2014 高雄市第 54 屆中小學科學展覽會
作品說明書

科　　別：農業及生物科技

組　　別：　高職組

作品名稱　：　「精」采生活‧「油」您做起

關鍵詞：　大腸桿菌、精油、細菌抑制

編號：4506

寫方式請參考 APA 格式。(詳見附錄 A)

作品名稱: 「精」彩人生 「油」您開始

摘要..... P2

壹、 研究動機..... p2

貳、 研究目的..... P3

參、 研究設備及器材..... P4

肆、 研究過程或方法..... P5

伍、研究結果..... P11

陸、討論..... P12

柒、結論..... P13

捌、參考資料及其他..... P13

「精」彩人生 「油」您開始

摘要

隨著時代進步科技的發展，人們對生活的品質的要求是越來越高，而對於自己的外貌及膚質的保養也越來越注重。精油在美容的應用，不但提升了美容服務的品質，更提高了顧客的滿意度。因此，想藉本研究多了解精油的實際作用情形。精油的清潔抑菌作用，對皮膚是最直接最快速可感受的作用。此外，肌膚的潔淨是肌膚保養的第一道工程，重要非凡。因此，我們選擇了茶樹、尤加利、香茅三種精油，利用紙錠擴散法檢測它們抑菌效果的強弱，並利用液態培養基稀釋法求其最低有效抑菌濃度。

實驗結果顯示，對於大腸桿菌的抑菌效果茶樹＞尤加利＞香茅。而求得的最小有效抑菌濃度分別為 1%以上、2%以上、4%以上。此實驗結果可作為日後調製化妝保養品之參考。

壹、 研究動機

隨著時尚科技的進步，人們對生活的品質的要求是越來越高，而對於自己的外貌及膚質的保養也越來越注重。美容沙龍、美容工作室、美容大型連鎖店到處可見，而這些店家服務項目中對肌膚最頂級的呵護，莫過於 SPA 芳療了，芳療中使用的精油，對皮膚保養起了很關鍵的影響。因精油在情緒方面有紓壓、提神、鎮定等作用，而在皮膚方面則有清潔抑菌、消炎安撫等護膚作用。因此，想多了解精油的實際作用。而精油的清潔抑菌作用，對皮膚是最直接最快速可感受的影響，因為，肌膚的潔淨是肌膚保養的第一道工程，重要非凡。因此，我們選擇了茶樹、尤加利、香茅三種精油比較它們抑菌效果的強弱，作為日後調製化妝保養品之參考。

精油簡介

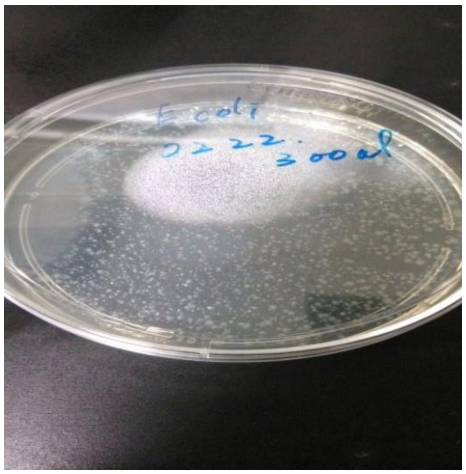
茶樹： 學名 *Camellia sinensis*	尤加利: 學名 *Eucalyptus globulus*	香茅: 學名 *Cymbopogon*
科：山茶科 Theaceae 屬：山茶屬 Camellia 茶樹精油，原產於澳洲，爲茶樹的提取物。具有抑制微生物、消炎作用，但是在高濃度時會引起皮膚刺激作用。天然茶樹精油其主要活性成分為terpinen-4-ol 而毒性成分則為桉樹酚(1,8-cineole)。適用於油性及粉刺皮膚，治療化膿傷口及灼傷、曬傷、香港腳及頭屑。	科：桃金娘科 Myrtaceae 屬：桉屬 Eucalyptus 尤加利精油(Eucalyptus oil)簡介如下: 桉樹(Eucalyptus)又稱尤加利樹是桃金娘科桉屬植物的總稱。尤加利精油香氣清新，略刺鼻。長久以來，在澳洲應用於治療咳嗽、傷風感冒、鼻喉黏膜炎。它的活性成份“桉油醇”。尤加利精油有很強的抗菌效果,有利於調整呼吸系統，緩和發炎現象，使黏膜舒適。尤加利精油也是一種很好的免疫力刺激劑，適合於經常感到疲倦、容易感冒的人使用。尤加利精油也有提神醒腦的功效，可增加注意力。	科：禾本科 Poaceae 屬：香茅屬 Cymbopogon 香茅精油(Citronella oil)簡介如下：香茅是禾本科香茅屬(學名:Cymbopogon)的多年生香草植物共約 55 種，簇生成叢，稈直立，全草有香味。葉片扁平，長闊線形，先端尖細，邊緣粗糙。使用部分為莖和葉。香茅精油中含香茅醛(Citronellal)、檸檬醛（Citral）、牻牛兒醇（Geraniol）和甲基庚烯酮（Methylhptenone）。檸檬醛（Citral）是香茅精油香味的主要來源。香茅主要應用有，作為食用烹調的檸檬香茅(C. citratus)，以及作為工業用提煉精油的香茅(C. nardus),驅蟲效果良好，是防蚊液的主成分之一。

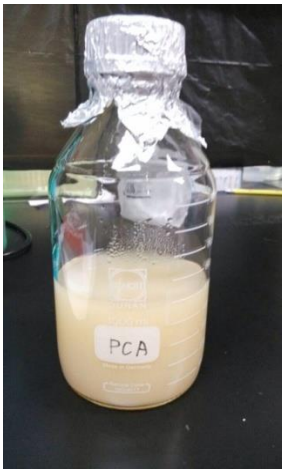
貳、研究目的

一、 探討茶樹、尤加利、香茅等精油對大腸桿菌之抗菌效果。

二、 檢測茶樹、尤加利、香茅等精油對大腸桿菌之最低有效抑制濃度，以作為日後調製化妝保養品之參考。

參、研究設備及器材(基本用具)

茶樹精油(圖 3-1)	尤加利精油(圖 3-2)
香茅精油(圖 3-3)	微量吸管(圖 3-4)
	
Ecoli(大腸桿菌)(圖 3-5)	接菌環(圖 3-6)

	
細菌培養液(圖 3-7)	細菌培養基(圖 3-8)
紙錠(圖 3-9)	鑷子(圖 3-10)
離心管(圖 3-11)	小離心管(圖 3-12)

離心管盤(圖 3-13)	塗抹棒(圖 3-14)
酒精(圖 3-15)	酒精燈(圖 3-16)
無菌操作台(圖 3-17)	壓力鍋(圖 3-18)

肆、研究過程與方法

一、紙錠擴散法：

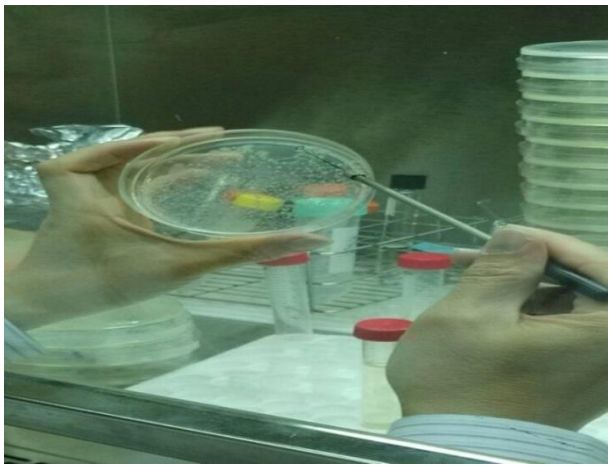
抗菌試驗初步檢測。將大腸桿菌菌株活化後，以1×10^6/mL 濃度0.2ml菌液進行平盤塗抹。然後，將紙錠（直徑8mm）放入培養基中心點，再加入不同濃度的精油，培養3-5天後，測定抑菌環之大小，評估其抗菌能力。

二、液態培養基稀釋法：

檢測精油之最小抑菌濃度(MIC)。先配製4 % 精油濃度之培養液，再將其稀釋成2、1、0.5、0.25 %精油的培養基，接種菌體（1×10^6/mL 菌量），置於培養箱中培養90 min 後，吸取0.1 ml菌液，進行平盤塗抹培養3-5天，觀察菌的生長狀況。

三、實驗過程詳細如下：

手部消毒(圖 4-1)	用酒精燈消毒接菌環(圖 4-2)

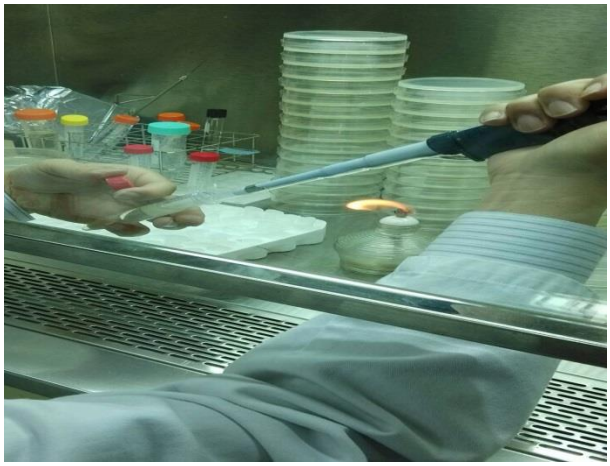
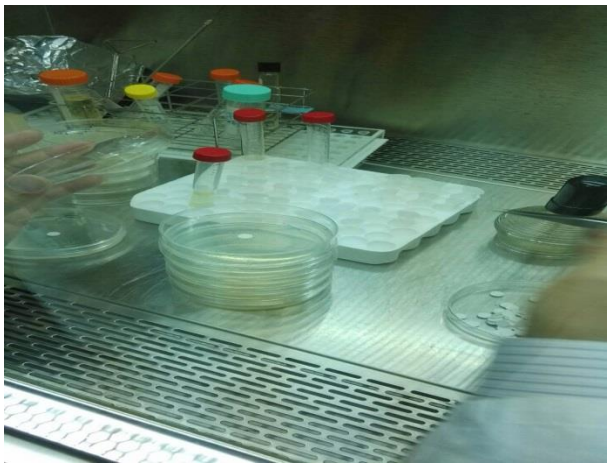
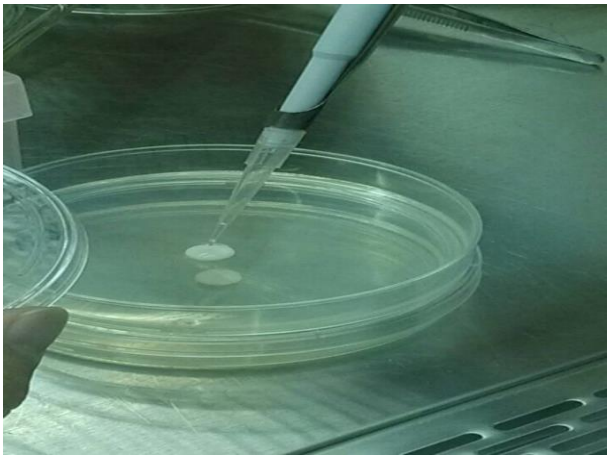
	
Ecoli(大腸桿菌) (圖 4-3)	細菌置入離心管中的培養液(圖 4-4)

1.首先實驗前先進行手部消毒確保不會汙染到實驗結果。(圖 4-1)

2. 接菌環每次使用完畢都要在用酒精燈消毒避免消毒不乾淨。(圖 4-2)

3. 在用接菌環挑起 Ecoli 大腸桿菌的細菌。(圖 4-3)

4. 再放入裝有細菌培養液的離心管裡攪一攪。(圖 4-4)

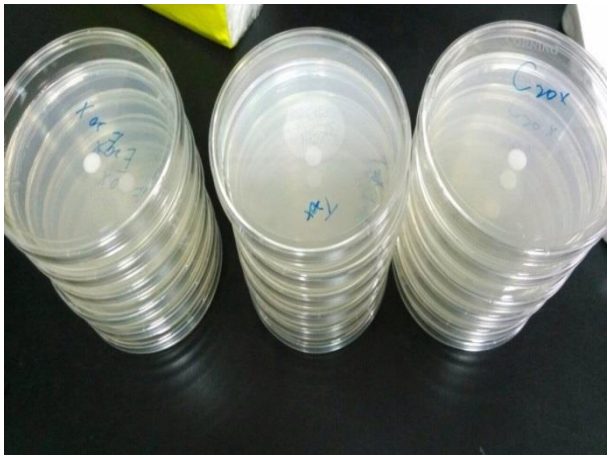
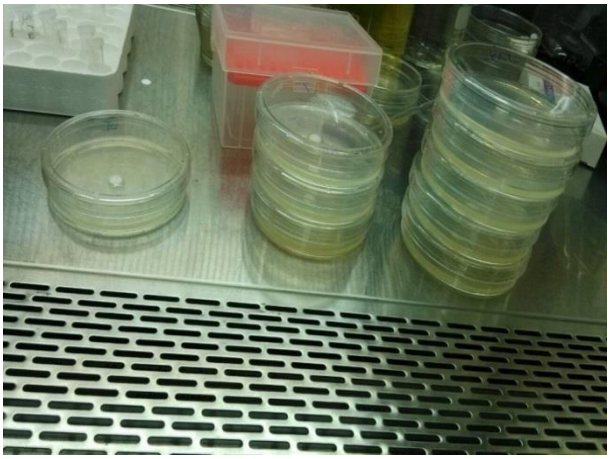
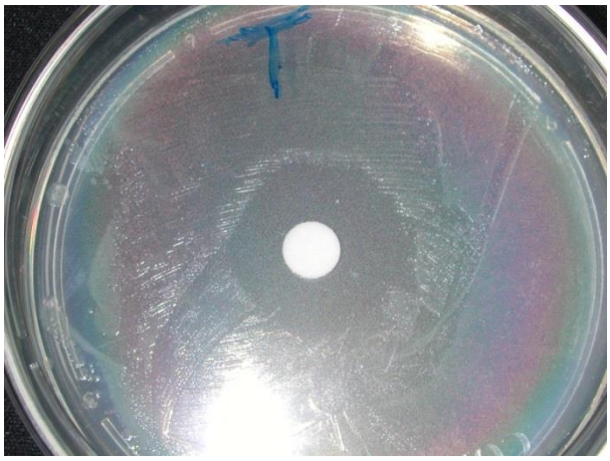
	
吸取 0.20c.c.的大腸桿菌液(圖 4-5)	用塗抹棒將細菌平均塗抹(圖 4-6)
	
把紙錠放入培養皿上(圖 4-7)	把精油加入紙錠上(圖 4-8)

5. 用微量吸管吸取 0.20c.c.的大腸桿菌液至培養皿裡。 (圖 4-5)

6. 將菌液平均塗抹於培養皿中。(圖 4-6)

7. 在拿鑷子把紙錠一個一個放入培養皿上。(圖 4-7)

8. 再吸取 0.02c.c.的精油加入紙錠上注意不要滴在紙錠外。(圖 4-8)

	
含茶樹、尤加利、香茅的培養皿(圖 4-9)	放置 3~5 天觀察抑菌環的大小(圖 4-10)
	
茶樹精油抑制菌的效果(圖 4-11)	抑制菌範圍測量(圖 4-12)

9. 這是含茶樹、尤加利、香茅精油的培養皿完成品。(圖 4-9)

10. 接著就放置 3~5 天觀察長菌的情形及抑菌環的大小，記住要放在溫暖的地方才比較容易長菌。(圖 4-10)

11. 經過 4 天後的抑制菌的效果呈現，並於茶樹、尤加利、香茅精油比較差異性。(圖 4-11)

12. 用尺測量抑制範圍比較差異性。(圖 4-12)。

伍、研究結果與討論

一、紙錠擴散法：

抗菌試驗初步檢測結果，如表5-1所示，茶樹、尤加利、香茅等精油對大腸桿菌的抑制環大小，依序為25mm、12mm、9mm。

二、液態培養基稀釋法：

檢測精油之最小抑菌濃度(MIC)，結果如表5-2所示。茶樹精油2%可將大腸桿菌完全抑制，培養皿上1個CFU也沒有。當茶樹精油濃度降至1%時每個培養皿上仍可發現80個CFU左右(data not shown)，相對於對照組滿滿的菌落(太多無法計算)，已明顯有抑制作用，只是未完全抑制菌的生長。所以茶樹精油的MIC應落在1-2%之間。但參考紙錠試驗結果推論其MIC值應落在1% 附近。

尤加利精油2%可將大腸桿菌完全抑制，培養皿上1個CFU也沒有。但當尤加利精油濃度降至1%時每個培養皿上被滿滿的菌落覆蓋，完全沒有抑菌作用。所以尤加利精油的MIC也應落在1-2%之間。但參考紙錠試驗結果可知其MIC值應落在2% 附近。

香茅精油4%仍無法將大腸桿菌完全抑制，每個培養皿上都被滿滿的菌落覆蓋，完全沒有抑菌作用。所以香茅精油的MIC值應落在4%以上。

表 5-1 茶樹、尤加利、香茅等精油對大腸桿菌的抑制環大小

紙錠上精油濃度	茶樹	尤加利	香茅
100%	15 ㎜	12 ㎜	9 ㎜
50%	10 ㎜	9 ㎜	8 ㎜
5%	9 ㎜	8 ㎜	8 ㎜

表 5-2 液態培養基稀釋法測定精油最小抑制濃度之結果

精油濃度	茶樹	尤加利	香茅
4%	＋	＋	－
2%	＋	＋	－
1%	＋－	－	－
0.5%	－	－	－
MIC	＞1%	＞2%	＞4%

『＋』：完全抑菌 『－』：無抑菌效果

陸、結論

1. 經由紙錠擴散試驗，可快速評估精油的抑菌活性。
2. 經由液態培養基稀釋法，可有效檢測出精油最低有效抑菌濃度，可作為精油使用之參考。
3. 本實驗結果顯示，針對大腸桿菌而言茶樹精油的抑菌效果最好，最低有效抑菌濃度約為1%，其次為尤加利精油，其最低有效抑菌濃度約為2%，最差的是香茅精油4% 仍未有明顯之效果。
4. 本實驗模式，可利用來發展去頭皮屑洗髮精或護髮乳的有效成分，只需要將大腸桿菌改成皮屑芽孢菌，然後對各種精油進行紙錠擴散試驗及液態培養基稀釋法，實驗結果將能作為洗髮精或護髮乳調配的依據。

捌、參考資料及其他

1. http://www.top1health.com/Article/1582
2. http://ndltd.ncl.edu.tw/cgi-bin/gs32/gsweb.cgi/login?o=dwebmge /臺灣博碩士論文知識加值系統
3. http://ndltd.ncl.edu.tw/cgi-bin/gs32/gsweb.cgi?o=dnclcdr&s=id=%22101HKU05793009%22.&searchmode=basic 陳佳惠/化妝品中常用二十八種精油之抗氧化能力及化學組成分析之研究弘光科技大學化妝品科技研究所
4. http://www.zwbk.org/zh-tw/Lemma_Show/222871.aspx /2014.03.10 摘錄自
5. 環境衛生用殺菌劑藥效試驗測定法/中華民國 94 年 11 月 30 日環署檢字第 0940097070 號公告
6. http://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E9%A6%99%E8%8C%85 /2014.03.10 摘錄自
7. 水中總菌落數檢測方法－塗抹法 NIEA E203.53B