

精油之抗菌活性

◎林業試驗所木材纖維組·何振隆 ◎中興大學森林學系·蘇裕昌

前言

芳香植物精油中，有許多為民間所傳說具有藥效之藥用植物。這些藥用植物，其精油之生物活性，已有許多研究成果，如抗細菌(Antibacterial)、抗真菌(Antifungal)等活性。精油之功效已被國內外許多科學家所證實，其對於危害人類身體健康、引起食物腐敗之菌類及木材腐朽菌均具有抑制作用，且有許多研究報告已分離及鑑定出精油之抗細菌及抗真菌活性之主要成分。本文針對精油之抗菌性試驗、具抗菌活性樹種精油及萜類化合物，作一綜合介紹。

精油之抗菌活性評估方法

(一) 抗細菌活性試驗方法

細菌依細胞壁構成不同，可利用革蘭氏染色法(Gram stain)將細菌區分為革蘭氏陰性菌(Gram-negative bacteria)及革蘭氏陽性菌(Gram-positive bacteria)：

1. 供試菌種

抗細菌試驗所選用之菌種，依試驗目的而決定，較常用之菌種，在革蘭氏陽性菌中為金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)，其特性為：(1)可產生多種毒素，增強其侵入人體或傷害組織的能力，因此具有病原性，手術時傷口受到此種菌之感染為醫院常見的問題。(2)能快速對青黴素等抗生素產生抗性能力，也使它對醫院環境造成重大危害。(3)其產生之毒素與毒性休克症候群(Toxic shock

syndrome, TSS)有關，為一嚴重感染。(4)會產生腸毒素(Enterotoxin)，食入會引起嘔吐和噁心，這是常見的食物中毒之一。至於革蘭氏陰性菌，則大腸桿菌(*Escherichia coli*)常被採用，其特性為：(1)為人類腸道中最常見的細菌之一。(2)是水或食物中糞便污染之指標。(3)其為引起尿道感染的主要原因。(4)某些菌株可產生腸毒素，常常會造成旅遊者腹瀉，偶爾亦會引起嚴重的食物傳播性疾病。表1為一些常見的抗細菌試驗之菌種、生存環境及衍生之疾病等特性。

2. 試驗方法

抗菌試驗方法，較常使用的有稀釋法(Dilution method)及紙錠擴散法(Disk-diffusion method)兩種。其中，稀釋法可細分為肉湯稀釋法(Broth dilution)及瓊脂稀釋法(Agar dilution)兩種，二者之區別為依試驗所使用培養基及進行方法不同。稀釋法通常用於決定試劑對微生物抑制或致死的最低濃度。茲將此三種試驗方法分別敘述如下：

a. 瓊脂稀釋法(Agar dilution method)

將試樣以適當溶劑稀釋至所需濃度，加入培養皿中，隨即加入15-25ml的MHA (Mueller Hinton Agar)培養基，並搖晃使其混合均勻後靜置，待培養基凝固後以蓋菌器蓋上菌液(菌液濃度為 10^7 CFU/ml)，以37°C培養16-18hr後觀察結果，判讀最低抑制濃度(Minimum inhibitory concentration, MIC)值。此操作法則已標準化，可用來評估其他測試系統的正確性，適用於試樣量少而欲測試多菌種的情況，較肉湯稀釋法易於察覺污染

性，而最大的缺點在於準備培養基所耗費的時間及人力。

b. 肉湯稀釋法(Broth dilution method)

將試樣以適當溶劑稀釋至所需濃度，加入MHB(Mueller Hinton broth)培養基後均勻混合，再將含有試樣的培養基及調配好濃度的標準菌液加入試驗盤中，菌液濃度為 5×10^5 CFU/ml，以37°C培養16-18hr後觀察結果，判讀MIC值。此法提供了一個可信賴的標準方法，培養及讀取結果的過程相當便利，在早期有些實驗室無法便利的準備試驗盤，但現已有商業化的產品，故為實驗室使用相當普遍的試驗法。

c. 紙錠擴散法(Disk-diffusion method)

此方法又稱為「Kirby-Bauer測試法」，其方法為將試樣以適當溶劑含浸於濾紙上，

另準備培養基(MHA)於培養皿中，待培養基凝固後，將菌液均勻的分布於培養基表面上，靜置3-5min後，將含浸好試樣之濾紙放於培養基表面上，以37°C培養16-18hr後(因試樣會從濾紙處擴散至瓊脂中，且其擴散距離愈遠，濃度愈低，倘若此試樣有效，濾紙四周會立即形成一環抑制圈(Zone of inhibition)，此抑制圈的直徑可測量)，觀察結果，記錄每試樣對細菌抑制生長的直徑。此法的優點為技術簡單、不須特殊設備、提供臨床上易於了解的結果且對試樣的選擇性較大，缺點則在於此法僅提供一個定性的結果，然而，一個定量的結果如MIC值，是較合乎需要的。

目前有另一種更先進的擴散法，稱為「E 測試法(E test)」，可以估算最低抑制濃度，即MIC值。此法可利用塑膠被覆型條尺

表1 常被採用於抗菌試驗之菌種

Bacteria	Gram strain	Environment	Disease
<i>Bacillus cereus</i> 仙人掌桿菌	陽性菌	土壤植物	食物中毒、胃腸炎等
<i>Enterococcus faecalis</i> 糞腸球菌	陽性菌	腸道	尿道感染、感染性心內膜炎、膿腫等
<i>Staphylococcus aureus</i> 金黃色葡萄球菌	陽性菌	皮膚	毒性休克症候群、膿疱、毛囊炎、針眼、膿腫、食物中毒、傷口感染、肺炎、心內膜炎及院內感染
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 表皮葡萄球菌	陽性菌	皮膚	傷口感染、敗血症
<i>Escherichia coli</i> 大腸桿菌	陰性菌	腸道	尿道感染、腹瀉、新生兒腦膜炎、腹膜炎及敗血症等
<i>Enterobacter aerogenes</i> 產氣腸桿菌	陰性菌	腸道	尿道炎、院內感染
<i>Klbesiella pneumoniae</i> 肺炎桿菌	陰性菌	腸內	尿道感染、肺炎、敗血症及院內感染等
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 綠膿桿菌	陰性菌	有水之環境	皮膚炎、外耳炎、肺炎、呼吸道感染、心內膜炎、敗血症、骨髓炎及泌尿生殖道感染
<i>Salmonella typhimurium</i> 沙門氏桿菌	陰性菌	腸內	傷寒熱、胃腸炎及腦膜炎



圖1 赤桉葉精油抑制大腸桿菌之情形(張天柱 攝)

- 沒添加精油之大腸桿菌生長情形
- 為添加penicilline抗生素1000ppm無法抑制大腸桿菌
- 加入赤桉葉精油(10 μ l/disc)後，可產生極大之抑制大腸桿菌圈

(Plastic-coated strip)予以測量，因於尺上含有濃度之梯度標示，MIC可逕由列印於條尺上之尺度讀出。

有些研究者，採用肉湯稀釋法及紙錠擴散法等二種方法來測試精油之抗菌活性，試驗結果顯示，於擴散法中顯示有較大之抑菌圈，而於稀釋法則顯示會有較低之MIC值，故依據試驗結果證實二法間具有良好的相關性。

3.具抗細菌活性之精油

精油之抗菌活性最早應用於食品工業上，因其本身具有天然之芳香成分，常應用為食品的香料，且其抗氧化性也可以防止食物的腐敗或變質。但在許多最近之研究報告指出，精油之抗菌活性可應用於醫藥方面，如治療咳嗽(Cough)、肺炎(Pneumonia)、結核病(Tuberculosis)、上呼吸道感染(Upper respiratory tract infections)、發燒(Fever)及皮膚病(Skin diseases)等。如：百里香(Thyme)的葉、肉桂(Cinnamon)的樹皮、檸檬草(Lemongrass)的葉、薄荷(Peppermint)的葉、茶樹(Tee-tree)的葉、胡荽(Coriander)的葉、迷迭香(Rosemary)的葉及香櫞(Citron)的葉等之精

油，對噬血桿菌(*Haemophilus influenzae*)、化膿性鏈球菌(*Streptococcus pyogenes*)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、金黃色葡萄球菌及大腸桿菌等五種細菌之抗菌試驗，試驗結果顯示百里香葉及樟樹皮之精油可抑制此五種細菌的生長，其MIC值分別為0.02-0.08%。對於抗Methicillin葡萄球菌屬，如：金黃色葡萄球菌及表皮葡萄球菌(*S. epidermidis*)等菌種，茶樹精油顯示有良好抑制性。

關於木本植物精油之抗菌活性則較少見，其中羅漢柏(*Thujaopsis dolabrata var. hondai*)葉部精油對金黃色葡萄球菌、枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)及大腸桿菌均具有抑制作用。杉木木材精油對金黃色葡萄球菌、腸產氣桿菌(*Enterobacter aerogenes*)、綠膿桿菌、變形桿菌(*Proteus vulgaris*)及大腸桿菌等具有良好的抑制效果，其MIC₅₀值分別為90、100、500、700及750 μ g/ml。台灣扁柏心材精油對金黃色葡萄球菌、肺炎桿菌(*Klbesiella pneumoniae*)及*Enterobacter aerogenes*具抑制作用，而紅檜對金黃色葡萄球菌及腸產氣桿菌等具抑制作用。

(二)精油之抗真菌活性試驗方法

1. 供試菌種

(1) 黴菌

在進行抗黴試驗時，通常採用當地具代表性的菌種，如我國CNS標準所採用黴菌，分別為黑麴菌(*Aspergillus niger*)、棒麴菌(*A. clavatus*)、球毛主殼菌(*Chaetomium globosum*)、孢漆菌(*Myrothecium verrucariae*)、綠色木黴(*Trichoderma lignorum*)、青黴菌(*Penicillium citrinum*)及刺黑黴菌(*Memnoniella echinata*)等七種。而最近研究報告則有傾向於研究有關人類醫療方面之真菌作為供試菌種，如：麴菌屬的黃麴菌(*Aspergillus flavus*)，存於許多食物中，尤其花生最容易發現，其對人類危害尚不十分清楚，但其確實會造成肝硬化和肝癌；薰色麴菌(*A. fumigatus*)，其會產生麴菌症(Aspergillosis)，即引起呼吸道疾病，甚至肺部感染等。而念珠菌屬的白色念珠菌(*Candida albicans*)，會因泌尿生殖系統及口腔黏膜中之pH改變，而過度生長，產生念珠菌病(Candidiasis)。囊球菌屬的新形囊球菌(*Cryptococcus neoformans*)，會引起囊球菌症(Cryptococcosis)，即會造成肺部感染、腦膜炎及腦脊髓膜炎。

(2) 腐朽菌

一般在進行抗腐朽菌試驗時通常採用當地危害嚴重且具代表性的菌種，如中國國家標準(CNS)中木材抗腐朽性試驗法採用白腐菌的樺褶孔菌(*Lenzites betulina*)與褐腐菌的硫磺菌(*L. sulphureus*)作為供試菌種。日本國家標準(JIS)採用白腐菌的彩絨革蓋菌(*Trametes versicolor*)與褐腐菌的硫磺菌。而美國標準試驗方法

(ASTM)規定針葉樹試驗菌種為褐腐菌的密黏褶菌(*Gloeophyllum trabeum*)及*Poria placenta*等2菌種，闊葉樹試驗菌種為褐腐菌的*P. placenta*、密黏褶菌及白腐菌的彩絨革蓋菌。

2. 抗真菌活性試驗

抗真菌活性試驗的方法很多，其中有與抗細菌活性試驗方法相同，亦為稀釋法及紙錠擴散法等兩種。而最簡單及常用的方法為將精油或抽出成分加入培養基中配置成不同濃度，再接種供試菌株後培養，由於真菌菌絲具線性生長的特性，可由測量菌絲生長直徑判斷抗菌程度。

3. 抗菌性評估

抗菌性評估大多以生長指數、抗菌指數、MIC及MIC₅₀作為評估標準。其定義如下：

$$\text{生長指數(\%)} = \frac{\text{實驗組菌株生長情形}}{\text{對照組菌株生長情形}} \times 100\%$$

$$\text{抗菌指數(\%)} = \left(1 - \frac{\text{實驗組菌株生長情形}}{\text{對照組菌株生長情形}}\right) \times 100\%$$

最低抑制濃度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)係指抗菌指數達100%時，所需的最低濃度，而MIC₅₀則為抗菌指數達50%時，所需的最低濃度。

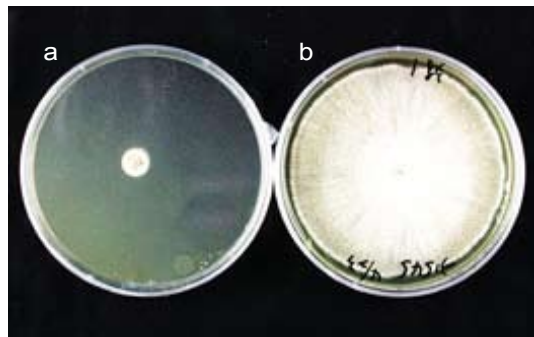


圖2 肖楠木材精油於1000ppm時，培養21天後，抗綠色木黴菌之情形(袁黃駿 攝)(a. 肖楠木材精油於1000ppm時；b. 對照組)

4.具抗真菌活性之精油

有關精油對於抗真菌活性之研究很多，最近較常見的有會引起黃麴毒素的麴菌屬及念珠菌病的念珠菌屬等之真菌。有關於麴菌屬的真菌，茶樹、肉桂、丁香、桉樹及牛至 (*Origanum syriacum*) 等種類的精油都具有抗菌效果。對於念珠菌屬的白色念珠菌，西洋耆草 (Yarrow)、土木香 (Elecampane)、茶樹、百里香及肉桂等植物葉精油都具有抗菌效果。植物病原菌鐮胞菌屬 (*Fusarium* sp.)，其會造成植株葉片及莖部由下而上逐漸產生黃化、萎凋的現象，進而植株死亡，對其有抑制作用的為 *Zanthoxylum alatum* 及 *Origanum syriacum* 等之精油。青黴菌 (*Penicillium chrysogenum*)，其會造成種子、種球及果實表面軟化、腐爛產生白色及綠色黴狀物，對其有抑制作用的為小荳蔻 (*Cardamom*) 及 *Zanthoxylum alatum* 等之精油。

木材的耐腐朽性質為木材利用者所重視的性質之一，精油對抗木材腐朽菌的活性，如：Thymol、Carvacrol、*trans*-anethole、Methyl chavicol 及 Cuminaldehyde 等化合物，對白腐菌的彩絨革蓋菌與 *Coniophora puteana* 褐腐菌均有最強之抑制作用。日本扁柏心材甲醇抽出物主成分為倍半萜類的 α -Cadinol, T-Muurolol, T-Cadinol 和 γ -Cadinane 等 Cadinane 型化合物，這些揮發性成分對 *T. palustris* 褐腐菌與 *C. versicolor* 白腐菌皆有抑制效果。

精油成分與抗菌之關係

精油抗菌活性之機制很複雜，直至現在，並未完全被明瞭。一般認為與精油化學組成分子中的親水性及疏水性分子有關。精油為萜類所構成的，萜類為可溶於脂質之介

質，其會干擾菌之酵素活性，如：呼吸作用之活性等。而其對於菌的抑制作用，會干擾質子 (Proton) 之傳遞作用，亦會影響 ADP 磷酸化作用。於萜類化合物具有其他官能基之化合物，如 Phenol、Alcohol、Aldehyde 等，均可干擾菌之酵素活性，使菌之生長受到抑制。

而於精油組成分中，於單萜類化合物中，其化學結構式所含的官能基及碳氫骨架的疏水性、親水性等均會影響抗菌性。其抗菌性之順序，一般依次為：酚 (Phenols) > 醛類 (Aldehydes) > 酮類 (Ketones) > 醇類 (Alcohols) > 醚類 (Ethers) > 碳氫化合物 (Hydrocarbones) 等。

1. 抗菌性最強者為具酚基之架構，如：Thymol、Cavacrol 及 Eugenol 等，其原因：為酸性環境下，其經基 (-OH 基) 會與酵素活性中心形成氫鍵，使蛋白質產生變性，進而干擾細菌的活性，使細菌活性減弱。因此精油之主成分，如具有酚基構造者，其所表現的抗菌活性會很強，且其抑制之菌種會很多種。
2. 醛類之抑菌機制為醛類可與蛋白質上之數種官能基 (-NH₂、-OH、-COOH 及 -SH) 鍵結，進而使菌類失去活性，如：丁香 (Clove) 及肉桂 (Cinnamon) 之精油組成分中，其主要成分為 Cinnamaldehyde，對於抗菌活性亦有很強之效果。
3. 具有醇類架構者，其抑菌機制為造成蛋白質變性，且可破壞細胞膜及溶解脂質等，如：茶樹精油，主成分為 Terpinen-4-ol 及 α -Terpineol 等。
4. 具有酮類構造者，如：鼠尾草 (Sage) 精油，主成分為 Thujone 及 Camphor 等。
5. 具有醚類構造者，如：茴香 (Fennel)、桉

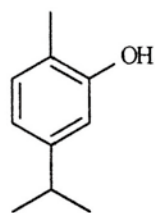
樹(Eucalyptus)及迷迭香(Rosemary)等，其主要成分為Anethole及1,8-Cineole等。

6. 碳氫化合物為架構造者，如：柑橘類及松科植物之精油，其抗菌活性最差。

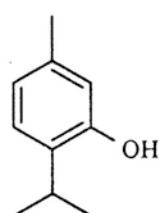
於倍半萜類化合物中，亦有學者研究證

實有些化合物具有抗菌活性，以倍半萜類化合物具Cadinane骨架者研究甚多，研究結果指出 α -Cadinol、T-Cadinol及T-Muurolol具抗菌活性。

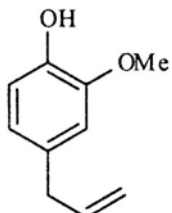
單萜類化合物



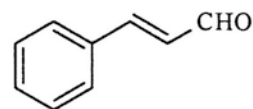
Carvacrol



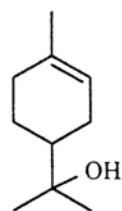
Thymol



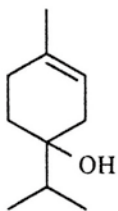
Eugenol



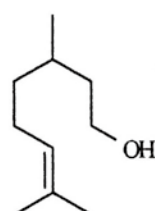
Cinnamaldehyde



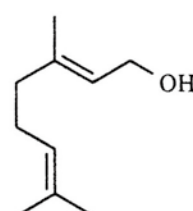
α -Terpineol



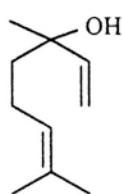
Terpinen-4-ol



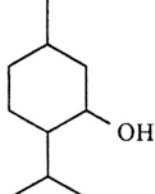
Citronellol



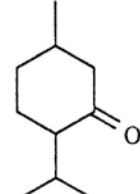
Geraniol



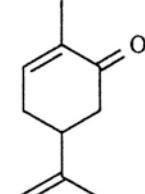
Linalool



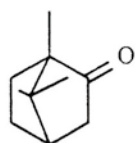
Menthol



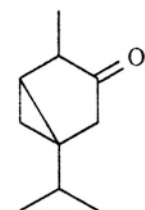
Menthone



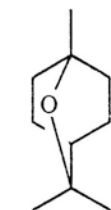
Carvone



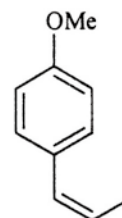
Camphor



Thujone



1,8-Cineole



Anethole

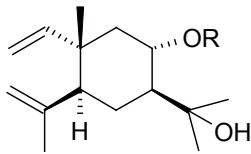
圖3 具抗菌活性精油組成分之結構式

五、結論

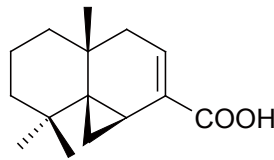
精油為木材抽出成分中，佔重要之地位，且有些樹種之精油化合物，已於國內外許多研究證實具有抗菌之功效。而精油為一天然材料，對於環境不會造成污染，若能運

用於日常生活中，如：將具抗菌性之精油加入纖維材料，使成為抗菌防黴纖維製品，或將其製成具抗菌性之健康醫療用品等，不僅符合環保原則，且對於人類之健康將有莫大之助益。☸

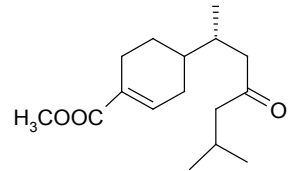
倍半萜類化合物



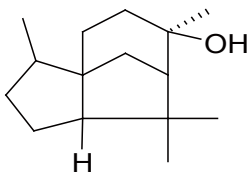
R=Ac 8-Acetoxyelemol
R=H 8-Hydroxyelemol



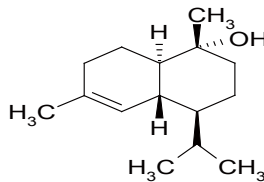
Hinokiic acid



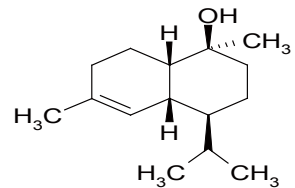
Juvavione



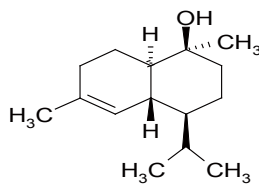
Cedrol



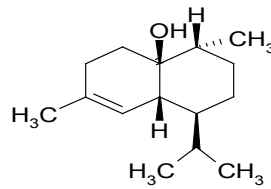
α -Cadinol



T-Muurolol



T-Cadinol



Epicubenol

圖3 具抗菌活性精油組成分之結構式