菌性，丙酮萃取物對 *Streptococcus thermophilus* BCRC 12257 有抗菌性。乙醇萃取物之最低抑菌濃度為 89 mg/mL。乙醇萃取物不具有活化白血球吞噬細菌之功能。

### 緒 言

百合為多年生草本植物，性寒味微苦，自古以來與人蔘的茲補功用，並被中醫界用於寧心安神、清心除煩、補中益氣、潤膚防衰、潤肺止咳之佐藥(楊玲玲等，2000)，如本草正義介紹的「百花膏」、「百合固金湯」及「百合地黃湯」等複方，都以百合

為主要原料(黃坤森等, 1995)。

一般中醫所使用的百合指的是百合的鱗莖，根據文獻的報導百合的鱗莖富含蛋白質、多醣體、有機酸、類黃酮及酚類物質(楊玲玲等, 2000)，而花藥則含有多纖維維生素、脂肪、有機酸和蛋白質等 (Francis et al., 2004)；所以目前對於百合的功能性評估多以其所含的特殊成份進行如抗氧化、抗菌性、腫瘤細胞抑制及免疫力提升等研究 (Wang et al. 2002; Juliana et al. 2003)。

然而不同品種的百合，所含的活性成份種類和含量可能有所差異，且於抗菌性、腫瘤細胞抑制及免疫力提升的研究尚缺少活體(*in vivo*)測試的具體數據。由於研究報告指出特定種類百合(*Lilium candidum* L.)對食品中毒病原菌大腸桿菌(*Escherichia coli*)具有抗菌性(Shahidi et al., 2004)，但並未見西方常見之百合(例如 *Lilium brownii*, *Lilium lancifolium* Thunb)等之鱗莖相關抗菌研究，因此，本研究擬採用抑菌環生成方式，以食品中常見導致食物中毒之革蘭氏陽性與革蘭氏陰性細菌為主要測試對象，探討百合鱗莖萃取物之抑菌圖譜(spectrum)及最低抑制濃度(minimal inhibition concentration)。

### 材料與方法

百合鱗莖醇萃取物：由麗寶醫藥科學

股份有限公司提供

**試驗菌株及培養基**：食品病原菌三株：金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、沙門氏菌 (*Salmonella enterociliflora* BCRC 12948)，培養於 tryptic soy agar 上。乳酸菌三株：比非德羅根乳酸菌 (*Bifidobacterium longum* BCRC 14602) 培養於含 0.05% cysteine 之 MRS agar 上、嗜熱鏈球菌 (*Streptococcus thermophilus* BCRC 12257) 及植物乳桿菌 (*Lactobacillus plantarum* BCRC 10357) 培養於 MRS agar 上。生物農藥蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*) 培養於 nutrient agar 上。食品加工用微生物納豆菌 (*Bacillus natto*) 培養於 nutrient agar 上。

**百合鱗莖粉末成分之溶劑萃取**：百合鱗莖粉末於 70°C 烘箱下乾燥至恆重，秤取 20 g 粉末以 50 mL 正己烷 (n-hexane)、95% 乙醇 (ethanol) 或丙酮 (acetone) 於溫下振盪萃取 2 天，以 Whatman #5 濾紙抽氣過濾收集溶劑，殘餘粉末再以 50 mL 相同溶劑萃取 2 天並收集溶劑，將前後兩次溶劑合併，以迴旋式減壓濃縮機於 40°C 下濃縮去除溶劑，秤重後回溶於 4 mL 相同溶劑中，於 -30°C 保存備用。

**抑菌實驗**：百合鱗莖萃取物於無菌操作台中以 0.22 μm 除菌濾膜過濾，取 0.03 mL 樣品（相當於 0.15 g 粉末之萃取物）以無菌濾紙盤吸附，置於無菌操作台中吹風一天使溶劑完全揮發。將測試細菌塗抹於適當之平板培養基上，以無菌鑷子夾取已吸附於濾紙片上之溶劑萃取物置於已塗上待試菌株之平板，復於 37°C 培養 1~2 天，

觀察抑菌環之生成並測量其半徑。

**最低抑菌濃度 (minimal inhibition concentration, MIC)**：將具抑菌性之成份進行二倍系列稀釋進行抑菌實驗，由可生成抑菌環之最高稀釋倍數計算其最低抑制濃度。

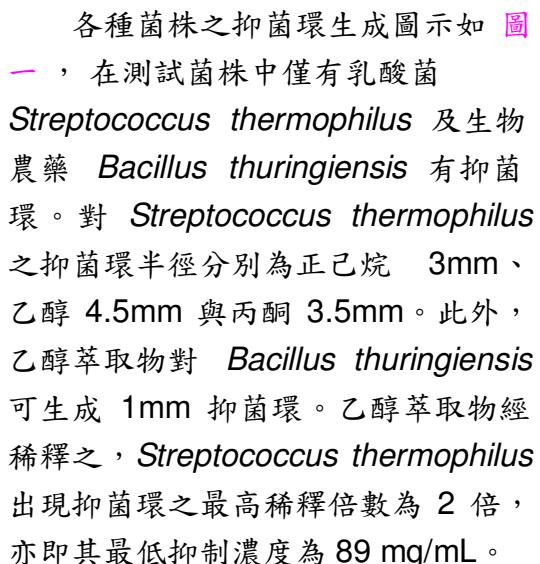
**白血球活化試驗**：將乙醇萃取物以 0.3, 0.6, 0.9 mg/mL 濃度添加至全血中，於 37°C 處理 4 小時，離心分離白血球 (PMN)，調整血球濃度為  $2.5 \times 10^6$  /mL。於白血球中加入  $2.5 \times 10^6$  /mL 金黃色葡萄球菌進行白血球吞噬試驗，每 30 分鐘取樣塗平板，藉由金黃色葡萄球菌數目，評估白血球受乙醇萃取物活化的程度。

## 結 果

### 百合鱗莖粉末之溶劑萃取

以正己烷、乙醇與丙酮對鱗莖粉末萃取，分別得到 26.4 mg (0.13%)、713 mg (3.57%) 與 59.5 mg (2.98%) 萃取物。正己烷萃取物外觀為無色，乙醇與丙酮之萃出物外觀為黃色，乙醇萃取物並具芳香味。

### 抑菌試驗

各種菌株之抑菌環生成圖示如 ， 在測試菌株中僅有乳酸菌 *Streptococcus thermophilus* 及生物農藥 *Bacillus thuringiensis* 有抑菌環。對 *Streptococcus thermophilus* 之抑菌環半徑分別為正己烷 3mm、乙醇 4.5mm 與丙酮 3.5mm。此外，乙醇萃取物對 *Bacillus thuringiensis* 可生成 1mm 抑菌環。乙醇萃取物經稀釋之，*Streptococcus thermophilus* 出現抑菌環之最高稀釋倍數為 2 倍，亦即其最低抑制濃度為 89 mg/mL。

## 白血球活化試驗

百合萃取物對白血球吞噬病原菌之活化試驗結果示如圖二。乙醇萃取物 0.3mg/mL, 0.6mg/mL 及 0.9 mg/mL 的影響與未經處理之白血球 (PMN)相較，可測得的菌數均較 PMN 組高，顯示乙醇萃取物不具有活化白血球之功效，相反地，在體外試驗中百合之乙醇萃取物會造成白血球活性稍微減弱，且有反應劑量之正比關係。

## 討 論

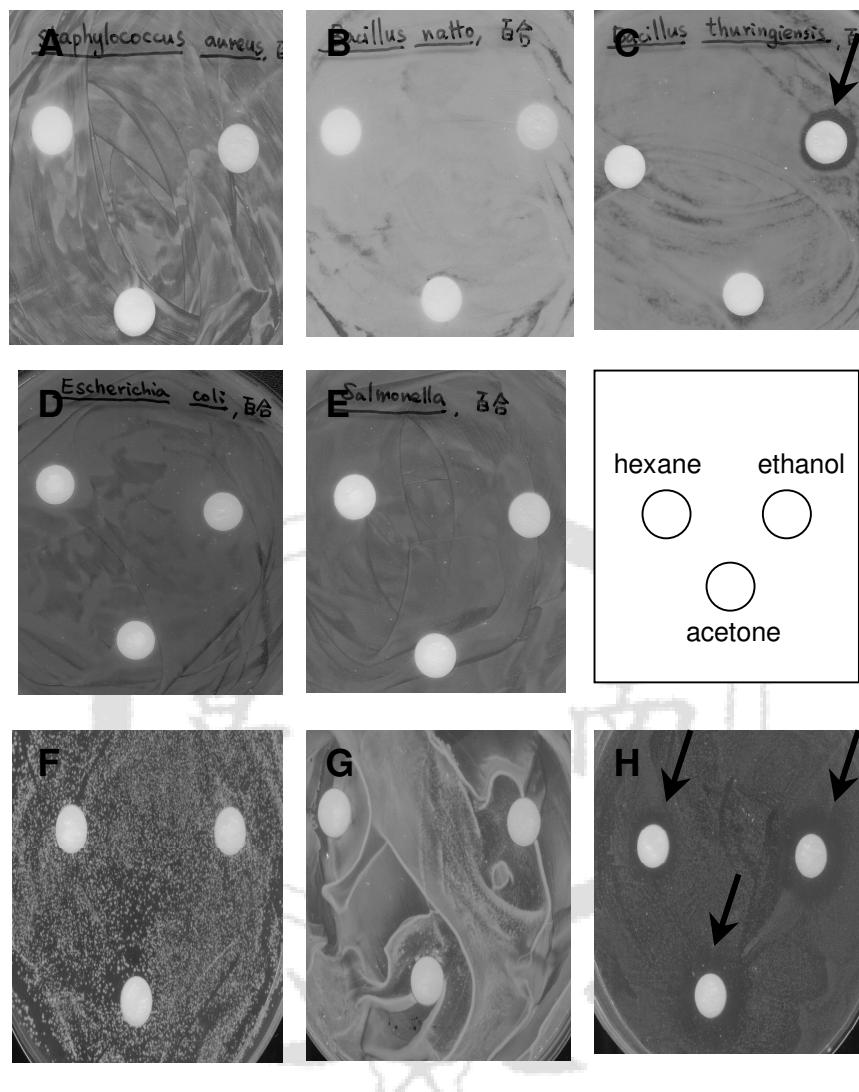
本研究並未發現百合鱗莖之萃取物對大腸桿菌具有抑制能力，顯示然不同品種的百合所含的活性成份確實有所差異。其萃取物對土壤微生物蘇力菌具有抑菌性，可能與百合在自然環境中的自我保護能力有關，但這點有待利用新鮮的百合進行相同的萃取之後才能確認。百合也對嗜熱性乳酸菌 *Streptococcus thermophilus* 具有較強的抑制能力，顯示利用百合作為乳酸菌相關食品研發可能會受到限制。然而，整體而言，一個食品材料不具有如「藥品」般的抑菌能力是值得肯定的，此意味著可依照百合的其他功能性決定使用量，毒性的限制顧慮較少。

有鑑於百合鱗莖粉末以碳水化合物成分為主，而近年來有許多研究指出碳水化合物中的  $\beta$ -聚糖具有活化白血球的（免疫促進）能力，本研究亦針對此性質進行試驗，結果顯示百合

鱗莖粉末不具有活化白血球吞噬病原菌的能力。

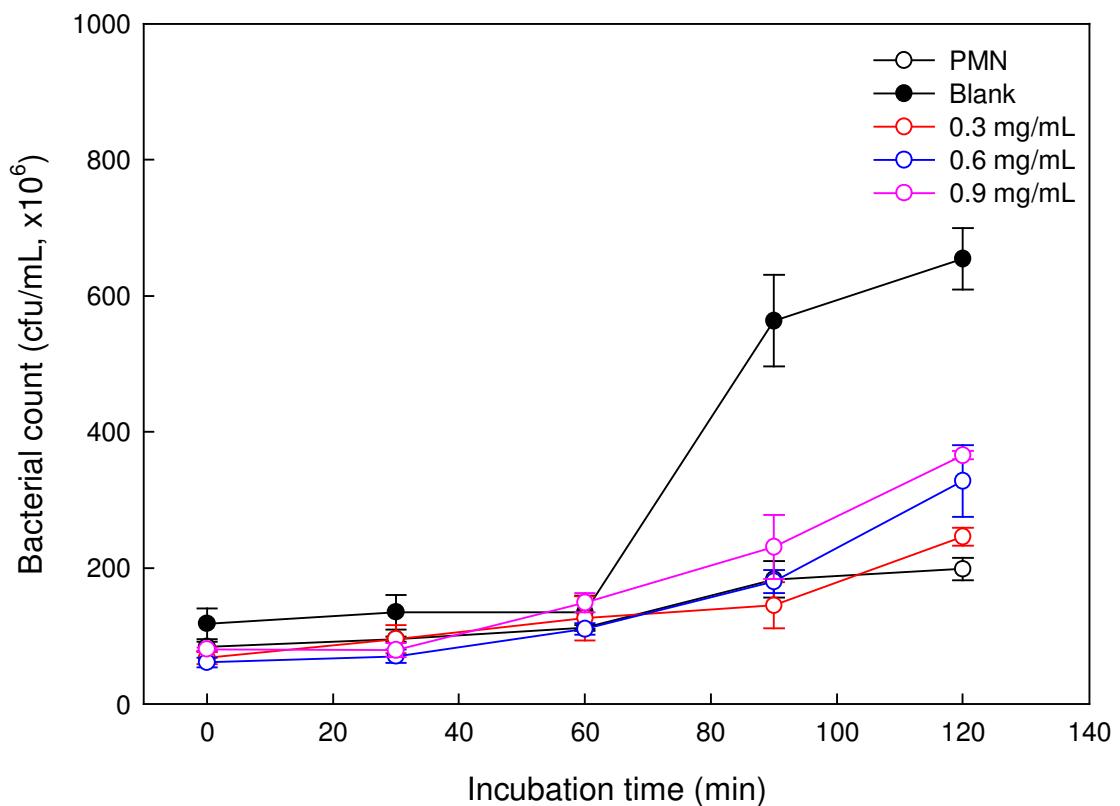
## 參考文獻

- 楊玲玲、陳文輝、許圳塗、顏焜熒. 食用百合之開發，產業科技發展學術合作論文集, 2000, 95-100
- 黃坤森、傅瓊慧、黃成禹、溫國慶. 市售中藥濃縮製劑總灰分、酸不溶性灰分、水抽提物及稀醇抽提物等品質調查，藥物食品檢驗局調查研究年報, 1995, 304-316
- Francis J. A., W. Rumbeha and M. G. Nair. Constituents in Easter Lily flowers with medical activity. *Life Sciences*, 76: 671-68, 2004
- Juliana K. R., Z. Wang, T. S. Sonda. Physicochemical and functional properties of Lily flour. *Food and Fermentation Industries*, 29: 45-48, 2003
- Shahidi, G. H., S. Aghighi and A. Karimi. Antibacterial and antifungal survey in plants used in indigenous herbal-medicine of south east regions of Iran. *Journal of Biologicla Sciences*, 4(3): 405-412, 2004.
- Wang H., and T. B. Ng. Isolation of lilyn, a novel arginine and glutamate rich protein with potent antifungal and mitogenic activities from Lily bulbs. *Life Sciences*, 70: 1078-1084, 2002.



圖一 百合鱗莖對各種細菌的抑菌環試驗

A, 金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*); B, 納豆菌(*Bacillus natto*); C, 蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*); D, 大腸桿菌(*Escherichia coli*); E, 沙門氏菌(*Salmonella enterocilitica*); F, 植物乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*); G, 比非德羅根乳酸菌 (*Bifidobacterium longum*); H, 嗜熱鏈球菌 (*Streptococcus thermophilus*).



圖二 百合鱗莖萃取物活化白血球吞噬金黃色葡萄球菌之試驗  
PMN, 未處理之白血球; Blank, 無白血球.