

# 含天然蘆薈清潔劑之抑菌評估

---

含天然蘆薈清潔劑之抑菌評估

林明澄<sup>1</sup> 王復德<sup>1,2,3</sup> 王永衛<sup>2</sup>

台北榮民總醫院<sup>1</sup> 感染管制委員會<sup>2</sup> 內科部感染科<sup>3</sup> 國立陽明大學醫學系

根據本草綱目記載，蘆薈本身無毒無害無副作用，發現其內所含的皂角甘(saponons)具有強力清潔與抗菌效力，為一天然皂素；而安特拉歸農綜合體(anthraquinone complex)具有消炎、消腫、抑制細菌生長、止癢、止痛等功效。蘆薈已被應用在化妝品、清潔日用品、健康食品、外傷治療等領域。本研究參照美國及歐盟對清潔劑抗菌效果的檢測方法，評估含天然蘆薈清潔劑的抗菌效果。測試菌株包括，大腸桿菌(*Escherichia coli*)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、凝固桿菌(*Bacillus coagulans*)、克雷白氏肺炎桿菌(*Klebsiella pneumoniae*)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、傷寒桿菌(*Salmonella typhi*)等六株，進行基本殺菌效果評估與含有機物及硬水條件下的殺菌效果評估，各菌株皆進行不同三天的檢測，每株每種條件各檢測 30 次，共進行 900 次的檢測，檢測結果利用 MS-Excel 97 版及 SPSS ver10.0 統計軟體進行資料分析及繪圖。清潔劑與各種測試菌，經過 30 次不同天檢測，不論第一階段試驗或第二階段試驗，其結果皆符合歐美國家食品級清潔劑的要求，30 秒內減少  $10^5$  以上的微生物數量，可適用於食品業、乳製品業、罐頭業、蛋業及其他非食品業；其效果也符合醫院的環境清潔劑的要求，對 *E. coli*、*P. aeruginosa*、*S. aureus*，5 分鐘內減少  $10^6$  以上的微生物數量。(感控雜誌 2003;13:139-47)

關鍵詞：抗菌性、清潔劑、蘆薈

## 前 言

清潔去污劑(detergent)，簡稱清潔劑，適用於去污、防腐的步驟，目的在於減少食物或無生命環境中污染微生物的數量，而不是去殺死所有致病菌，在公共衛生的維護上佔有重要角色，使用範

圍相當廣泛，包括減緩非致病菌在環境中的傳播；符合食品業、農業、工業上有效控制微生物的要求；避免微生物於罐頭食品、蜜餞內生長而造成腐敗；增加食物及乳製品的保存期限；避免微生物分解物而產生惡臭；避免食品於生產製造過程中受致病微生物污染。依使用情況分為二類，一為食品級清潔劑，使用於會與食物接觸的所有設備，包括餐具、食物冷飲處理過程的裝置、浸潤食品製造業的相關設施、乳製品使用容器等；另一類為非食品級清潔劑，如地板、牆壁、傢俱或紡織業使用的清潔劑或去臭劑等[1-2]。

石化工業的發達，讓人們不論食衣住行所使用的物品，大部份為石化產品的延伸，當然家用清潔劑也不例外，長期使用石化產品已對環境造成污染，使人們對地球環境保護愈加關注，也開始回歸大自然及尋找天然物以取代生活中的石化產品。蘆薈(aloe)引入中國已有一千多年歷史，是一種常被使用的傳統中藥，屬多年生百合科肉質草本植物，葉片厚實多肉，具有醫療、美容、保健、食用、觀賞等多種功能。根據本草綱目記載，蘆薈本身無毒無害無副作用，蘆薈所含成份具有分解生物體內有害物質的作用，還能解除生物體內由外部侵入的毒素，並能消炎及促進細胞再生[3]。由於未經過科學証實，在以前僅能稱之為偏方；目前發現蘆薈的主要成份大致可分為植物碳酸系、單糖、多糖以及其他成分，共分為八大類元素，其中皂角甘(saponons)具有強力清潔與抗菌效力，為一天然皂素；而安特拉歸農綜合體(anthraquinone complex)據稱具有消炎、消腫、抑制細菌生長、止癢、止痛等功效[4]。Blitz 以蘆薈液供 12 位患有消化性潰瘍之病人服用，發現這些病人在 1 個月內完全復原，且在 1 年內沒有再復發[5]。1981 年美國食品藥物管理局(FDA)許可蘆薈可供安全食用，1987 年又核准蘆薈凝膠可用於治療炎症，蘆薈即被大量的應用於生活中，在商業上的用途愈來愈廣，已被應用在化妝品、清潔日用品、健康食品、外傷的治療等領域[6-7]。

台灣地區衛生、環保單位或中國國家標準(Chinese National Standard; CNS)，對於清潔劑的檢驗方法偏重在物理性或化學性的檢測，至於生物性方面，也偏重在食品中殘留清潔劑或農藥的檢測，而對清潔劑抗菌效果檢測方法則未公布[8]。

## 材料與方法

本研究參照美國及歐盟對清潔劑抗菌效果的檢測方法，評估含天然蘆薈清潔劑的抑菌效果[1,8-14]。

## 名詞解釋

抑菌性(bacterostatic activity)係指抑制微生物繁殖增生之能力。

根據歐盟的規定：

食品級清潔劑應用於接觸食物或相關處理設備，其抑菌效果須於 25°C、30 秒內，減少特定檢測細菌達 99.999%，或減少微生物數量達 10<sup>5</sup> cfu 以上。而非食品級清潔劑因毒性較強不宜與食物接觸，在 25°C，5 分鐘內，須減少特定檢測細菌達 99.9%，或減少 10<sup>3</sup> cfu 以上的微生物數量，方可通過測試。

殺菌效果(germicidal effect; GE)係指化學製品與特定檢測微生物作用一定時間後，該微生物減少的效果。其計算公式如下：[1]  $GE = \log_{10} N_c - \log_{10} N_d$

Nc:對照組(不含清潔劑)的培養菌量

Nd:與清潔劑接觸後的培養菌量

檢測清潔劑

含天然蘆薈清潔劑，含天然蘆薈酵素及成份、海水提煉礦物元素、椰子油萃取脂肪酸及衍生物等成份(蘆薈潔；鮮之路生態科技股份有限公司；台北)。此產品於 25°C 下，pH=10.7、生物分解度為 95.0%以上，全磷酸鹽小於 0.01%。

測試菌株

包括一般抗菌性測試菌使用的 *Escherichia coli* ATCC11229、*Staphylococcus aureus* ATCC6538 可適用於食品業及乳製品業、另外適用罐頭業之測試菌 *Bacillus coagulans* CCRC 11592、蛋品業的測試菌 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442、食品接觸表面測試菌 *Salmonella typhi* ATCC6539、非食品接觸表面測試菌 *Klebsiella pneumoniae* ATCC4352 等六株。

#### 測試菌株配製

菌株懸浮液的配製，接種於含有 nutrient agar，於 35-37°C 溫箱培養 18-24 小時，以 0.5% 無菌磷酸鹽緩衝生理食鹽水 (pH=7.2) 調製成  $1.0 \times 10^6$  cfu/mL 以上的菌液。另配製含 0.03% (乾淨條件) 或 0.3% 白蛋白血清 (污染條件) (bovine albumin; BGA division of biopool\*international) 與標準硬水 (245ppm) 菌株懸浮液，供第二階段試驗使用 [1,9-10,13-14]。

#### 抗菌效果試驗

第一階段基本抑菌效果評估：

取等量清潔劑分別與上述各種菌株懸浮液混合靜置 30 秒，再取 1mL 清潔劑-菌株液，加入 9mL 中和劑內 (無菌磷酸鹽緩衝生理食鹽水-中和劑: 0.5% phosphate buffer+0.05% Tween 80+0.07% lecithin +1% sodium thiosulfate, pH=7.2)，取 0.1mL 已中和之清潔劑-菌株液接種於 trypticase soy agar (TSA BBL)，置於 36°C 溫箱，48 小時判讀結果。各菌株皆進行不同三天的檢測，各檢測 30 次，並檢測中和劑是否含有抑菌成份，及進行檢測中所有因素的陽性及陰性對照，取 log<sub>10</sub> 轉換培養菌量並計算殺菌效果。依美國清潔劑抑菌性檢測要求必須檢測三個批號，其中一個批號至少已經出廠 60 天，每個菌株皆分別進行了 30 次檢測，合計 180 次的檢測 [1,8-10]。

第二階段污染情況抑菌效果評估 (含蛋白質及硬水)：

取等量的清潔劑及上述各種含蛋白質及硬水的菌株懸浮液，混合靜置 30 秒或 5 分鐘，再取 1mL 清潔劑-菌株液，加入 9mL 中和劑內 (同第一階段)，取 0.1mL 已中和之清潔劑-菌株液接種於 trypticase

soy agar(TSA, BBL), 置於 36~37°C 溫箱, 48 小時判讀結果。各菌株各條件皆進行不同三天的檢測, 每菌株依不同條件合計進行 120 次檢測, 共檢測 720 次, 並檢測中和劑是否含有抑菌成份, 所有各種條件因素都進行對照組測試, 結果以 log10 轉換並計算殺菌效果[1,8-10]。檢測結果利用 MS-Excel 97 版本及 SPSS 統計軟體 ver10.0 進行資料分析及繪圖[1,9-10]。

## 結 果

第一階段基本抑菌效果評估, 清潔劑對 *E. coli* 的之殺菌效果, 三批清潔劑經 30 次不同天檢測, 細菌降低量經 log10 轉換後, 平均殺菌效果為 7.93, 標準差為 0.44, 此結果代表平均可殺死  $6.2 \times 10^7$  的菌量; 對 *S. aureus* 的 log10 平均殺菌效果為 7.52, 代表平均可殺死  $5.7 \times 10^7$  的菌量, 標準差為 0.35, 符合美國環保署要求, 食品級清潔劑, 30 秒內減少  $10^5$  以上的微生物數量。至於適用其他行業之測試菌 *B. coagulans*、*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa*、*S. typhi* 等四菌, 其平均殺菌效果也都減少  $10^5$  以上表一。

出廠 60 天以上清潔劑殺菌效果, *E. coli*、*S. aureus* 的平均殺菌效果分別為 7.90、7.71, 適用罐頭業之 *B. coagulans* 平均殺菌效果為 6.97、非食物接觸表面測試菌 *K. pneumoniae* 為 8.31、蛋業測試菌 *P. aeruginosa* 為 7.46、食品接觸表面測試菌 *S. typhi* 為 7.22, 代表本檢測清潔劑出廠 2 個月其殺菌效果未受影響仍持續存在, 符合食品級清潔劑, 30 秒內減少  $10^5$  以上的微生物數量圖一。

第二階段之殺菌效果, 在乾淨條件下, *E. coli* 於 30 秒或 5 分鐘的平均殺菌效果分別為 7.37、7.42; *S. aureus* 的 30 秒或 5 分鐘平均殺菌效果皆為 7.70, 其他行業之測試菌的平均殺菌效果亦皆大於  $10^5$  以上表二。於污染條件下, 六種測試菌不論 30 秒或 5 分鐘的平均殺菌效果亦大於  $10^5$  以上圖二。

## 討 論

本次檢測清潔劑與六種測試菌, 不論第一階段試驗或第二階段試驗, 三批次產品經過 30 次不同天檢測, 其平均殺菌效果都高於  $10^7$  以上的菌量, 甚至完全殺死 *B. coagulans*、*K. pneumoniae*、*S. typhi*, 皆符合歐美國家食品級清潔劑的要求, 30 秒內減少  $10^5$  以上的微生物數量; 在含有低

濃度的蛋白質及硬水情況下，可完全殺死 *S.aureus* 與 *K. pneumoniae*，而接觸 5 分鐘，可完全殺死 *B. coagulans*、*E. coli*、*K. pneumoniae*、*S. aureus*、*S. typhi*；因此蘆薈清潔劑可用於食品業、乳製品業、罐頭業、蛋品業及其他非食品業的一般清潔劑，其效果也符合醫院的環境清潔劑的要求，對 *E. coli*、*P. aeruginosa*、*S. aureus*，5 分鐘內減少  $10^6$  以上的微生物數量。

美國地區清潔劑產品的管理單位，為環境保護署(Environment Prot-ective Agency; EPA)，負責該類產品的申請、註冊、適用範圍審查、實際使用之評估；歐洲各國在歐盟的努力下，也陸續整合各國對此類產品的檢測方法。本研究採用的抗菌效果檢測，主要是參照歐盟整合後的檢測方法，屬於定量懸浮試驗(suspension test)，其原理是利用清潔劑及測試菌混合一定時間後，再加入中和劑，將清潔劑的殘餘抑菌效果中和，再接種於營養的培養基上。並同時進行中和劑對測試菌的陽性對照及無菌物品的陰性對照。第二階段的檢測目的在於了解，當存在蛋白質及硬水的情形下，清潔劑的抗菌效果是否受影響，依研究結果，含有蛋白質及硬水的情形下，不會影響蘆薈清潔劑的抑菌效果[1,8,10-11]。

清潔劑與消毒劑或滅菌劑的殺菌評估之不同處在於，清潔劑必須在 30 秒內抑制至少  $10^5$  以上的菌量繁殖，而消毒劑是在 10 分鐘、30 分鐘或 60 分鐘 100%破壞所有繁殖體的微生物，滅菌劑則是於一定時間內破壞所有型態的微生物，包括細菌孢子。美國環保署依清潔劑的成份將其分為 9 大類，分別為非食品級清潔劑、次氯酸化合物(chlorine)、碘化合物(iod-ophors)、四級胺化合物、酸性陰離子產品、脂肪酸產品(carboxylic acid)、強氧化物(peroxy acid compound)、酚類、non-oxychloro-延伸物；本次檢測清潔劑是含有藥草成份的脂肪酸所延伸的產品。抗菌檢測時使用的中和劑要能移除清潔劑的殘存抑菌效力，使用適當的中和劑，可避免被抑制的菌株無法被培養出來，以減少偽陰性。不同的清潔劑或消毒劑成份所使用的中和劑不同，例如酚類等陽離子介面活性劑，須使用 letheen broth 為中和劑，thioglycolate 可中和氧化劑，含氯產品或餘氯使用 sodium thiosulfate 中和，lecithin 及 thiosulfate 則用於中和優碘；由於本研究的清潔劑是天然椰子油脂肪酸製品，考量含有海水礦物元素等成份，使用的中和劑，包含 Tween 80、lecithin 及 sodi-um thiosulfate，以達中和效果[1,12-13]。由表一可得知，於對照組中，各種測試菌在含中和劑的培養菌量都比不含中和劑的菌量高，代表此中和劑有修補受損細菌的功能，且與清潔劑作用後其降低的菌量也都大於  $10^6$  以上，甚至完全破壞細菌。

本次檢測的清潔劑為蘆薈凝膠基加入椰子皂，可減少對人體及環境的傷害，經小鼠口服急毒性檢測，對雌、雄小鼠之口服毒性 LD 50 大於 5,000mg/kg，依據世界衛生組織之評估標準，屬於正常使用時無毒性[15]。依衛生署公告手洗式食品用液態清潔劑衛生標準，規定 pH 值應為 6.0-8.0，而本次檢測清潔劑之 pH 值為 10.7，屬於鹼性產品，但經白兔之皮膚刺激性檢測，於 24 小時及 72 小時之平均皮膚刺激指數為 0，符合美國環保署之評估標準，屬於皮膚無刺激性溶液(報告編

號 TX-293SKC)[16]，

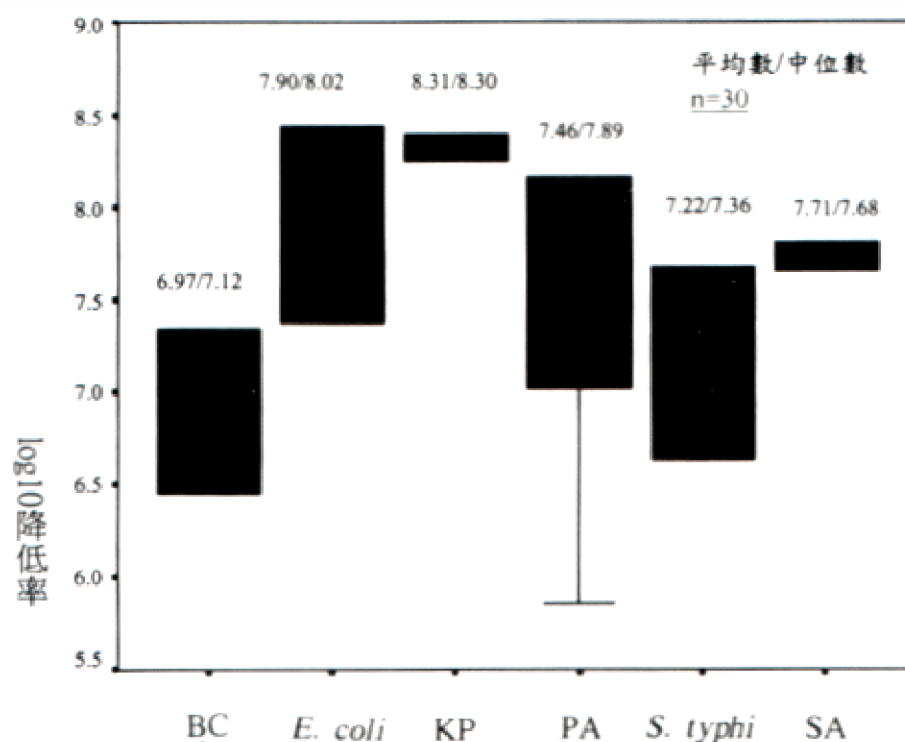
因此可認為是一項無毒性的產品，唯長期使用是否對皮膚有影響則待進一步探討。

在環保意識高漲的今日，人們已希望多使用純天然的物品，以減少環境的負擔，人們期望的理想清潔劑應符合以下條件，無毒性、良好的清潔力及穿透力、作用快速、蛋白質及有機物不影響其效力、有殘存抑菌效果、容易使用、濃度穩定具長效期、無腐蝕作用、於環境中可分解等因素，本次檢測的清潔劑正符合理想清潔劑的要求，亦期待各行各業的業者能發展更多無毒性、符合環保的產品供人類使用[1,9]。

表一 各類微生物基本殺菌測試之殺菌效果 (第一階段)(n=30)

菌名	對照組 平均菌量 (標準差)	含中和劑對照組 平均菌量 (標準差)	加清潔劑 後之菌量	殺菌效果 log10 (降低率±標準差)
一般測試菌				
<i>E. coli</i>	1.6x10 <sup>8</sup> (2.3x10 <sup>8</sup> )	1.3x10 <sup>8</sup> (1.1x10 <sup>8</sup> )	0.07 (0.38)	7.93 ± 0.44
<i>S. aureus</i>	5.9x10 <sup>6</sup> (6.7x10 <sup>6</sup> )	5.2x10 <sup>7</sup> (8.9x10 <sup>7</sup> )	1.59 (3.14)	7.52 ± 0.35
適用其他行業測試菌				
<i>B. coagulans</i>	5.0x10 <sup>6</sup> (1.3x10 <sup>6</sup> )	1.3x10 <sup>7</sup> (7.9x10 <sup>6</sup> )	0	>6.97 ± 0.38
<i>K. pneumoniae</i>	1.6x10 <sup>8</sup> (3.0x10 <sup>6</sup> )	2.1x10 <sup>8</sup> (2.8x10 <sup>7</sup> )	0	>8.31 ± 0.06
<i>P. aeruginosa</i>	4.1x10 <sup>7</sup> (3.0x10 <sup>7</sup> )	7.7x10 <sup>7</sup> (5.6x10 <sup>7</sup> )	4.11 (20.97)	7.60 ± 0.60
<i>S. typhi</i>	1.2x10 <sup>7</sup> (9.8x10 <sup>6</sup> )	2.4x10 <sup>7</sup> (1.8x10 <sup>7</sup> )	0	>7.23 ± 0.44

\*> 代表皆未長菌



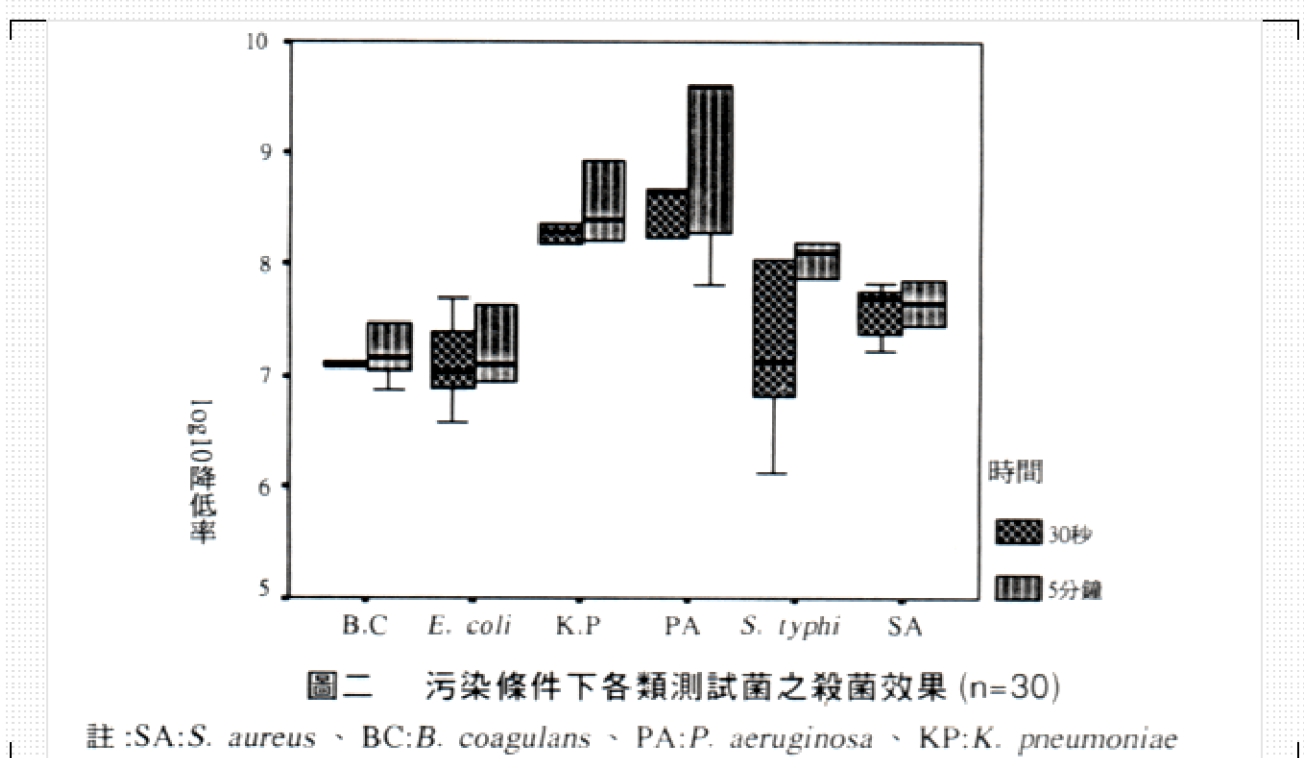
圖一 出廠 60 天以上清潔劑之殺菌效果  
 註 :SA:*S. aureus*、BC:*B. coagulans*、PA:*P. aeruginosa*、KP:*K. pneumoniae*

表二 乾淨條件下各類測試菌之殺菌效果 (n=30)

菌名	含中和劑對照組 平均菌量 (標準差)	30 秒作用時間 log10 (降低率 ± 標準差)	5 分鐘作用時間 log10 (降低率 ± 標準差)
一般測試菌			
<i>E. coli</i>	$3.5 \times 10^7$ ( $2.5 \times 10^7$ )	$7.37 \pm 0.43$	$>7.42 \pm 0.36$
<i>S. aureus</i>	$5.8 \times 10^7$ ( $3.1 \times 10^7$ )	$>7.70 \pm 0.25$	$>7.70 \pm 0.17$
適用其他行業測試菌			
<i>B. coagulans</i>	$7.5 \times 10^6$ ( $4.9 \times 10^6$ )	$6.6 \pm 0.57$	$>6.42 \pm 0.90$
<i>K. pneumoniae</i>	$2.0 \times 10^8$ ( $4.9 \times 10^7$ )	$>8.29 \pm 0.11$	$>8.22 \pm 0.12$
<i>P. aeruginosa</i>	$2.7 \times 10^8$ ( $2.0 \times 10^8$ )	$8.3 \pm 0.32$	$8.42 \pm 0.26$
<i>S. typhi</i>	$4.3 \times 10^7$ ( $1.7 \times 10^7$ )	$7.48 \pm 0.48$	$>7.93 \pm 0.12$

\* > 代表皆未長菌





誌 謝

本研究為民國九十一年台北榮總產官學合作計畫，計畫編號為 T-91-004。感謝鮑品樺、林怡瑄二位研究助理的協助。

參考文獻

1. Grab LA, Bennett MK: Method of testing sanitizers and bacteriostatic substances. In: Block SS ed.: Disinfection, sterilization, and preservation 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001;1373-82.

2. Gilbert RJ, Watson HM: Some laboratory experiments on various meat preparation surfaces with regard to surface contamination and cleaning. J Food Technol 1971;6:163-70.

3.李時珍。本草綱目(第一版)。文有書店，台北 1971:1128。

4.Mueller SO, Stopper H: Characterization of the genotoxicity of anthraquinones in mammalian cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1999;1428:406-14.

5.Blitz JJ, Smith JW, Gerard JR: Aloe vera gel in peptic ulcer therapy-preliminary report. *J Am Osteo Ass* 1963;62:731-4.

6.Borrelli F, Izzo AA: The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research* 2000;14:581-91.

7.Ali MI, Shalaby NM, Elgamal MH, et al: Antifungal effects of different plant extracts and their major components of selected aloe species. *Phytotherapy Research* 1999;13:401-7.

8.中國國家標準(CNS)檢索系統(2002，1月23日)。食品及食具用合成清潔劑(CNS3800-S1085,89年5月18日)。摘自 <http://www.cnsppa.com.tw/>

9.Gardner JF: Principles of chemical disinfection.

In: Gardner JF, ed: Introduction to sterilization, disinfection and infection control. London: Churchill Livingstone Longman Group UK Limited 1991;170-90.

10.Green BL, Litsky W: The use of sodium sulfite as a neutralizer for evaluation of iodine preparations. *Health Laboratory Science* 1974;11:188-94.

11. Association of Official Analytical Chemists: Agricultural chemicals; contaminants; drugs In: Helrich K(ed) Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists, 15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists 1990; vol 1 p133.

12. Determination of the antimicrobial value of QAC disinfectant formulations (BS-6471). British Standards Institution, London 1984, p90-5.

13. MacKinnon IH: The use of inactivators in the evaluation of disinfectants. J Hygiene 1974;189-95.

14. Gelinas P, Goulet J: Neutralization of the activity of eight disinfectants by organic matter. J Applied Bacteriol 1983;54:243-7.

15. 行政院農委會藥物毒物試驗所：小鼠口服急毒性檢測-報告編號:TX-280a cc;2001.

16. 行政院農委會藥物毒物試驗所：白兔之皮膚刺激性檢測-報告編號:TX-293skc;2001.

Evaluation of Bacteriostatic Effect of an Aloe-containing Sanitizer

Ming-Yin Lin 1, Fu-Der Wang 1,2,3, Wang-Wai Wong 2

1 Nosocomial Infection Control Committee, 2 Division of Infectious Disease, 3 Department of Medicine,

Veteran General Hospital-Taipei, Taiwan

Aloe has been cited by centuries-old Chinese herbal text as a non-toxic substance after human consumption, and has many beneficial effects for the human health. A recent report has indicated that one of its components, saponin, has bacteriostatic, in addition to cleansing effects. Another component, anthraquinolone complex, has been reported to suppress inflammation, tissue swelling, and bacterial growth. The US Food and Drug Administration has approved the use of aloe in cosmetics, detergents, health foods, and for treatment of injuries for more than 10 years. We studied bacteriostatic effect of an aloe-containing sanitizer employing test methods of the American Environmental Protection Agency (EPA) and European Committee for Standardization (CEN). Six bacterial strains tested included *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus coagulans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella typhi*. Each strain was tested 30 times in the bacteriostatic suspension test and phase two suspension test over 30 seconds, the latter being used to determine the effect in hard water and 0.3% bovine albumin solution. The result showed that there was reduction of 99.999%, or 5 logs, in the number of all bacterial strains within 30 seconds, meeting both EPA and CEN standards as a sanitizer. The product could be applied to cleansing of food-contact or non-food contact surfaces. (*Infect Control J* 2003;13:139-47)

Key words: bacteriostatic, detergent, aloe