

美和學校財團法人美和科技大學

104 年度教師產學合作計畫

結案報告書

計畫名稱：向日葵成分萃取技術建立及其相關產品開發

計畫編號：104-FI-DBT-IAC-R-006

計畫期間：104 年 9 月 14 日起至 105 年 7 月 13 日

計畫主持人：廖信昌

共同主持人：

研究助理：陳孟如/簡維助

經費總額：240,000 元

經費來源：金峰生物科技股份有限公司

向日葵成分萃取技術建立及其相關產品開發

中文摘要：

根據向日葵各部位萃取物之抑菌試驗，結果發現向日葵花瓣之甲、乙醇萃取物對三種菌(*E.coli*, *Staphylococcus aureus* 金黃色葡萄球菌, *Propionibacterium acnes* 痤瘡桿菌)具有最佳之抑菌效果，而花瓣之萃取物對痤瘡桿菌之抑菌圈：乙醇(3mm)>甲醇(1.66mm)>水(0mm)。完成小型量產向日葵手工皂 200 塊(90±4.5g/塊)、向日葵保濕面膜 200 片(25±1.25mL/片)，以及向日葵有機質肥料 150 包(20±1kg)。根據去汙力試驗比較結果：自製向日葵肥皂(97.67%)>南王肥皂(市售)(97.19%)>摩登肥皂(市售)(96.55%)>水(88.82%)，故自製向日葵肥皂不亞於一般市售肥皂之去汙能力。

關鍵詞： 向日葵成分萃取技術、抑菌試驗、向日葵抗痘產品

English abstract:

The inhibition bacteria tests of various parts extracts of the sunflower (*Helianthus annuus*), we found the ethanol extract of petal had the best inhibitory effect against the three bacteria species (*E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acne*) . The petal extracts against *P. acnes* of the inhibition zone: ethanol (3mm)> methanol (1.66mm)> water (0mm). We also finished the small-scale production of sunflower soap 200 (90 ± 4.5g / block), sunflower Mask 200 (25 ± 1.25mL / piece), and 150 sunflower organic fertilizer (20 ± 1kg). Besides, the results of comparing detergency test: homemade sunflower soap (97.67%)> Nanwang soap (commercial product) (97.19%)> Modern Soap (commercial product) (96.55%)> Water (88.82%). Our suggestion was the homemade sunflower soap decontamination capability superior to generally marketed soap.

Keywords: sunflower ingredient extraction technology, antibacterial test, sunflower anti-acne products

前言

本產學研究計畫乃協助金峰生物科技股份有限公司執行 104 年屏東縣 SBIR 之委外研究計畫，主要進行向日葵成分萃取，此技術需要在試驗過程中不斷修正，待試驗方法成熟後，則可以將向日葵萃取成分應用於身體清潔產品與美容保養品，如向日葵手工皂及向日葵抗痘面膜。將向日葵之花瓣添加至向日葵手工皂可增添香氣，另外，向日葵種子可以萃取出豐富的維生素 E，能夠保持肌膚的光澤及彈性，所以會添加至向日葵面膜，這些產品皆需要多次試驗將成分調配到最佳的比例。此 2 種向日葵產品皆會進行抑菌效果的測試，針對痤瘡桿菌（初油酸桿菌）、大腸桿菌及金黃色葡萄球菌進行抑菌圈試驗，之後再測試手工皂及抗痘面膜對菌落的抑制效果，最終研發的產品結合了抑菌及護膚之效果。

本計畫之研究目的為建立向日葵各部位的萃取技術，以不同的萃取介質及萃取比例進行萃取試驗，再以最終萃取質量判斷最適合各部位的萃取方式。及進行痤瘡桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌的抑菌圈試驗，並測試向日葵手工皂及抗痘面膜對 3 種菌種的抗菌能力。

研發理念

向日葵為常見的觀賞花卉，除了在觀賞園藝方面的用途外，向日葵具有多種有益成分，如維生素 E 及亞麻油酸，所以也是具有經濟價值的特用作物。以往向日葵的利用部位皆侷限在種子及花瓣，所以本計畫希望能夠完全利用向日葵各部位並且開發為不同類型的產品，如此多樣化的產品開發策略可以增加向日葵的利用效率及經濟價值。能夠由研究成果開發為向日葵手工皂、向日葵抗痘面膜及向日葵有機肥料，這些產品也能夠幫

助向日葵休閒農場塑造經營理念及形象；不但提高農產品的附加價值，也期望能夠藉由向日葵產品的開發，建立地方特色與帶動地方產業鏈發展。

研究主題

1. 建立向日葵萃取技術

依據臺灣藥用植物資源名錄上記載，發現向日葵全株都對人體具有功效，而且不同的部位有不同的功效及有益成分，這些有益成分常要經由植物萃取技術的提取進行成分確認。由於向日葵各部位的組織結構不同，所以利用同 1 種植物萃取技術的有益成分萃取效率也不同，而本計畫想藉由評估向日葵不同部位的萃取效率建立向日葵各部位的專一萃取方法，才能夠達到最高的原料利用效率，也可以減少原料的浪費。向日葵成分萃取需要利用植物萃取技術，待萃取的試驗方法成熟後，則可以將向日葵的有益成分應用於向日葵手工皂及向日葵抗痘面膜。

2. 向日葵各部位萃取成分對三種菌之抑菌效果測試

透過本計畫執行向日葵各部位萃取物針對痤瘡桿菌、大腸桿菌及金黃色葡萄球菌的進行抑菌圈試驗，抗菌試驗步驟如下，首先將需測試菌株活化後，以 2×10^5 ml 菌量進行平盤塗抹。之後將濾紙盤（直徑 8mm）放入於已接種菌體之固體培養基內，再加入各種不同濃度與不同部位的向日葵萃取物，隔夜培養後，測定抑菌圈之大小，檢定其抗菌能力。由此法篩選出抗菌效果強之向日葵萃取物濃度，進一步再將其調配為最佳的手工皂及除痘面膜配方。

其結果中，向日葵花瓣粗萃取物對三種細菌有較好的抑制能力，各部位水萃取之萃取物則無抑菌能力，而在 *Propionibacterium acnes*(痤瘡桿菌)中則為花瓣之乙醇萃取物

有較佳的抑制能力。

3. 首次將向日葵之有益成分應用於向日葵手工皂及向日葵抗痘面膜的製作

葵花子可萃取出豐富的維生素E及亞麻油酸，維生素E能夠保持肌膚的光澤及彈性；亞麻油酸則是一種人體無法自行合成的必需脂肪酸，亞麻油酸含量高的食品能預防大腸癌、肺癌及抑制異位性皮膚炎，另外還有保護大腦及增強記憶力等功效，因此是一種對人體器官極有幫助的天然有益成分，所以會將向日葵種子的萃取成分添加至向日葵生技產品中。

研究方法

(1)向日葵成分萃取技術建立，向日葵成分的萃取方法如下，介質包括 dH₂O、75%的甲醇 (methanol) 及 75%的酒精 (ethanol)，介質為 dH₂O 的萃取方法為：以 1:4 的比例將 100 公克之粉碎烘乾後的各部位向日葵與 400c.c.之 dH₂O 混和後浸泡 3 天，再以過濾孔徑為 10 μm 的高壓過濾膜過濾，可得初步的萃取液，後以低溫冷凍乾燥可取得萃取液的粉末，最終將萃取液的粉末溶於 dH₂O。

(2)介質為 75% 甲醇或酒精的萃取方法為：以 1:4 的比例將粉碎烘乾後的各部位向日葵與 75% 甲醇或酒精混和後浸泡 3 天，再以過濾孔徑為 10 μm 的高壓過濾膜過濾，可得初步的萃取液，後以減壓濃縮法去除酒精，待溶離之酒精去除後，再將萃取完成的粉末溶於 dH₂O。

(3)向日葵手工皂及向日葵抗痘面膜之主要成份抑菌圈試驗:此 2 種產品主要的特色為抗菌及除痘功效，進行向日葵萃取成分對痤瘡桿菌、大腸桿菌及金黃色葡萄球菌於馬鈴薯

葡萄糖瓊脂培養基 (PDA, potato dextrose agar) 之抑菌圈試驗。痤瘡桿菌

(*Propionibacterium acnes* ATCC 6919)、大腸桿菌 (*Escherichia coli* ATCC25922)、金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) 購自新竹的生物資源保存及研究中心。

抑菌圈試驗的試驗方法如下，痤瘡桿菌培養液的配製為取 16.5 g 的 RCM (Yeast extract 3.0 g, Lab-lemco powder 10.0 g, Peptone 10.0 g, Soluble starch 1.0 g, Glucose 5.0 g, Cysteine-HCl 0.5 g, NaCl 5.0g, CH₃COONa 3.0 g) 溶於 500 ml 的 dH₂O 中，加熱攪拌至完全溶解，分裝於 10 ml 試管中，置於滅菌釜內，並以溫度 121°C、壓力 1.2 kg/cm² 的條件下滅菌 20 分鐘，冷卻至室溫後備用。配製完成的培養基再多加入 1.5% 的洋菜。大腸桿菌及金黃色葡萄球菌培養液配方為 15 g 的 TSB (Tryptone 15.0 g, Soytone 5.0 g, NaCl 5.0 g) 溶於 500 ml 的 dH₂O 中。不同的菌種有不同的培養溫度，痤瘡桿菌的培養溫度為 37°C，須置於厭氧罐中培養，大腸桿菌與金黃色葡萄球菌的培養溫度則為 37°C。

(4) 抗菌試驗初步篩選步驟如下，首先將需測試菌株活化後，以 9×10^5 ml 菌量進行平盤塗抹。之後將濾紙盤 (直徑 8mm) 放入於已接種菌體之固體培養基內，再加入各種不同濃度與不同部位的向日葵萃取物，隔夜培養後，測定抑菌圈之大小，檢定其抗菌能力。由此法篩選出抗菌效果強之向日葵萃取物濃度，進一步再將其調配為最佳的手工皂及除痘面膜配方。

(5) 去汙力檢測: 需視污染物為含蛋白質或脂肪而定，將一定面積 (約 5x5 公分) 之白布數塊，先稱重，分別滴一定量之醬油 (稱重)，10 分鐘後，放入燒杯中 含有 50ml 之水、本向日葵手工皂產品、市售類似產品約 30 分鐘後取出，試驗白布移入烘箱中烘至一定乾度，再去稱重，以去汙力公式: $(m_2 - m_1 / m_2 - m_1) \times \%$ ， m_1 = 白布重量、 m_2 = (白布 + 醬油) 烘乾之重量、 m_3 = 白布 + 醬油 + 洗潔產品反應後 (烘乾) 之白布重量，去汙力 = $(m_2 - m_3) / (m_2 - m_1)$

依此換算洗潔去污力%。

單位：公克(g)		萃取前(g)			萃取後(g)			回收率(%)		
萃取前 總重		甲醇	乙醇	水萃 取	甲醇	乙醇	水萃 取	甲醇	乙醇	水萃 取
向日葵-花瓣	152	50	50	52	7.62	10.04	11.44	15.24	20.08	22.00
向日葵-種子	124	41	41	42	5.84	8.3	14.9	14.24	20.24	35.48
向日葵-葉	300	100	100	100	7.82	9.66	16.3	7.82	9.66	16.30
向日葵-莖	112	37	37	38	7.2	10.06	16.6	19.46	27.19	43.68
向日葵-根	132	44	44	44	0.94	1.24	1.3	2.14	2.82	2.95

結果

表 1、向日葵各部位萃取物之回收率

$$\text{回收率}(\%) = (\text{萃取後重量} / \text{萃取前重量}) * 100\%$$

1 向日葵萃取流程及其回收率：

表 1. 向日葵各部位之萃取回收率(%)

根據向日葵花瓣、種子、根、莖及葉子烘乾後磨碎秤重，並平均分配重量為甲醇、乙醇及水萃取三日後，將其萃取物過濾並利用減壓濃縮機濃縮後，計算獲得其萃取回收率（如表 1）。依試驗數據發現回收率以水萃取物 > 乙醇 > 甲醇。

2. 向日葵各部位萃取物之抗菌試驗：

利用液態培養基培養大腸桿菌(*E. coli*)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)以及初油酸桿菌，又名痤瘡桿菌(*Propionibacterium acne*)後，利用細胞計數器計算細

菌數，並控制在每盤(dish)細菌數在 2.5 萬 CFU，待細菌生長 6 小時後，置放直徑 8mm 且已滅菌完畢之圓形濾紙片，並將配好濃度之抗生素與向日葵各部位萃取液，分別加至抗生素總量 10 μ g、萃取物總量 500 μ g、300 μ g、200 μ g、100 μ g、50 μ g、10 μ g 到濾紙片上，培養 24 小時之後測量向日葵甲、乙醇及水萃取物分別對大腸桿菌、金黃色葡萄球菌之抑菌圈大小，大腸桿菌之抑菌結果分別如圖 1, 2, 3，由圖中可知只有花瓣萃取物有抑制效果，其統計結果如圖 4。金黃色葡萄球菌之抑菌結果分別如圖 5, 6, 7，由圖中可知亦只有花瓣萃取物有抑制效果，其統計結果如圖 8。

痤瘡桿菌(*Propionibacterium acne*)在培養測試後發現，需要相應之 CO₂ 濃度 (10%CO₂ 以上)，並且須培養在含 5%之羊血培養基上方能生長，且其生長週期接近 7 天才能生長成明顯之菌落，故在添加抗生素及向日葵萃取物後，置放在 CO₂ 培養箱中培養 7 天，再記錄其向日葵萃取物對痤瘡桿菌之抑菌圈大小，結果如圖 9, 10, 11，其統計結果如圖 12。

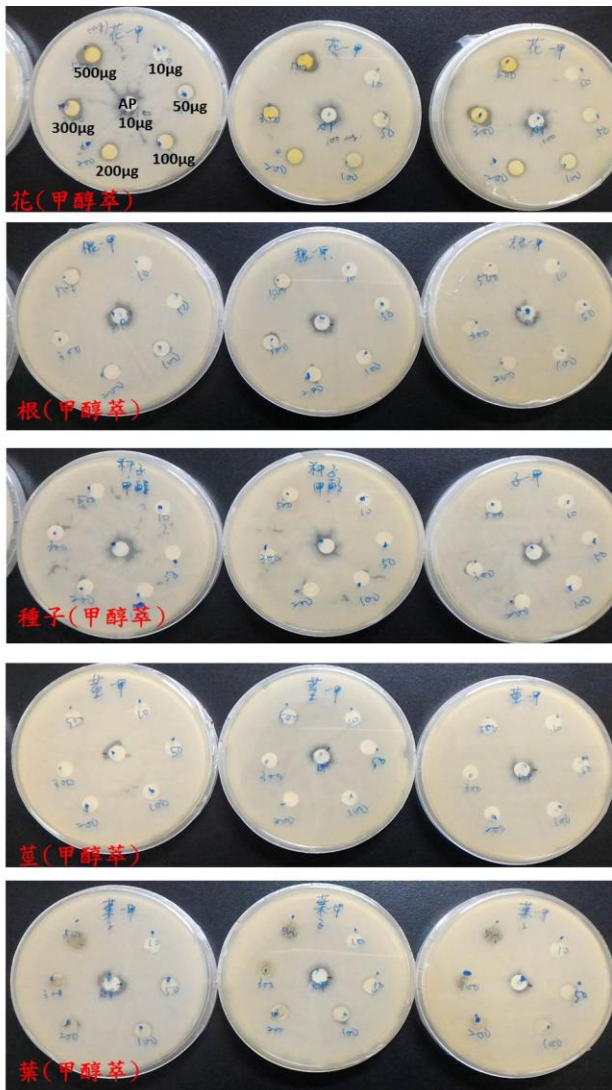


圖 1. 向日葵甲醇萃取物對大腸桿菌之抑制圈

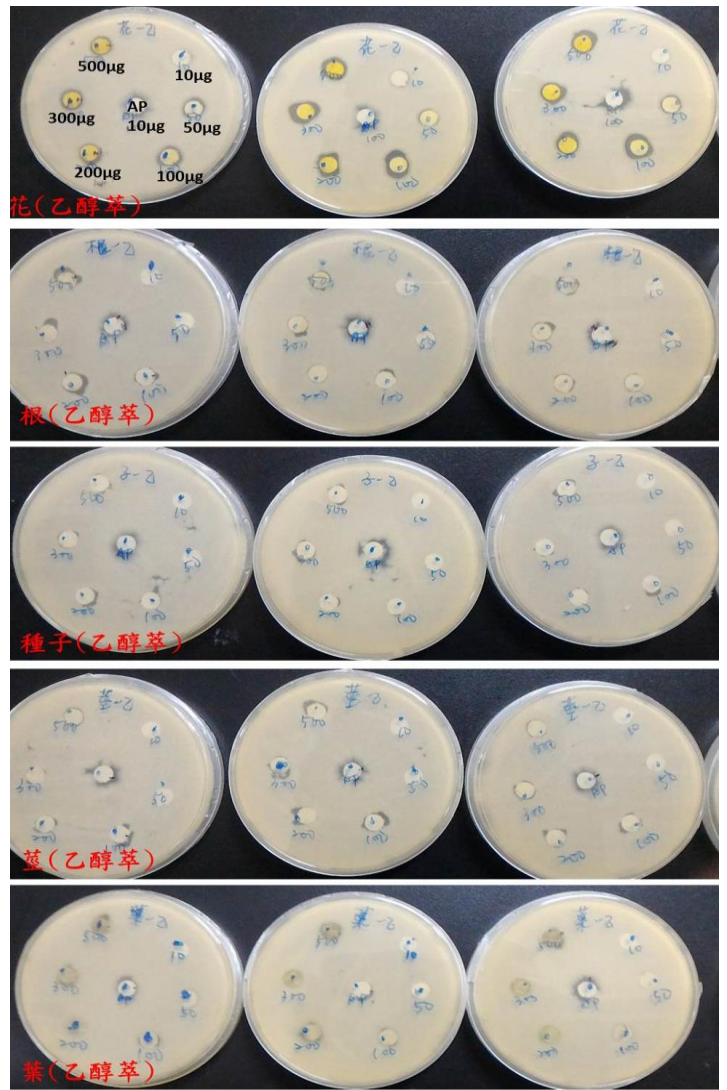


圖 2. 向日葵乙醇萃取物對大腸桿菌之抑制圈

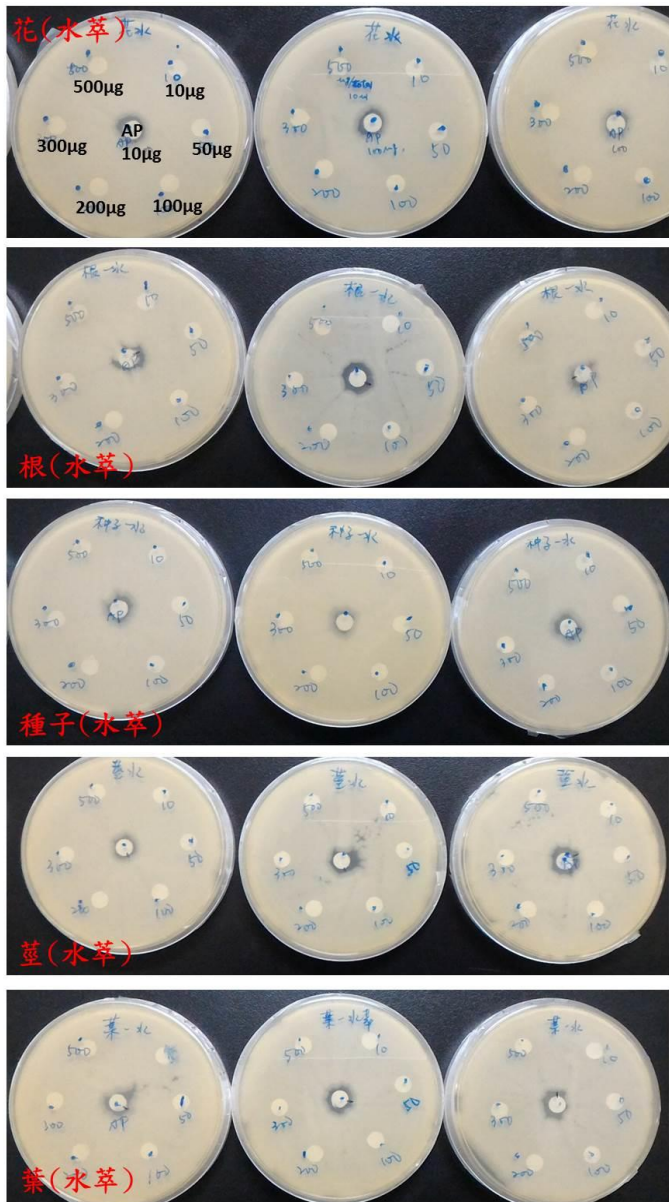


圖 3.向日葵水萃取物對大腸桿菌之抑制

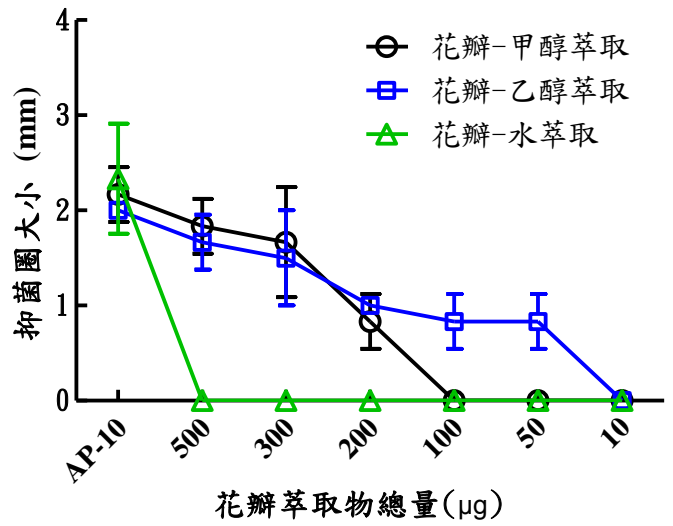


圖 4.向日葵花瓣萃取物對大腸桿菌之抑菌

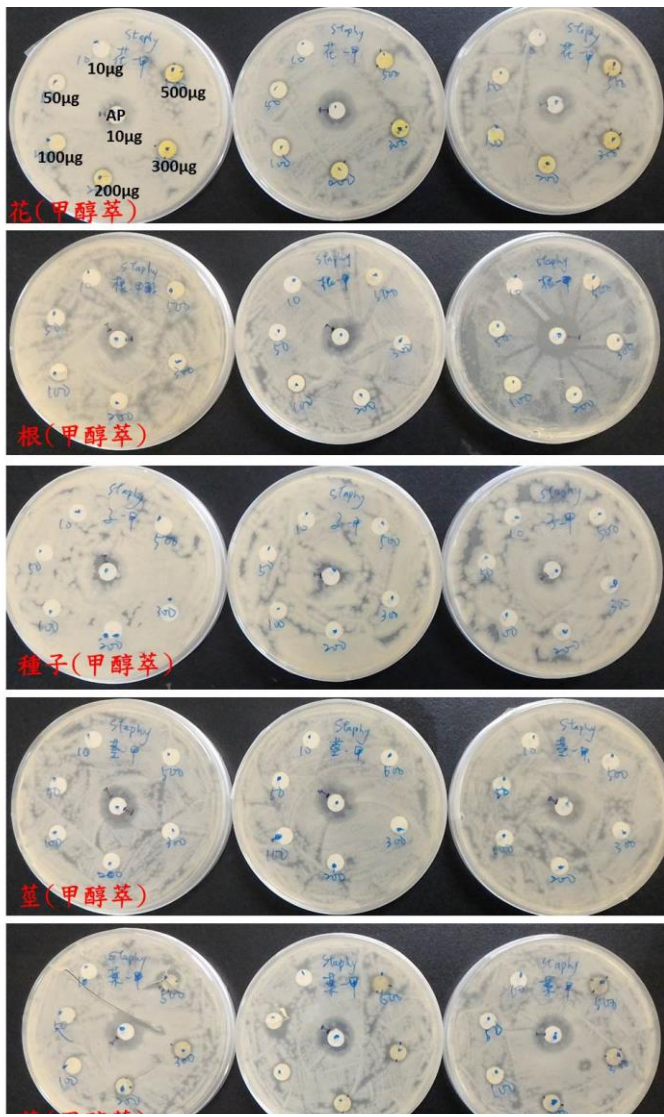


圖 5.向日葵甲醇萃取物對金黃色葡萄

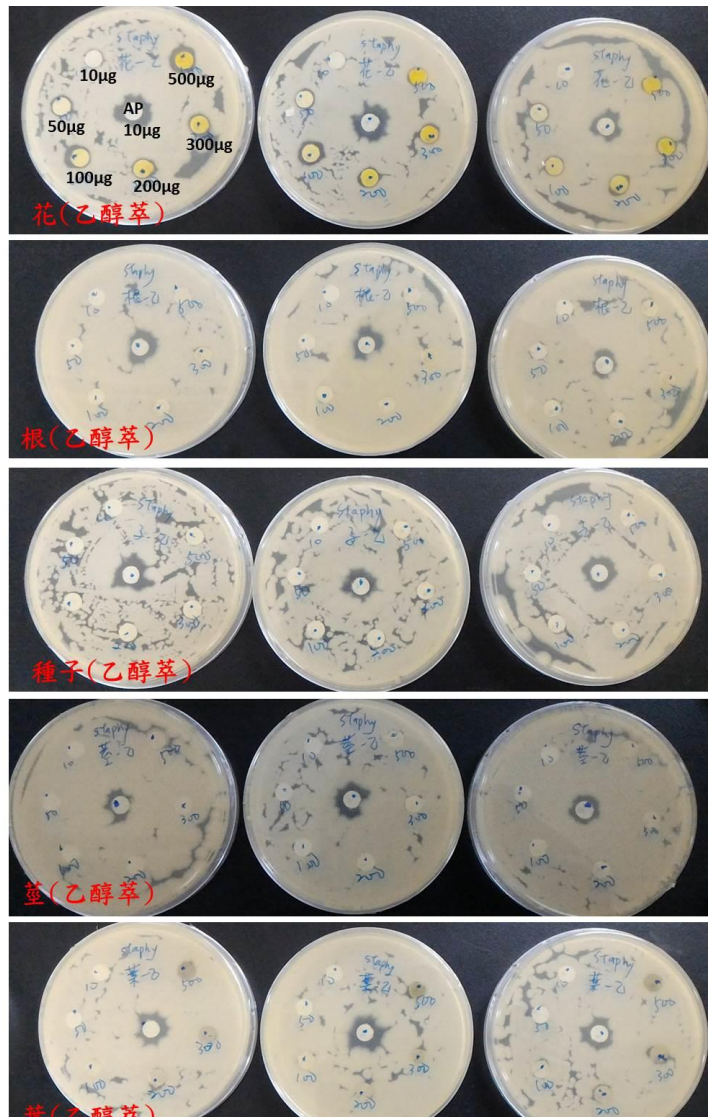


圖 6.向日葵乙醇萃取物對金黃色葡萄球菌

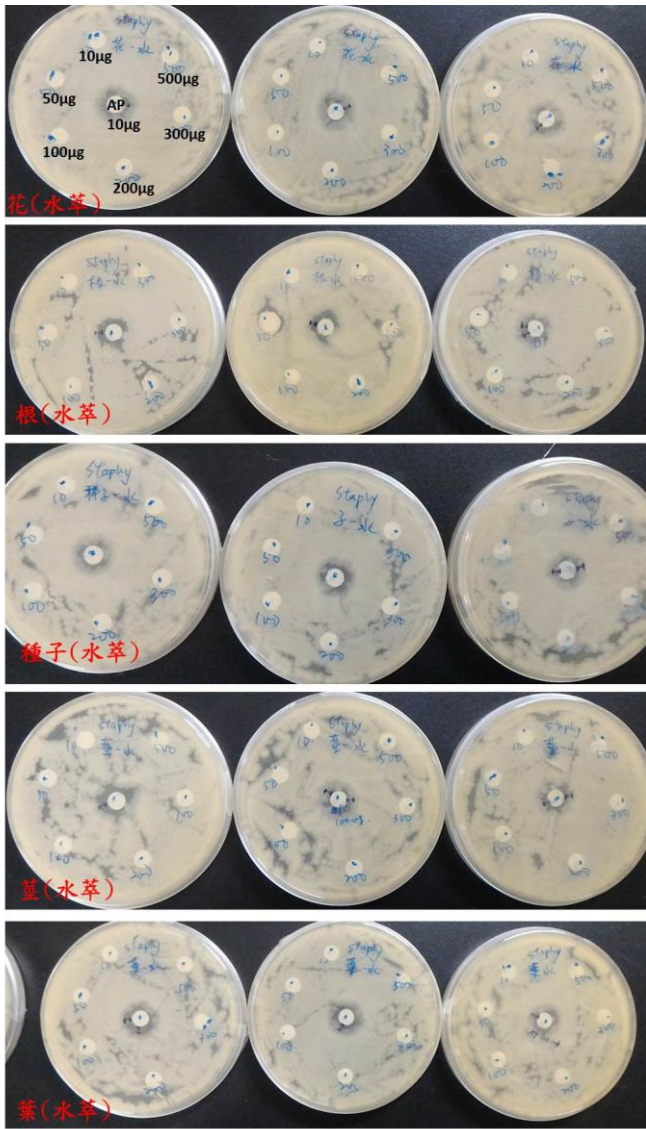


圖 7.向日葵水萃取物對金黃色葡萄球

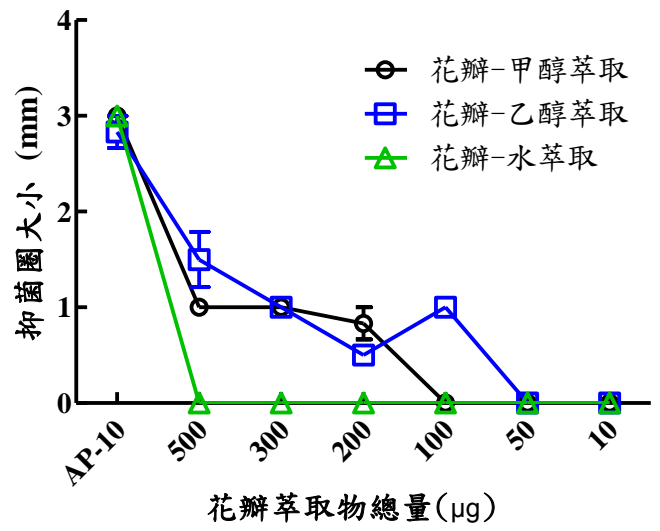


圖 8.向日葵花瓣萃取物對金黃色葡萄球菌

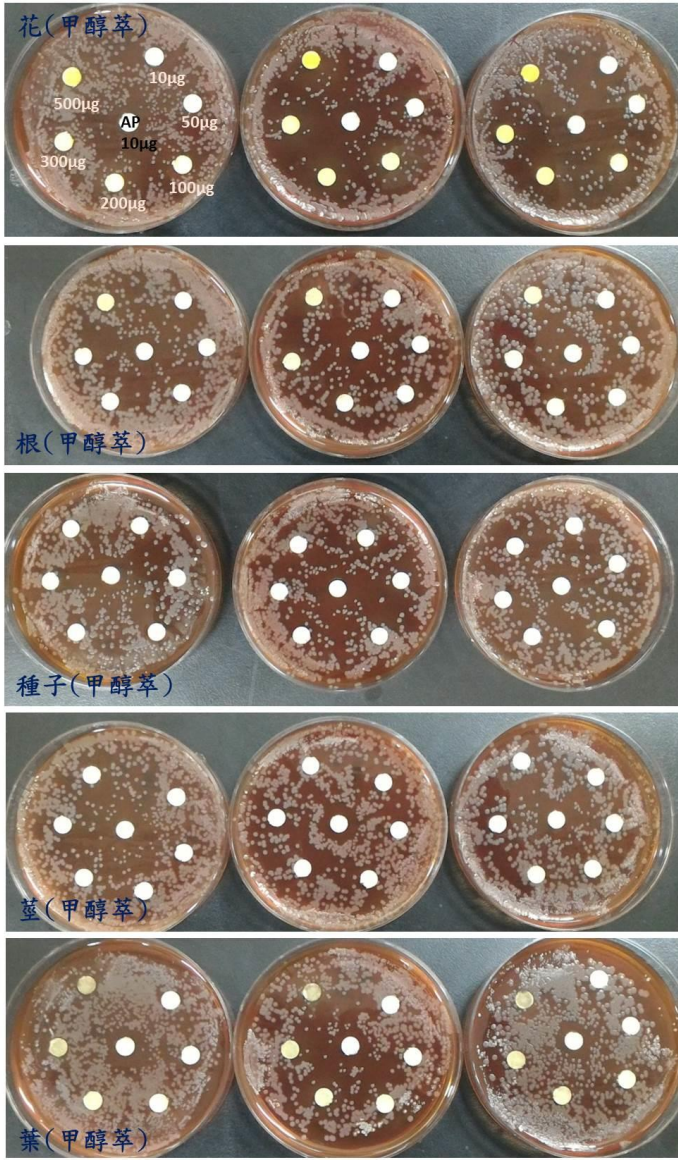


圖 9. 向日葵甲醇萃取物對痤瘡桿菌之抑菌圈

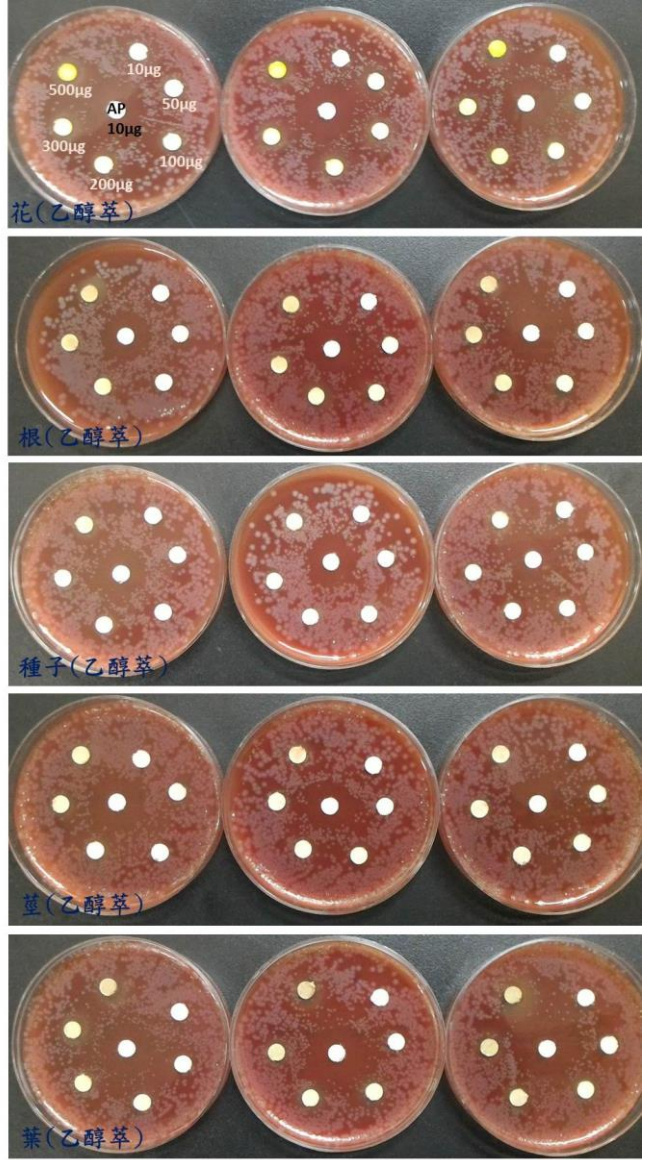


圖 10. 向日葵乙醇萃取物對痤瘡桿菌之抑菌圈

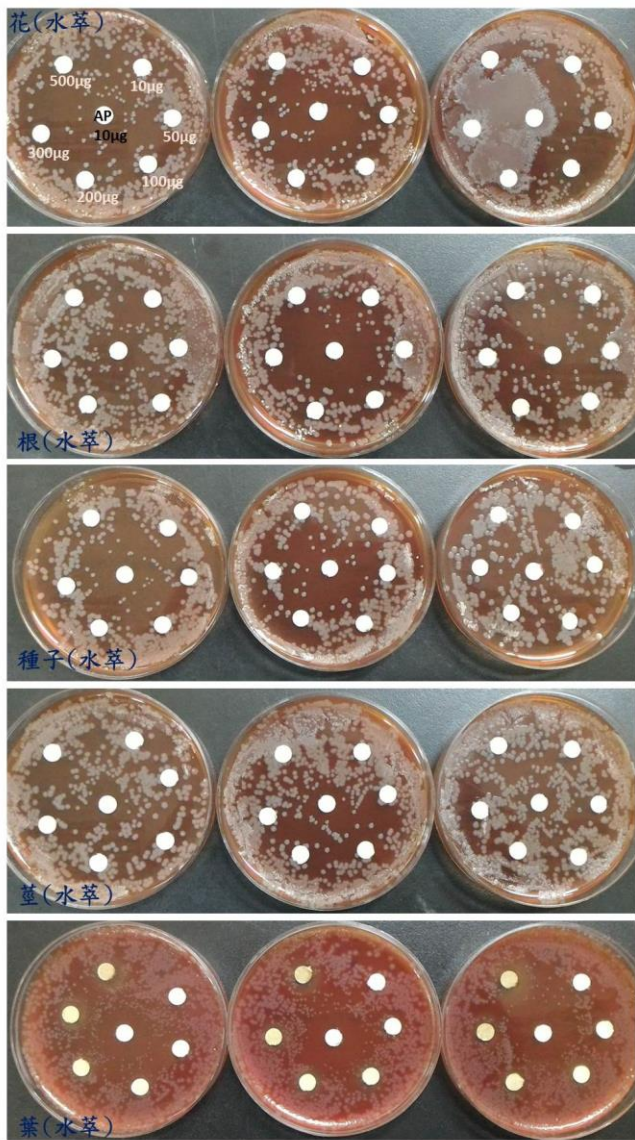


圖 11. 向日葵水萃取物對痤瘡桿菌之抑菌圈

3. 向日葵手工皂製作

將天然甘油皂基切塊後，利用恆溫水浴槽加熱融化，添加保護皮膚之基礎油配方後攪拌均勻至呈半透明狀，此時停止加熱，待溫度稍降，加入已調配好濃度之向日葵抗菌萃取液，並持續攪拌均勻(呈天然黃色)，緩慢倒入模具中等待冷卻。待冷卻後利用切皂器將向日葵手工皂份切割，並利用修皂器修飾皂塊周圍，利用包皂膜進行包裝，再黏貼設計好之包裝外標籤即可。

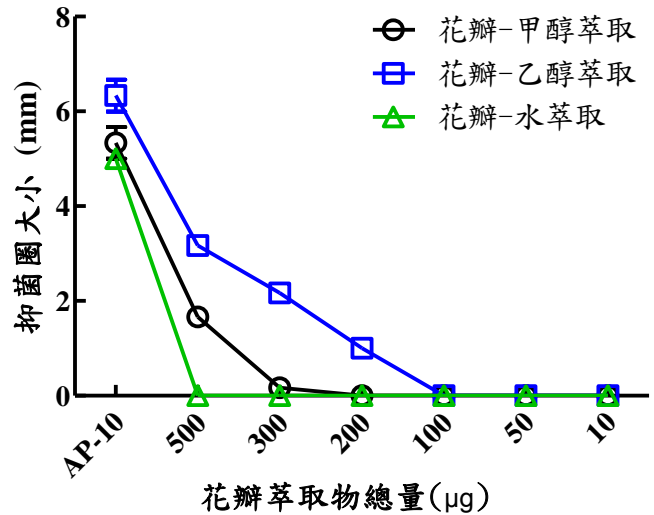


圖 12. 向日葵花瓣萃取物對痤瘡桿菌之抑制比較

4. 向日葵保濕修護面膜製作

將含有抗菌成份之向日葵萃取液，與調配好之面膜配方混合，利用儀器將面膜內含填充物填充進面膜包裝，再利用機器進行包裝封口作業，貼上設計好之外標籤即可。

5. 向日葵香皂去汙力比較

取長寬各 10cm 的白布秤重(m1)，均勻塗抹烤肉醬汁後，烘乾並秤重(m2)，將向日葵手工皂與市售肥皂溶解於固定體積之清水中，並將塗有口肉醬汁之白布放置於皂液中反應 30 分鐘，並取至清水中去除皂液，烘乾並秤重(m3)，並計算其去汙力 $= (M2-M3)/(M2-M1)*100\%$ ，並與控制組(ck)作比較(去汙力/ck)，如下圖 13.，經去汙力比較結果：自製向日葵肥皂>南王肥皂(市售)>摩登肥皂(市售)，故自製向日葵肥皂不亞於一般市售肥皂之去汙能力。

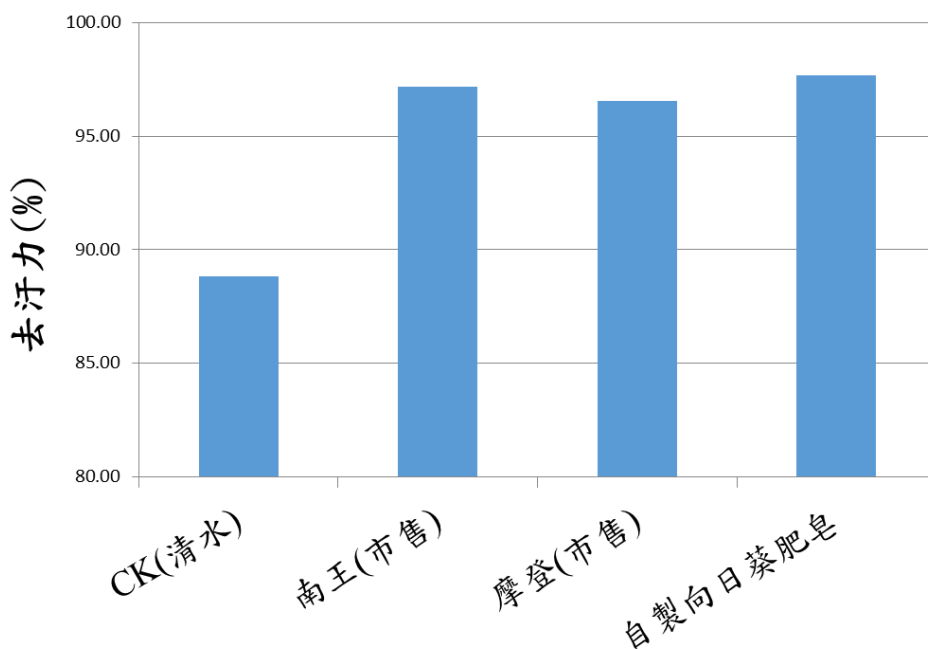


圖 13. 向日葵手工皂洗淨力測試

中英文參考文獻

許玲綾。向日葵的應用。國立旗山農工高級職業學校。高雄。

行政院衛生署中醫藥委員會臺灣藥用植物資源名錄。2003。向日葵。460 頁。

Heesacker, A., V. K. Kishore, W. Gao, S. Tang, J. M. Kolkman, A. Gingle, M. Matvienko, A. Kozik, R. M. Michelmore, Z. Lai, L. H. Rieseberg, and S. J. Knapp. 2008. SSRs and INDELs mined from the sunflower EST database: abundance, polymorphisms, and cross-taxa utility. *Theor. Appl. Genet.* 117: 1021-1029.

Khan, N. I., J. S. Shinge, N. S. Naikwade. 2010. Antilithiatic effect of *Helianthus Annuus* Linn. leaf extract in ethylene glycol and ammonium chloride induced nephrolithiasis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2: 4.

Liny P., T.K. Divya, M. Barasa, B. Nagaraj, N.B. Krishnamurthy and R. Dinesh. 2012. Preparation of gold nanoparticles from *helianthus annuus* (sun flower) flowers and evaluation of their antimicrobial activities. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 3: 0975-6299.

Mohamed, Sh., R. Boehm, and H. Schnabl. 2006. Stable genetic transformation of high oleic *Helianthus annuus* L. genotypes with high efficiency. *Plant Science* 171: 546-554.