

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

中草藥化妝品開發子計畫(8)—樹葉部精油開發與抗菌評估

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CNIC93-01

執行期間：93年1月1日至93年12月31日

計畫總主持人：陳榮秀

子計畫主持人：林維炤

共同主持人：

計畫參與人員：林基銘，蔡玫琳，王翠霜

執行單位：化粧品應用與管理系

中華民國94年02月24日

## 一、摘要：

本研究以水蒸氣蒸餾法萃取白千層與樟樹樹葉的精油。並且評估精油的抗菌效果。研究結果顯示，陰乾時間會影響精油的產率，時間越久，精油萃出率越高。對於五種常見菌的抗菌評估來說，樟樹精油的抗菌性優於白千層，而對於白色念珠菌的效果最佳。

## 二、前言：

將草本成分應用於化妝品中已經有數百年的歷史了。近幾年來，由於工業的過度發展，使得人類生存的環境品質日趨下降。因此，提倡回歸自然的風氣愈來愈盛。這股風潮也表現在化妝品上(1)。愈來愈多的產品以添加天然的成分為訴求。而精油系列的化妝品也如雨後春筍般的上市。許多國際知名的大公司也推出含精油的產品。如 Nu Skin 推出含含薰衣草，金盞花精油的產品。Singh Also 則推出含迷迭香，鼠尾草精油的產品。Aliso Merzer 則是將茶樹，尤加利樹，薄荷油等精油應用於產品上。D'Acry's 則是在產品中添加尤加利與薄荷來治療粉刺與抗發炎。這些產品的主要訴求都在清潔，抗菌與抗發炎等，部分產品則有保濕與抗紫外線的功能(2)。而許多的研究的焦點也放在這些產品的應用效果上。如 Santosh 等人以綠茶抽出物添加於化妝品中，可以抗紫外線照射所引起的發炎，而達到光保護的目的(3)。在這麼多的精油產品中，以茶樹精油的的相關抗菌效果研究最多(4-7)。研究結果也顯示茶樹精油產品在抗菌與抗發炎的優異性。

本研究的主要目的即在尋找本土所常栽種的植物中，有哪些也具有抗菌的效果。在本年度的計畫中，先選定白千層與樟樹兩種植物。選定白千層的原因是由於它和茶樹屬於同一屬的植物。預料在精油中會有類似成分。而選定樟樹的原因在於台灣早年樟樹的發展十分蓬勃，大部分的生產都是取樹木部位，以水蒸氣法萃取出樟腦油與樟腦。而且許多地方的行道樹都是樟樹，發展樟樹精油可以落實本土化產業。

在精油的萃取上，則是取樹葉部位進行水蒸氣法萃取，由於樹葉再生容易，因此取此部位進行水蒸氣法萃取最具經濟與環保效益。

在精油評估上，以精油的抗菌效果評估為主，採用小抑制濃度 MIC (Minimum Inhibition Concentration) 方法測試。與 Triclosan 比較。所供試驗微生物均為 ATCC 標準菌株：有金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* 6538)，為革蘭氏陽性菌代表；大腸桿菌(*Escherichia coli* 8739)與綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa* 9027)，為革蘭氏陰性菌代表；白色念珠菌(*Candida albicans* 10231)與黑黴菌(*Aspergillus niger* 16404)，則分別為酵母菌與絲狀真菌代表菌株。以上這些菌是化妝品製造廠常用菌；也是造成皮膚生理伺機性感染菌類。

## 三、材料與方法：

### (1) 水蒸氣蒸餾法 (Method of Steam Distillation)

在做蒸餾之前，我們會把樟樹做前處理，就是把枝、葉分開，再把新鮮的葉子分為兩部分，一部分拿去做陰乾處理，另一部分保鮮，而在條件一樣下，進行萃取。

在進行精油萃取之前，先取樣品測其重量，以水蒸氣蒸餾法進行萃取。將蒸餾瓶裝滿 2/3 的水，控溫加熱器的溫度設定 100°C，使產生的水蒸氣直接通過樣品，萃取時間訂為 2 小時，水蒸氣會將精油抽出，經過冷凝管精油會沿著管壁流下至收集瓶，最後收集瓶內上層的精油拿去秤重，計算精油回收率。研究中，針對陰乾時間作評估，評估不同陰乾時間對於精油產率的影響。精油的裝置如圖[1] 所示。

## (2) 細菌評估

1.精油之調製:將水蒸氣蒸餾法與超臨界二氧化碳所萃取的樟樹與白千層精油在分別以含 0.5%甘油或 0.5%Tween 80 之培養液，分別調配稀釋成 50%、25%、10%及 Tricosan 2%各濃度之溶液，另以未添加任何精油之培養液為空白對照組，作為測試抑菌之用。

2.細菌培養:將裝有菌種之培養液培養至一段時間(6~8hr)，每次取 20ul 注入預先做好固態培養基（白色念珠菌的固態培養基是 YM BROTH+Agar，而金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、綠膿桿菌的固態培養基是 TAB+Agar）之培養皿中，並且均勻塗抹後放入 30°C 之培養箱 1hr，以除去多餘水份。

3 濾紙測試:將圓型濾紙（直徑 0.8cm）置於培養皿，並將各種不同稀釋的精油滴其圓型濾紙上，且再放回 30°C 之培養箱，經放置一夜，於次日進行觀察抑菌圈之大小，連續觀察 1-2 天。

## 四、結果

### (1)不同陰乾時間對於產率的影響

不同陰乾時間對於產率的影響如圖【2】所示，而產出的精油外觀無色，且白千層精油帶有辛辣的新涼味、樟樹精油則有青草的芳香味，經葉子所產的精油比樹枝來得多，而陰乾的葉子產量比保鮮的葉子產量多，且其產率，隨著陰乾的天數成正比。這可能是因為陰乾後，葉子表面的水分蒸發。使得內部的精油容易被萃取出來。

### (2)抑菌效果評估

1.以效果顯著差異較大的 50%各精油對單一菌種做比較，結果發現樟樹+Tween80 這組的抑菌圈比較好。圖【3】所示。

2.由上一個結果，故再針對樟樹+Tween80 這組對各菌種做抑菌圈的比較，結果明顯地 2 天後，發現樟樹+Tween80 對白色念珠菌的抑菌效果較大。圖【4】所示。

3.白千層精油雖然沒有像樟樹精油對大腸桿菌效果一樣，但白千層精油其它菌種的效果也是相當平均。表【1】所示。

經由抑菌試驗的結果，發現到同一種精油只是換不同的溶劑，抑菌圈的結果卻不相同，是因為不管是白千層或樟樹的精油（油相）與培養基（水相）

的溶解，可靠 tween 80 來均勻的互溶，原因在於 tween 80 是一個好的界面活性劑，同時具有親水端，另一邊是親油端，讓油、水互溶的非常好。而甘油是非界面活性劑，無法讓精油均勻的擴散分佈，以致於影響到抑菌圈的大小不一。

## 五、討論：

由實驗結果可知陰乾的時間與產率有相當的關係，這可能是因為精油藏於植物組織內部而外部的水份形成保護膜的效果。因此陰乾的時間越長，表面的水分揮發越多，因此效果越佳。

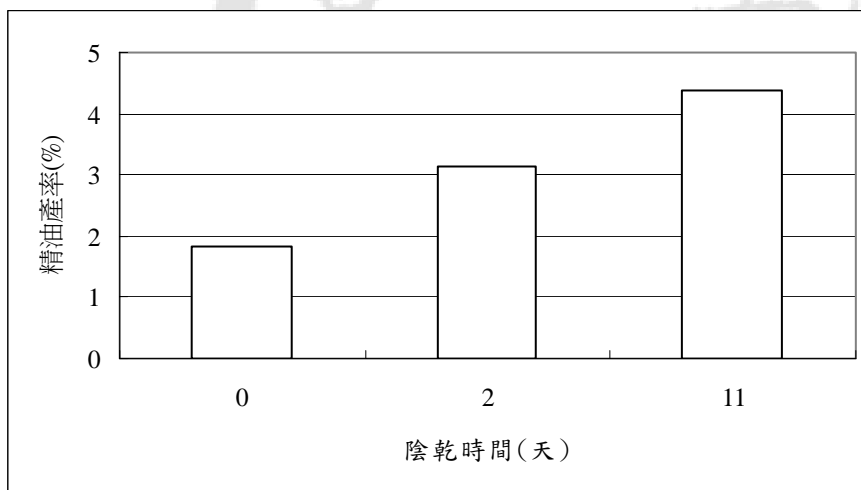
就精油的抗菌效果部分，許多的研究發現，單萜烯扮演了重要的角色。因此進一步的研究，需要對於兩種精油的成分鑑定。以瞭解成分與抗菌效果的關係。





圖 1: 實驗中所使用的水蒸氣蒸餾裝置。

(a) 樟樹



(2) 白千層

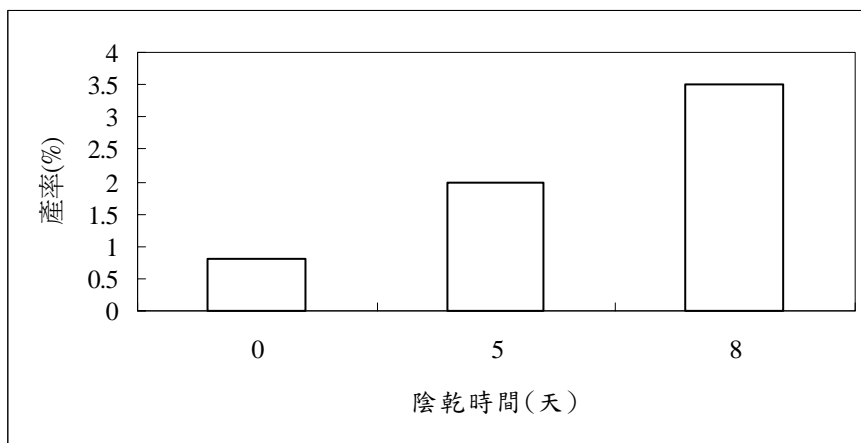


圖 2: 不同陰乾時間對於回收率的影響

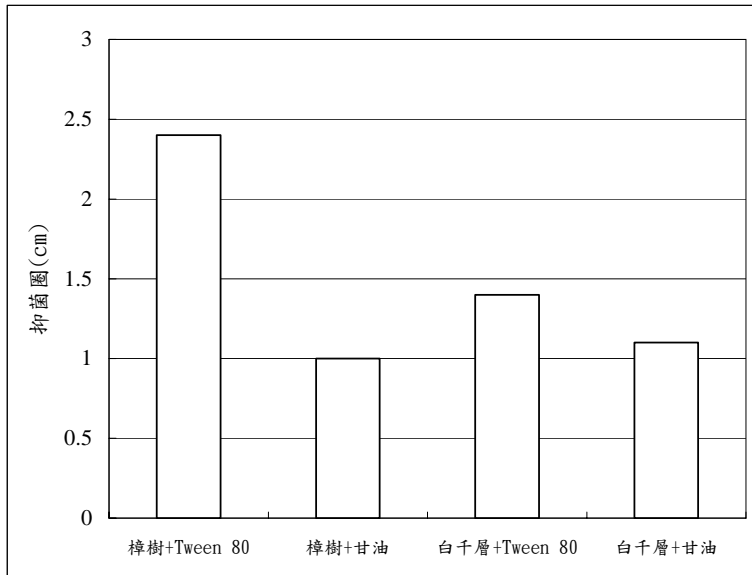


圖 3：不同精油在 50% 濃度時對大腸桿菌的抑制圈

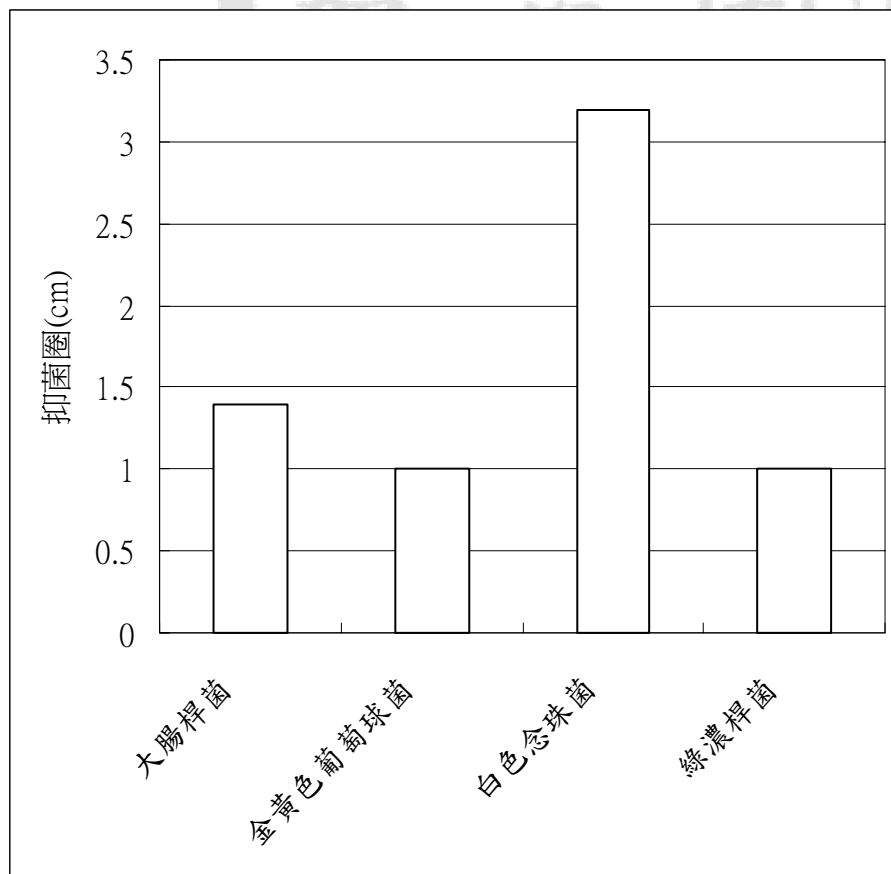


圖 4 50% 樟樹精油對不同菌的抑制圈大小

表【1】各組精油對各菌類的影響程度

抑菌 圈(cm)  精油濃 度(50 %)	大腸桿菌		金黃色葡萄球 菌		白色念珠菌		綠濃桿菌	
	第一 天	第二 天	第一 天	第二天	第一 天	第二天	第一 天	第二 天
樟樹 +Tween 80	2.4± 0.4	1.4± 0.2	1.0± 0.1	1	太大 無法 測量	3.2±0.1	1.2± 0.1	1
樟樹+ 甘油	1.0± 0.1	1	1.2± 0.3	1.2±0.2	1.2± 0.1	1.2±0.1	1	0
白千層 +Tween 80	1.4± 0.6	1.2± 0.4	1.0± 0.1	1	1.4± 0.2	1	1	0
白千層 +甘油	1.1± 0.1	1	1.1± 0.1	1.0±0.1	1.4± 0.0	1	1	1

#### 六、參考文獻：

- (1) Robert J, Soap, Perfume & Cosmetics, 36, 2002.
- (2) Anita S., Soap & Cosmetics, 34, 75, 1999.
- (3) Santosh K, Cosmetics& Toiletries magazine, 69, 116, 2001
- (4) Mantle D; Gok A; Lennard T.W., Adverse Drug Reactions and Toxicological Reviews, 89, 20, 2001
- (5) Satchell A.C.; Saurajen A; Bell C, The Australasian Journal of Dermatology, 175, 43, 2002
- (6) Carson C.F.; Riley T.V.; Cookson B.D., The Journal of Hospital Infection, 175, 40,1999.
- (7) Nenoff P; Hausteiu U.F.; Brandt W., Skin Pharmacology: the Official Journal of the Skin Pharmacology. 388, 9, 1996.