

投稿類別：化學類

篇名：澎湖風茹草的抗氧化及抑菌效果研究

作者：

楊 臻。國立嘉義高級工業職業學校。綜高二乙

指導老師：林籐旺老師

壹、前言

一、研究動機

風茹草又稱為香茹草(*Glossogyne tenuifolia*, GT)，是澎湖原生蔓藤類宿根性草本植物，根部狀如人參，民間俗稱山參仔，素有澎湖青草茶之稱，被評為澎湖最值得開發的六種藥用植物之一，含有豐富的微量元素及精油，具清熱解毒、利濕消腫、活血化瘀、治療中暑、降肝火等功效。通常於夏、秋間採收，洗淨後可曬乾或鮮用，由香茹草烘焙而成的香茹茶，氣味清香、入口甘醇，島上居民長期飲用，因而延年益壽。民間將其作為退熱、解毒、抗發炎之用藥，由嘉南藥理科技大學之生物科技研究所王麗淑碩士的論文「香茹草乙醇萃取物抗發炎機制之探討」得知香茹草乙醇萃取物有抗發炎分子藥理機轉。由於風茹具有耐旱、耐風、耐鹽、耐貧瘠等耐逆境的能力，極適合澎湖這種土壤環境差、東北季風及颱風強的地方種植，是澎湖極具經濟價值的作物。

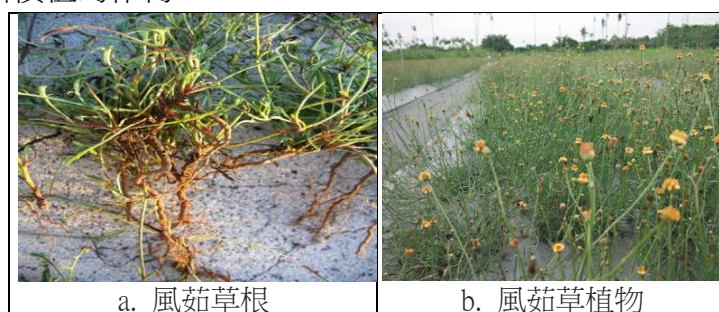


圖 1. 風茹草植物介紹

由學校課程中，我們學到了氧化與還原反應、滴定法及生物抑菌等書本知識，加上學校化學實驗室設備完整，指導老師很有耐心的指導我化工知識能力和操作技巧，恰巧又有澎湖親戚寄了許多風茹草來，天時、地利、人和條件下，展開了我的研究實驗。本研究在探討風茹草萃取液的抗氧化能力及抑菌特性並應用在生活上；抗氧化特性的研究，使用碘滴定法、過錳酸鉀滴定法及清除 DPPH 自由基能力測定，抑菌操作實驗則是將新鮮的風茹草以冷凍乾燥法處理後以水和酒精萃取，再經減壓濃縮後，配置各濃度的萃取液，以紙錠法對大腸桿菌做抑菌實驗，而在日常生活之應用，風茹草及其萃取液，嘗試調製成空氣清香劑及風茹草茶包等日常用品。

二、研究目的

- (一)、探討風茹草之抑菌作用。
- (二)、探討風茹草之抗氧化作用。
- (三)、探討風茹草在生活上應用。

三、研究設備及器材

分光光度計、恆溫培養箱、無菌操作台、電子天平、研磨機、微量吸管、燒杯、試管、錐形瓶、滴管、玻璃棒、抽濾漏斗、濾紙、數位相機、pH 測定計、離心機、乙醇、大腸桿菌液、培養基、紙錠、0.2mM DPPH 試劑、0.020MKMnO₄、0.020M 碘標準液、純水、薑黃粉、風茹草。

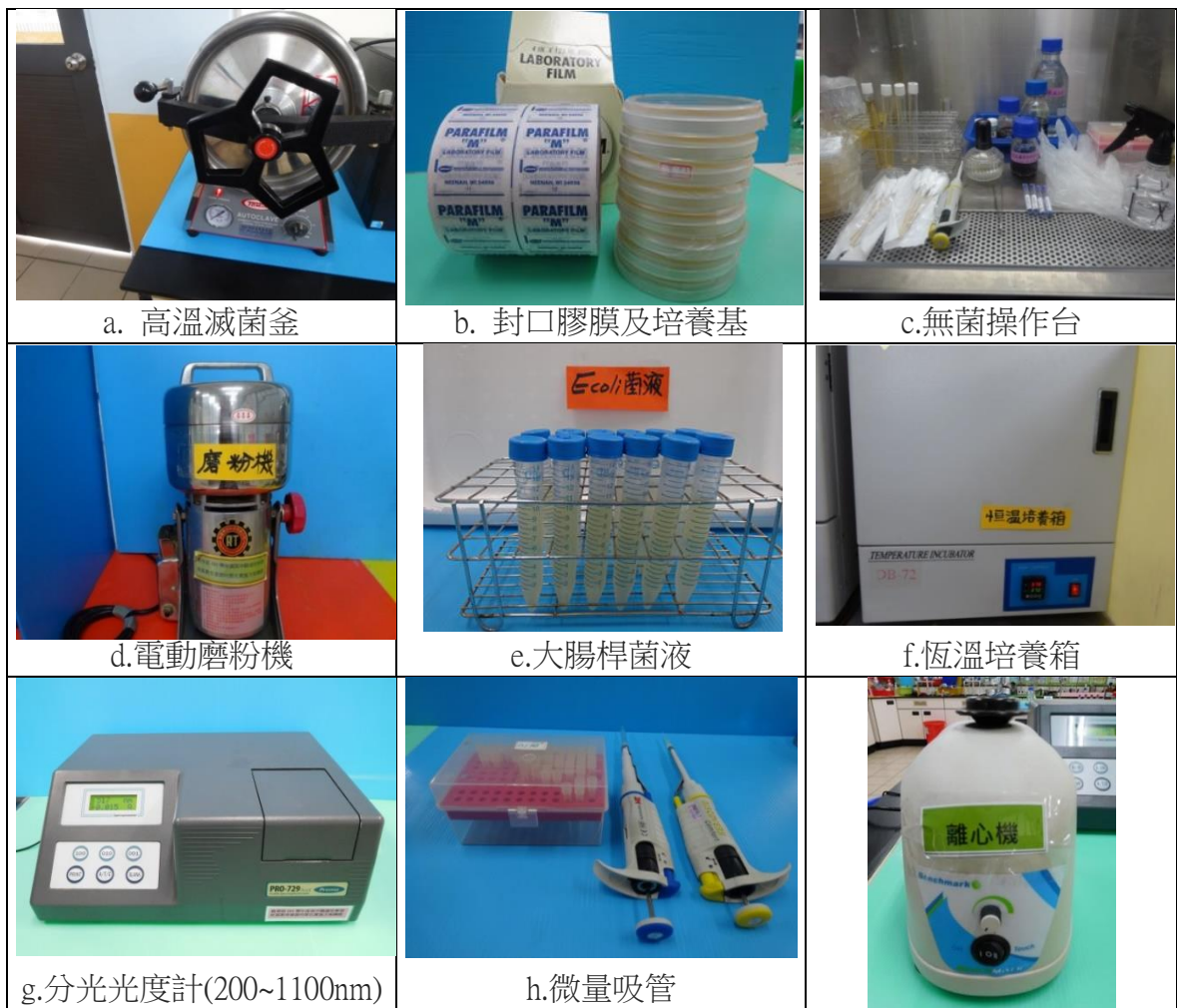


圖 1. 研究設備及器材介紹

貳、正文

第一部分：風茹草萃取液之抗氧化實驗

一、前置實驗：風茹草萃取液之製備方法

1. 將風茹草根與葉洗淨後，切細磨成細粉過篩。
2. 秤取風茹粉末 5.00g，加入 100ml 純水，以自動攪拌機均，萃取 30 分鐘後以抽濾裝置過濾。
3. 過濾後之殘渣置入蒸發皿中烘乾後秤重。
4. 萃取液以真空減壓濃縮機濃縮後，定量到 50mL 視為 100% 儲存溶液，作為抗氧化及抑菌實驗用。





圖 2. 風茹草萃取液製備過程

二、風茹草萃取物之抗氧化實驗

方法一：過錳酸鉀滴定法

(一) 實驗原理：過錳酸鉀(KMnO_4)是一種強氧化劑，一溶液若能與過錳酸鉀溶液反應，使原來的紫紅色褪色可證明其具有抗氧化性能，若滴定消耗過錳酸鉀溶液的量愈多，可視為其抗氧化性能就愈強。

(二) 實驗步驟：(實驗操作情形，如圖3c~e)

1. 配製0.020M過錳酸鉀酸性溶液。
2. 以乙醇為溶劑，配製(v/v)50%、70%、100%的檢測液。
3. 取各檢測液10.00ml，以0.020M過錳酸鉀酸性溶液滴定至紫紅色褪去，變為淡紅色即為滴定終點。讀取消耗過錳酸鉀溶液之體積，重複實驗三次。
4. 另取95%乙醇，置入錐形瓶中，做空白實驗。

方法二：碘溶液滴定法

(一) 實驗原理：碘溶液為一種氧化劑，若一物質會與碘溶液反應，可視其有抗氧化性能，若消耗碘液之量愈多，其抗氧化力愈強。

(二) 實驗步驟：(實驗操作情形，如圖3a~b)。

- (1) 萃取液，加入適量活性碳粉末脫色，均勻攪拌。
- (2) 用濾紙過濾得清澈的檢測液
- (3) 配製0.02M碘標準液
- (4) 取飽和的風茹草檢測液。並以純水為溶劑，配製(v/v)50%、70%、100%的檢測液。
- (5) 取各檢測液10.00mL於三角瓶中，加入1mL的澱粉溶液。
- (6) 以0.020M碘標準液滴定至變為藍色即為滴定終點。
- (7) 讀取用去之碘液之體積，重複實驗三次。另以純水做為空白組實驗。

方法三：清除DPPH自由基能力測定

(一) 實驗原理：DPPH是較為安定的自由基，實驗所採用的DPPH乙醇溶液為紫羅蘭色(violet)，在517nm下有強的吸光值若與試樣結合，會降低吸光值，其吸光值愈低，表示清除DPPH自由基能力愈強。

(二) 實驗步驟：(實驗操作情形，如圖5f~h)

- 1.用乙醇為溶劑配製0.20mMDPPH溶液。
- 2.用乙醇為溶劑，配製 60%、70%、80%、90%、100%的尼基羅草萃取液。
- 3.取0.20mM的DPPH溶液1000 μ L、以及各濃度之試驗樣品1000 μ L，(每一個檢測樣品或標準品的體積為2000 μ L)以震盪器混合均勻後，室溫下避光靜置30分鐘。
- 4.以分光光度計 (Spectrophotometer, Prema729型) 測其517nm之吸光值，重複實驗三次。並取乙醇做空白實驗。
- 5.另取薑黃粉萃取液代替尼基羅草萃取液，作為對照組



圖 3. 風茹草萃取液之抗氧化實驗情形

第二部分：風茹草萃取物之抑菌實驗

一、預備實驗

(一)本次實驗菌種的簡介

Escherichia coli 大腸桿菌 (簡寫為 *E. coli*) 是人和動物腸道中最主要和數量最多的一種細菌，主要寄生於大腸內。是一種兩端鈍圓、能運動、無芽孢的革蘭氏陰性短桿菌。除某些菌型能引起腹瀉外，一般不致病。

(二)本次實驗對照組 Amikacin 抗生素的簡介

Amikacin 屬於 aminoglycoside 類。跟鏈黴素和 Gentamicin 一樣皆抑制 30s 核糖體，使細菌無法合成必須的蛋白質。

(三)風茹草萃取液之製備方法

1. 將風茹草根與葉洗淨後，切細磨成細粉過篩。
2. 秤取風茹粉末 5.00g，加入 100ml 純水，以自動攪拌機均，萃取 30 分鐘後以抽濾裝置過濾。

3. 過濾後殘渣置入蒸發皿中烘乾後秤重。
4. 萃取液以真空減壓濃縮機濃縮後，定量到 50mL 視為 100% 儲存溶液備用。
5. 以儲存溶液分別調製 30ppm、40ppm、50ppm 等濃度之檢測液，作為抑菌實驗用。

二、風茹草萃取液之抑菌實驗

(一) 實驗原理：

風茹草檢液滴於紙錠上，置入含有大腸桿菌細菌液之培養基中，若有抑菌圈出現，代表檢液有抑菌能力，抑菌圈越大則抑菌能力越強。

(二) 實驗步驟：

1. 配製一個空白組溶液(純水)、一個對照組溶液(Amikacin標準液)及一個實驗組溶液(風茹草萃取液)。
2. 以微量吸管吸取適量大腸桿菌細菌液，放入培養基中，以L型玻璃棒旋轉塗抹，使大腸桿菌細菌液均勻分散於培養基上。
3. 紙錠置入培養基(紙錠間距離需超過24mm，且與培養皿邊緣距離15mm，使之不會互相影響)，以微量吸管吸取尼基羅草檢液，滴在紙錠上，為實驗組。
4. 另以含Amikacin標準液之紙錠置入培養基中，作為對照組；並以滴入純水之紙錠，同時置入培養基中，作為空白組。
5. 將放完紙錠的培養基，用石蠟膜(parafilm)封好，放入37°C的恆溫培養箱中，48小時後取出，取出測量抑菌圈直徑，觀察並紀錄。

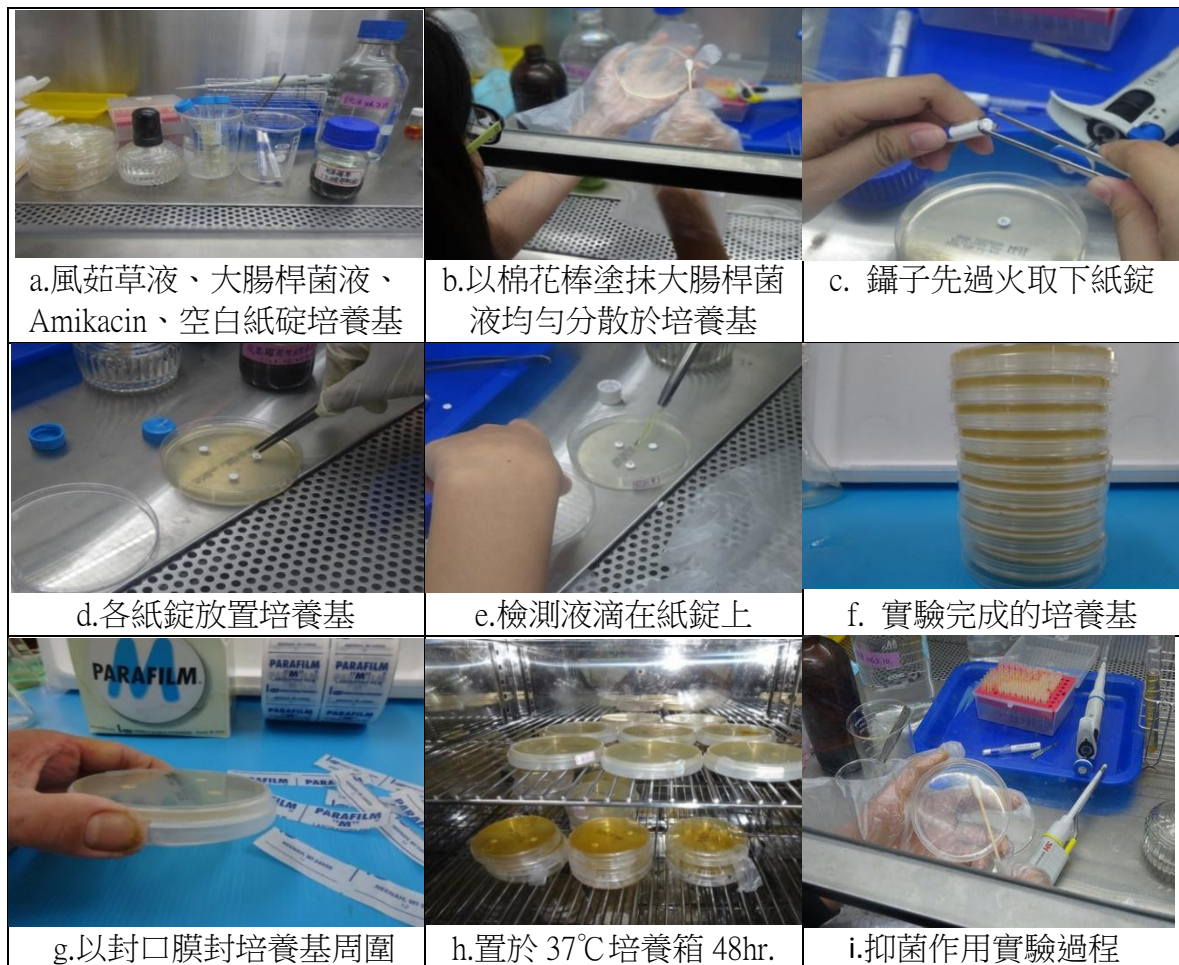


圖 4. 紙錠法抑菌作用實驗過程

第三部分：日常生活應用

(一)風茹草空氣清香劑

- 1.實驗說明：萃取液有抗氧化兼具抑菌性能，如果能將其調製成空氣清香劑使用，不但具有抑菌環保效益，更可以有效清淨空氣。
- 2.實驗步驟：
 - (1)準備風茹草萃取液溶液 100ml。
 - (2)將薄荷精油 5ml 及檸檬精油 5ml 及茶樹精油 5ml，先溶於 20ml 酒精中，再倒入萃取液中，以電動攪拌機攪拌 10 分鐘。
 - (3)裝瓶即為成品。

(二)風茹草茶包

- 1.實驗說明：風茹草葉，依據實驗顯示有良好的抗氧化效果。乾燥後製成茶葉，有一股清香味道，適合做為天然茶飲的原料。
- 2 實驗步驟：(1)準備材料。(2)洗淨剪碎後，烘乾。(3) 煮沸後飲用。

(三)風茹草護膚膏

- 1.實驗說明：

加入天然萃取的風茹草根葉萃取液，不但具有抗氧化的效能，更乾燥皮膚保養有功效。
- 2.實驗步驟：
 - (1)準備原料風茹草根葉萃取液、密蠟醇、乳油木果脂、甘油、薄荷精油、茶樹精油等。
 - (2)將蜜蠟醇、乳油木果脂、甘油溫熱並融化。
 - (3)加入風茹草根葉萃取液混和攪拌。
 - (4) 加入薄荷精油、茶樹精油、混合攪拌均勻。
 - (5) 裝罐後即為成品。

實驗研究結果

第一部分：風茹草萃取液之抗氧化實驗

方法一：過錳酸鉀滴定法

一、實驗紀錄：

表 1. 過錳酸鉀滴定實驗紀錄

實驗次數	1	2	3	平均消耗量
空白驗(95%乙醇)	0.50	0.50	0.50	0.50
50%	14.20	14.00	15.40	14.50
70%	18.70	19.00	18.50	18.73
100%	25.80	24.90	26.50	25.7

二、實驗結果：

- (1) 抗氧化力比較：100% > 70% > 50%。即萃取液濃度越高其抗氧化力越強。
- (2) 滴二定終點呈藍色，碘滴定反應終點靈敏，容易辨認。

方法二：碘滴定法

一、實驗紀錄：

表 2. 碘滴定實驗紀錄

實驗次數	1	2	3	平均消耗量
空白實驗(95%乙醇)	0.05	0.05	0.05	0.05
50%	7.50	6.70	6.70	6.95
70%	10.70	11.60	11.90	11.4
100%	17.90	18.30	18.80	18.3

二、實驗結果：

- (1) 抗氧化力比較：100% > 70% > 50%。即萃取液濃度越高，其抗氧化力越強。
- (2) 滴定終點呈藍色，碘滴定反應終點靈敏，容易辨認。

方法三：清除 DPPH 自由基能力測定

一、實驗紀錄：

表 .3 尼基羅草萃取液清除 DPPH 自由基能力測定結果

實驗次數	1	2	3	平均吸光值	清除自由基能力(%)
空白(95%乙醇)				0.700	
60%	0.350	0.358	0.360	0.356	49%
70%	0.285	0.270	0.280	0.278	60%
80%	0.200	0.210	0.202	0.204	71%
90%	0.158	0.146	0.144	0.149	79%
100%	0.112	0.104	0.103	0.106	85%

表 4. 對照組(薑黃萃取液)清除 DPPH 自由基能力測定結果

實驗次數	1	2	3	平均吸光值	清除自由基能力(%)
空白(95%乙醇)	0.80	0.805	0.817	0.807	
60%	0.697	0.695	0.697	0.696	61%
70%	0.605	0.604	0.601	0.603	78%
80%	0.458	0.453	0.451	0.454	85%
90%	0.109	0.105	0.100	0.105	87%
100%	0.073	0.063	0.069	0.068	91%

二、實驗結果：

- (1) 檢測液是以乙醇配製各濃度之風茹草萃取液與 DPPH 試劑反應後，於 517nm 測吸光值。

(2)清除自由基(DPPH)能力% =

(空白組於 517nm 吸光值 - 樣品反應後於 517nm 吸光值) / (空白組於 517nm 吸光值) × 100

(3)由檢測值計算 100%風茹草萃取液之清除自由基 DPPH 能力達 85%；

80%萃取液達 71%；70%萃取液達 60%；60%萃取液，清除自由基 DPPH 能力不佳。

(4)實驗組與對照組比較得知，清除自由基(DPPH)能力%，於同濃度下風茹草萃取液皆低於薑黃萃取液。

第二部分：風茹草萃取液之抑菌實驗

二、風茹草萃取物之抑菌實驗結果

(一)實驗紀錄(表 1)：對照組為(Amikacin)，空白組為(純水)。

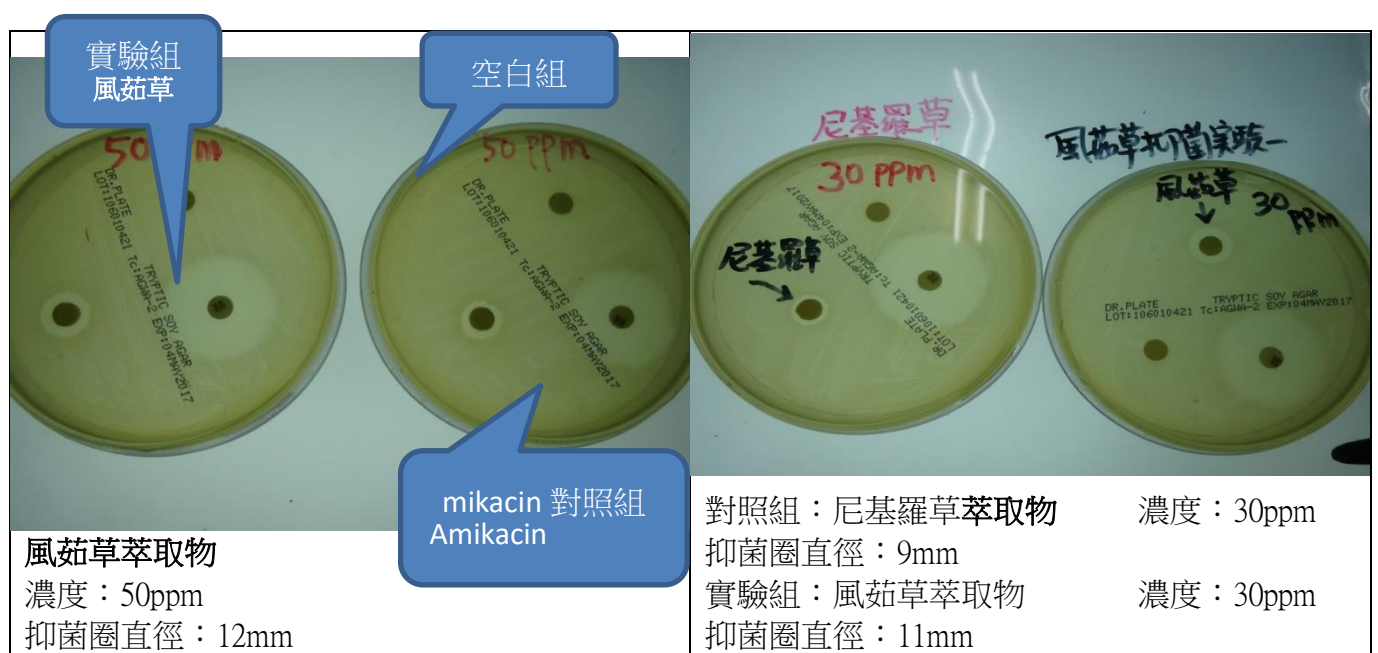


圖 5.紙錠法抑菌實作紀錄

(二)實驗結果(圖 5)：

- (1)以較高濃度之萃取液，形成抑菌圈直徑較大，即抑菌作用較強；而萃取液濃度越小之萃取液，形成之抑菌圈越小。依此判斷抑菌作用較微弱。
- (2)本抑菌實驗是以 Amikacin 紙錠做為對照組。
- (3)空白紙錠直徑 7.0mm
- (4)培養箱以 37°C 溫度培養 48 小時取出，觀察並紀錄抑菌圈直徑。
- (5)本抑菌實驗又以與尼基羅草萃取物(濃度 30ppm)比較，抑菌圈直徑為 9mm；風茹草萃取物(濃度：30ppm)抑菌圈直徑為 11mm，大於尼基羅草萃取物。

第三部分：日常生活應用



圖 6.本次實驗開發的日常生活應用品

參、結論

第一部分：抗氧化實驗

- 一、抗氧化物質可視為一種還原劑，以過錳酸鉀溶液及碘溶液，做滴定實驗，由消耗過錳酸鉀或碘溶液體積的多寡，初步可證明初萃取液是否具有抗氧化性質。
- 二、過錳酸鉀滴定，由原來的無色變成淡紅色。碘滴定時消耗碘的量愈多，其還原力愈大。實驗時以澱粉溶液當指示劑，碘液遇澱粉呈藍色反應，滴定終點時，溶液由原來的無色變成藍色，終點顯著。
- 三、DPPH 是一種較安定自由基，在 517 nm 有最大吸收波峰，當 DPPH 被含有抗氧化能力之物質還原，吸光值就降低，如此可利用 DPPH 此一特性來做為檢測試劑。使用時要新配製。
- 四、風茹葉萃取液製備，宜用水清洗，以除去表面灰塵，確保品質；將其冷凍乾燥後，較為耗時，但所得萃取液本質較不被破壞。若欲得高濃度的萃取液，可再用真空減壓濃縮機再次萃取。
- 五、本實驗證實風茹草具有良好的抗氧化性，如長期食用對抵抗減少自由基之傷害應有所助益。不同地點與土質是否影響抗氧化力或抑菌能力不得而知；以後有機會再研究。

第二部分：抑菌實驗

- 一、本次實驗所用的低溫冷凍乾燥機，是以零下 87°C 冷凍乾燥處理以保持原物料之本質特性，希望使實驗誤差降至最低；若以烘箱熱源乾燥，一些具抗氧化或抑菌得機制可能遭破壞而影響實驗的準確度。
- 二、以 L 型玻棒畫 E-Coli 菌液，因操作不熟練，塗抹不均勻，抑菌圈成不規則圖形，而非圓形。後來改使用殺菌過的棉花棒代替 L 型玻棒，效果不錯。抑菌實驗所需使用之儀器如試管、鑷子、燒杯等，實驗前須先以滅菌釜高壓加熱消毒；另實驗操作時，使用鑷子需先在酒精燈焰上過火消毒，否則儀器遭污染後，抑菌圈會變模糊不清楚而不意觀察。
- 三、本次實驗所抑制的病菌 E.coli 屬於非厭氧菌株、做抑菌實驗時在實驗室 37°C 恆溫

培養箱中進行、1 天後我們就取出觀察抑菌圈並記錄量取抑菌圈之直徑。第二天觀察抑菌圈之直徑不變。

四、抑菌實驗顯示風茹草萃取物有抑菌效果；但是比較之下，同樣 30ppm 濃度，風茹草萃取物抑菌效果略差於尼基羅草萃取物。

第三部分：日常生活應用

- 一、由實驗研究得知：抗氧化特性研究，使用碘滴定法、過錳酸鉀滴定法及清除 DPPH 自由基能力測定，此三種方法均驗出風茹草萃取液確有抗氧化特性；新鮮的風茹草以冷凍乾燥法處理後以水或酒精萃取，再經減壓濃縮後，配置各濃度的萃取液，以紙錠法對大腸桿菌做抑菌實驗，結果發現風茹草萃取液，具有抑菌作用；因此，將風茹草及其萃取液，調製成空氣清香劑、護膚膏、及風茹草茶包等多項日常用品，用途良多，頗富經濟價值。
- 二、近幾年來各種細菌、病毒肆虐，尤其生活水準提高，大家對於具有抗氧化及抑菌能力的產品更是趨之若鶩。風茹草經實驗初步證實，具良好的抗氧化能力和抑菌效能，這種植物容易成長易於栽種；相信開發成一系列的生活用品，如空氣清香劑、護膚膏等，天然材料可安心使用，值得推廣應用。

肆、引註資料

- 一、黃榮茂、王禹文編譯，化學化工百科辭典，1992，曉園出版社
- 二、沈馨仙，2000，藥學雜誌電子報，抗氧化劑及常見之抗氧化活性評估方法。
- 三、陳柏延，2003，連續式熱壓溶劑萃取台灣山藥之抗 DPPH 自由基成分，中興大學化工系
- 四、郭重吉，國中自然與生活科技第四冊，實驗活動手冊，2016，南一出版社。
- 五、李姿芳，羅思璇，徐照程，2012，台灣嘉寶果萃取及分離物之化妝品活性評估，弘光科大化妝品科技碩士論文
- 六、吳惠婷，柯文慶，2013，嘉寶果(尼基羅草)發酵飲品之製備及其功能性探討，大葉大學生物科技碩士論文
- 七、陳盈潔，梔子萃取液之抑菌及抗氧化性之探討，屏東科大食科系 碩士論文。
- 八、葉名倉，高中基礎化學(一)，第 4 章，常見的化學反應，2015，南一出版社。
- 九、黃得時，高中基礎化學實驗(二)，氧化還原滴定，2016，龍騰出版社。