

香辛料防腐性之檢討

高中教師組生物科第一名

高屏澎區佳冬高農

作者：詹文鋒

一、前言：

據文獻上(1)(2)指出，古時候，香辛料 (Spices) 常被視為高貴的藥劑，或用作驅除惡魔，或作為媚藥。對常食肉類者而言，香辛料不但能消除肉類的腥味，也可利用其防腐性長久保存食物。

香辛料具有不同的香辛藥效成份，有良好之防腐殺菌作用，諸如蒜頭 (garlic) 在其鱗莖中含有 Allin (S - allyl - cysteine sulfoxide) 之結晶成分，再分解成 Allicin ($\text{CH}_2 : \text{CHCH}_2\text{S}$)₂O，此化學結構中，氧原子與半胱胺酸 (cysteine) 相接合，而抑制半胱胺酸轉變為胱胺酸 (cystine) 且失去一 SH 基。半胱胺酸係微生物生長繁殖的刺激劑，亦為微生物生理氧化作用的必需品之一； Allicin 既能破壞半胱胺酸，因而能抑制微生物的生長，而呈殺菌作用，且大蒜中所含有之 Allin 能調整腸內寄生菌，具有除毒作用，消除腸內腐敗物，有抗癌之效。

有鑑於此，本實驗爰從日常所使用之香辛料，以不同條件，進行檢討其具有抑菌作用之安定性。

二、材料與方法：

(一)香辛料中香辛藥味成分之製取：

1. 以日常所使用之香辛料作為檢體，係購自中藥房、種子店，如紅紫蘇 (red perilla)、茴香 (fennel)、黑胡椒 (black pepper)、八角 (Star - anise)、肉豆蔻 (natmeg)、蒜頭 (garlic)、紅辣椒 (red pepper)、生薑 (ginger) 八種香辛料。

2. 將紅紫蘇之莖葉、茴香之果實、黑胡椒之果實、八角之果實、肉豆蔻之花與種仁、蒜頭生薑之根莖、紅辣椒之果實，洗淨風乾→各別置於果汁機中，添加適量的 dist. H₂O 打碎→以水蒸氣蒸餾法 (steam distillation)，使其香辛藥味成分餾出→餾出液作為抑菌作用之檢液。

八種香辛料餾出液之成分

香辛料	紅紫蘇	茴香	黑胡椒	八角	肉豆蔻	蒜頭	紅辣椒	生薑
餾出液成分	Perilla aldehyde, α-antioxime	anethol, fenchone	piperine	star-anise oil	mace oil	allicin	capsicin	curcumin

(二) 抗菌活性 (activity) 之測定：

1. 檢定抑菌作用所使用之菌種

由作者在任教學校擔任食品微生物實習課程，所保存之菌種，細菌 (病原菌) 類：Salmonella enteritidis; Staphylococcus aureus; Streptococcus pyogenes; Bacillus subtilis; Escherichia coli.

黴菌類：Aspergillus niger; Aspergillus oryzae S ; Rhizopus javanicus; Penicillium chrysogenum; Monascus anka.

酵母菌類：Candida mycoderma; Zygosaccharomyces soja; Saccharomyces cerevisiae.

2. 培養基之調製(3)(4)

(1) 細菌類——肉汁洋菜培養基 (bouillon - agar)

濃縮肉汁 (meat extract) 1 %、百補腺 (peptone) 1 %、食鹽 (NaCl) 0.5 %

2 % 洋菜粉 (agar powder) 與 dist · H₂O 混合，攪拌加熱溶解之→加入蛋白，振盪、過濾→以 PH meter 調節 PH 至 7.0 →注入於三角瓶中，塞以棉花栓 →置於高壓殺菌釜，以 15 磅壓力殺菌 20 min.

(2) 黴菌類——Henneberg 氏培養基

硫酸鎂 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5 g、百補朊 (peptone) 10 g、氯化鈣 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.1 g、磷酸二氫銨 (NH_4) H_2PO_4 2 g、葡萄糖 (Glucose) 100 g、硝酸鉀 (KNO_3) 2 g、蒸餾水 1 ℓ、洋菜粉 20 g 等成分之合成培養基，PH 調至 5.0。

(3) 酵母菌類——Hayduck 氏培養基

蒸餾水 1 ℓ、 KH_2PO_4 1 g、蔗糖 (Sucrose) 100 g、天冬素 (Asparagine) 2.5 g、硫酸鎂 3 g、洋菜粉 15 g 等之合成培養基，PH 調至 5.5。

3. 培養皿圓筒法 (Cylinder - plat method) (5)

(1) 將保存於斜面培養基上之保存菌種，以白金耳移植於各液體培養基中 (不含洋菜)，置於 30°C 之振盪培養器 (120 stroke/min.) 上培養，細菌 6 小時，酵母菌 24 小時，黴菌 48 小時，使菌數增殖後以供使用。

(2) 將固體合成培養基熔融後，以 5 ml 之量均勻分散於已乾熱殺菌過之培養皿中，待冷卻凝固後，其上層再加入 0.2 ml 之菌種培養液與 2 ml 含 1% 洋菜之熔融固體培養基之混合液 (在 50°C 混合)，凝固後，將不銹鋼圓筒 (Stainless-steel cylinder) ——外徑 8 ± 0.1 mm，內徑 6 ± 0.1 mm，高 10 ± 0.1 mm 直立於其上，然後將 0.2 ml 之香辛料餾出液注入圓筒裡，使其擴散於培養皿之固體培養基上，經 30°C ，12 ~ 36 小時之培養後，正確地量出圓筒周圍阻止圓圈之大小 (即其透明帶之直徑以 mm 表示其抗菌力)。

(三) McIlvaine Buffer 之配製

A 液：0.1 M 檸檬酸 (Citric acid) 溶液 [21.015 g C_3H_4 (OH) (COOH)₃ · H_2O 溶於 1 ℓ dist. H_2O]

B 液：0.2 M Na_2HPO_4 溶液 (71.632 g 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶於 1 ℓ dist. H_2O)

A (ml)	B (ml)	PH
12.29	7.71	4.0
9.70	10.30	5.0
7.37	12.63	6.0
3.53	16.47	7.0
0.55	19.45	8.0

三、結果與討論：

(一)香辛料餾出液抑制被檢微生物生長的比較：

測定八種香辛料之餾出液對被檢微生物之抗菌活性，其結果如表 I，顯示被檢菌對這些香辛藥味成分之抵抗性有所迥異，尤以對於黴菌、酵母菌類生長之抑制效果較為良好。其中以紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭之抑菌力較強且對所有之被檢菌之生長均具有抑制效

表 I 八種香辛料餾出液對被檢微生物生長之抗菌活性

被 檢 微 生 物		抗 菌 活 性 (m m)							
		紅紫蘇	茴 香	黑胡椒	八 角	肉豆蔻	蒜 頭	紅辣椒	生 薑
細菌 (病原菌) 類	<i>Salmonella enteritidis</i>	23	+	22	10	11	30	NA	12
	<i>Staphylococcus aureus</i>	19	NA	18	NA	NA	27	13	NA
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	17	NA	21	NA	NA	25	12	NA
	<i>Bacillus subtilis</i>	22	+	25	NA	NA	32	NA	NA
	<i>Escherichia coil</i>	18	NA	17	NA	NA	25	12	NA
黴 菌 類	<i>Aspergillus niger</i>	25	13	18	NA	+	27	16	NA
	<i>Aspergillus oryzaes S</i>	20	12	19	+	+	25	17	NA
	<i>Rhizopus javanicus</i>	13	10	11	+	NA	26	10	+
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	22	11	17	NA	NA	31	15	NA
	<i>Monascus anka</i>	16	+	12	+	NA	29	9	+
酵 母 菌 類	<i>Candida mycoderma</i>	27	15	24	10	12	33	20	NA
	<i>Zygosaccharomyces soja</i>	30	13	28	11	10	34	14	NA
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32	25	30	20	18	35	28	14

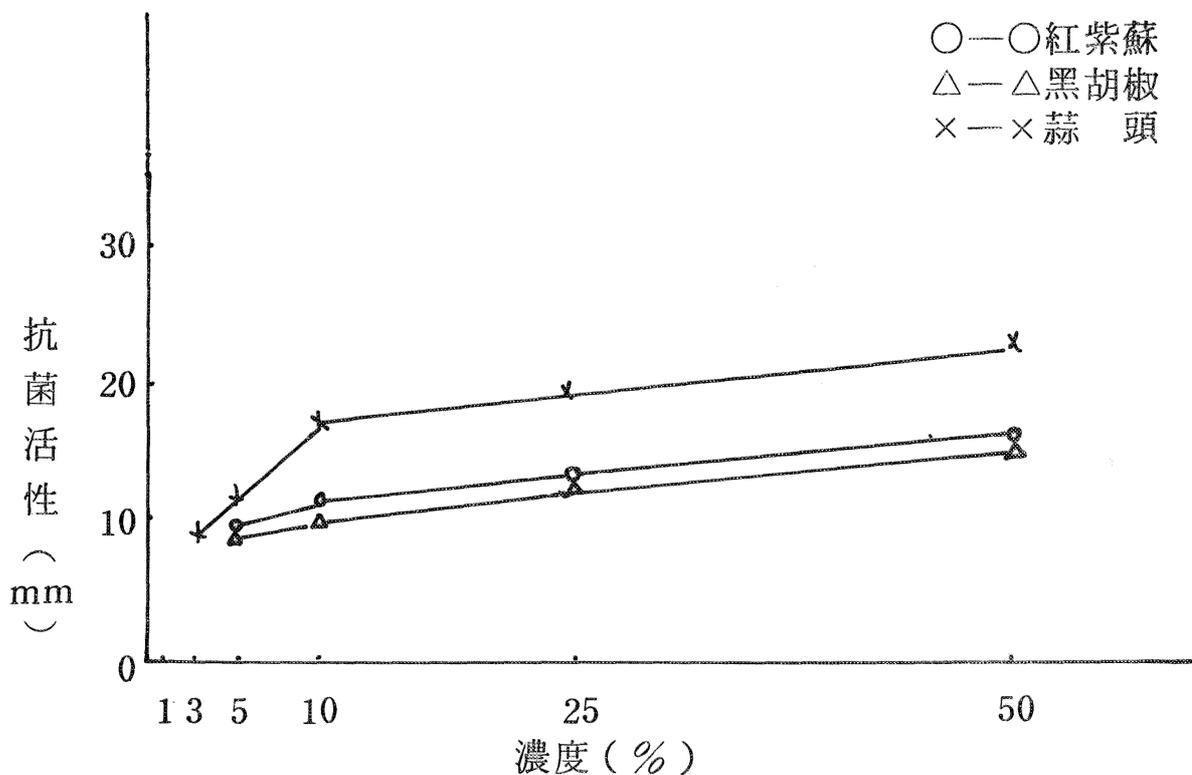
NA (Non - active), + (trace, less than 8 mm)

果；而茴香、八角、肉豆蔻、紅辣椒、生薑之抑菌作用則較弱，其抑菌範疇亦較為窄小。

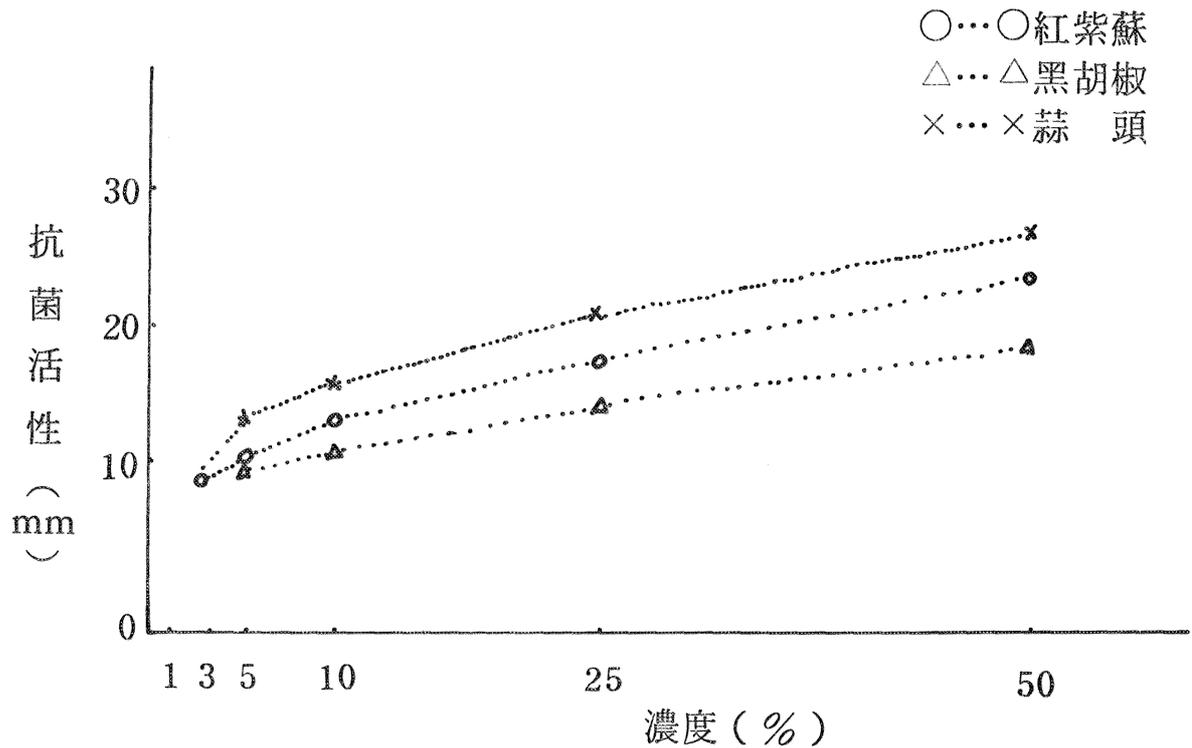
由(一)之比較結果，得知紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭之抑菌作用較強，且抑菌範疇較廣，爰以此三種香辛料之餾出液作以下之實驗，檢討其防腐效力之安定性。

(二)香辛料餾出液之最低抑菌有效濃度 (MIC, minimum inhibitory concentration) :

將紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭三種香辛料餾出液，以蒸餾水調整為50%、25%、10%、5%、3%、1%之濃度，進行檢討其對 *Escherichia coli* 及 *Aspergillus niger* 生長之抑制情形，以求其最低之抑菌有效濃度 (MIG)，如圖一、圖二所示，此三種香辛料餾出液之抗菌活性隨著濃度之遞減而降低。紅紫蘇餾出液對 *E. coli* 及 *A. niger* 之MIG為5%與3%；黑胡椒餾出液對 *E. coli* 及 *A. niger* 之MIC均為5%；而蒜頭餾出液對 *E. coli* 及 *A. niger* 之MIC為3%。



圖一 不同濃度之紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭餾出液對 *E. coli* 的抗菌活性



圖二 不同濃度之紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭餾出液對 *A. niger* 的抗菌活性

(三) 香辛料餾出液之抗菌活性與 PH 值的關係：

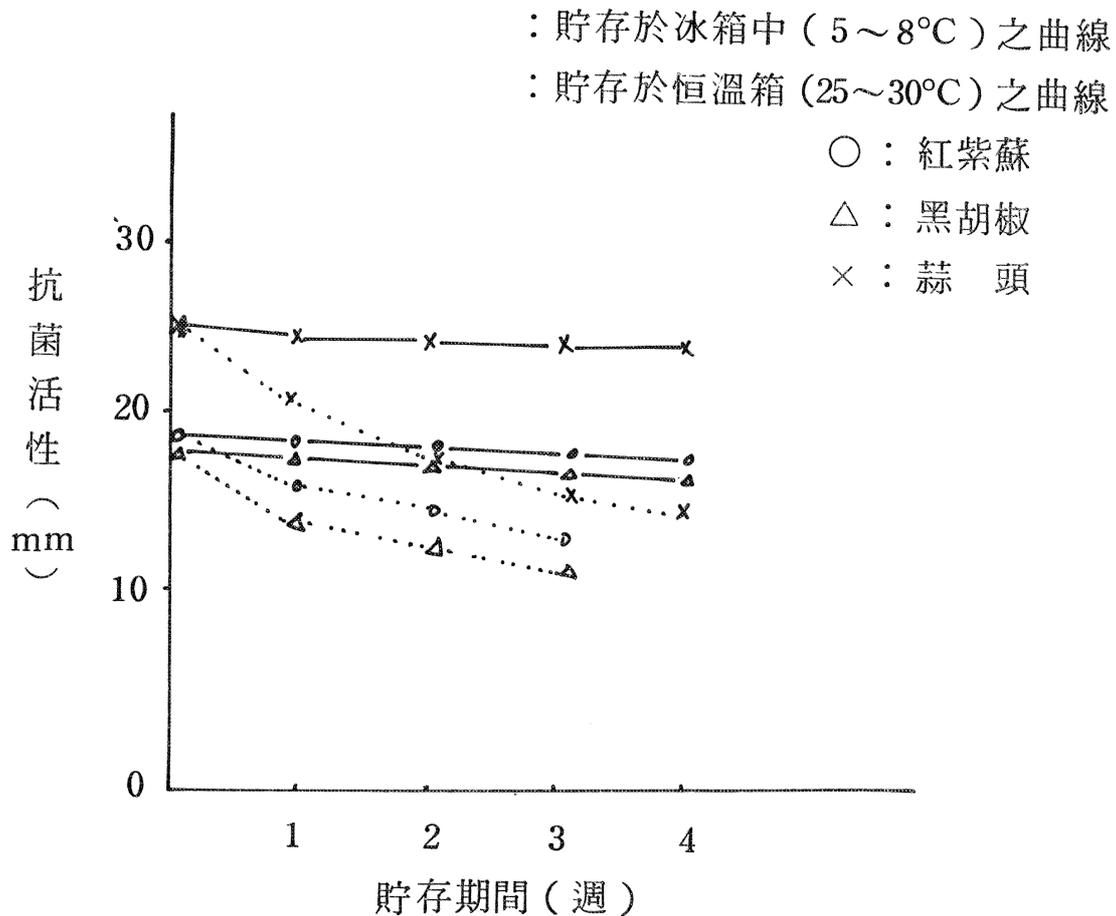
各以 10 ml 之紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭之餾出液分注入於試管中，並加入 mcllavin buffer solution，各別調整 PH 值為 4.0、5.0、6.0、7.0 與 8.0，再和原餾出液（紅紫蘇 PH = 5.8、黑胡椒 PH = 7.6、蒜頭 PH = 6.2）靜置於 25°C ~ 30°C 恒溫箱中，翌日測定其對 *E. coli*、*A. niger* 及 *Candida mycoderma* 的抗菌活性，其結果如表 II 所示，可知紅紫蘇與蒜頭之餾出液在酸性條件下之抗菌活性均比在鹼性條件下為強，但比原餾出液為弱；而黑胡椒餾出液之抗菌活性在鹼性條件下比酸性條件下較強。

表 II 香辛料餾出液之抗菌活性與 PH 值之關係

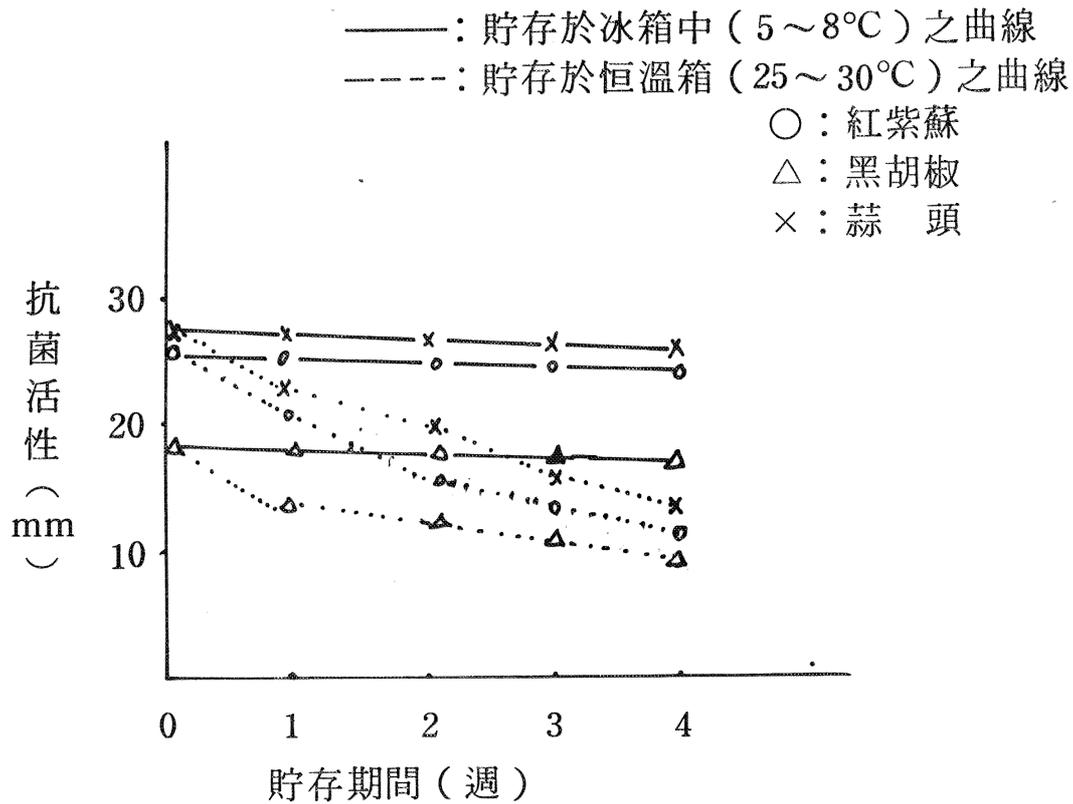
被 檢 菌	抗 菌 活 性 (m m)																	
	紅 紫 蘇					黑 胡 椒					蒜 頭							
	原餾出液	PH					原餾出液	PH					原餾出液	PH				
		4.0	5.0	6.0	7.0	8.0		4.0	5.0	6.0	7.0	8.0		4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
<i>Escherichia coli</i>	18	15	17	18	16	14	17	15	15	16	17	19	25	23	24	25	24	19
<i>Aspergillus niger</i>	25	23	24	25	22	21	18	17	17	17	18	20	27	24	26	27	25	23
<i>Candida mycoderma</i>	27	25	26	27	24	22	24	23	23	23	24	25	33	31	32	33	32	29

四) 貯存期間及溫度對香辛料餾出液抗菌活性之影響：

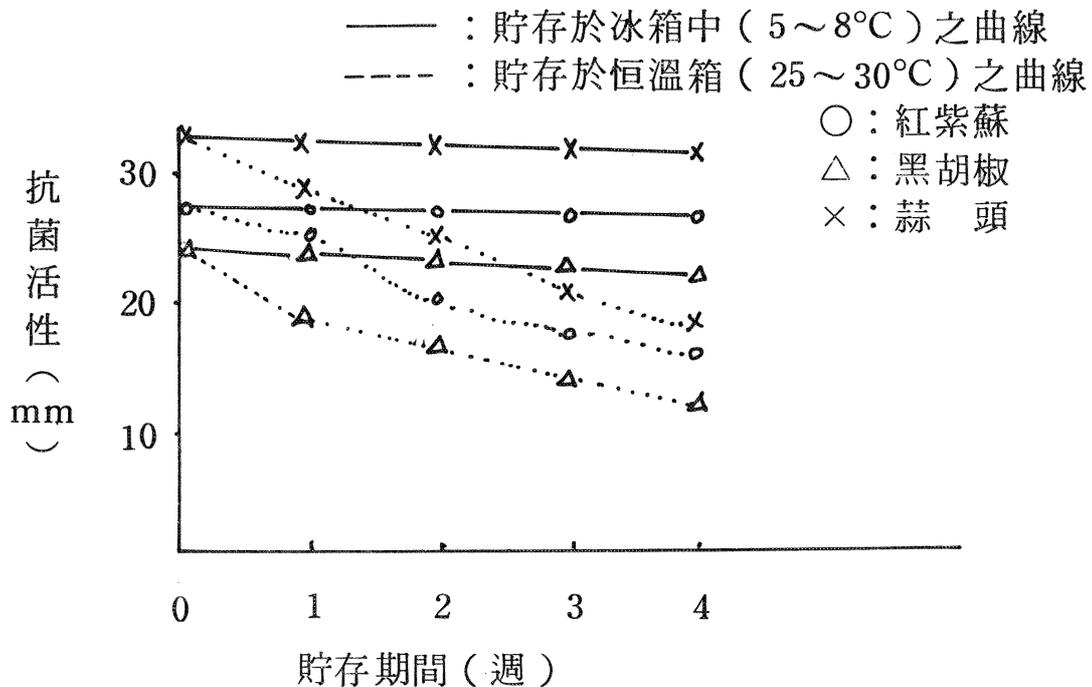
1. 以紅紫蘇、黑胡椒與蒜頭之餾出液各 10 ml 分注入於 A₁、A₂、B₁、B₂、C₁、C₂ 六支試管中，塞以棉栓，以硫酸紙包紮棉栓，再將 A₁、B₁、C₁ 三支試管置於冰箱中 (5~8°C)；A₂、B₂、C₂ 三支試管置於恒溫箱內 (25~30°C)，靜置一個月，每週各別取出測定其對 *E. coli*、*A. niger* 及 *Candida mycoderma* 之抗菌活性，所得結果如圖三、四、五，這些香辛料餾出液置於冰箱及恒溫箱中，其抗菌活性皆隨著貯存期間之增長而漸減，但貯存在冰箱中其抗菌活性較安定。紅紫蘇及黑胡椒餾出液在第四週對 *E. coli* 之抗菌活性不明顯。



圖三 不同貯存條件之香辛料餾出液對 *E. coli* 抗菌活性之比較

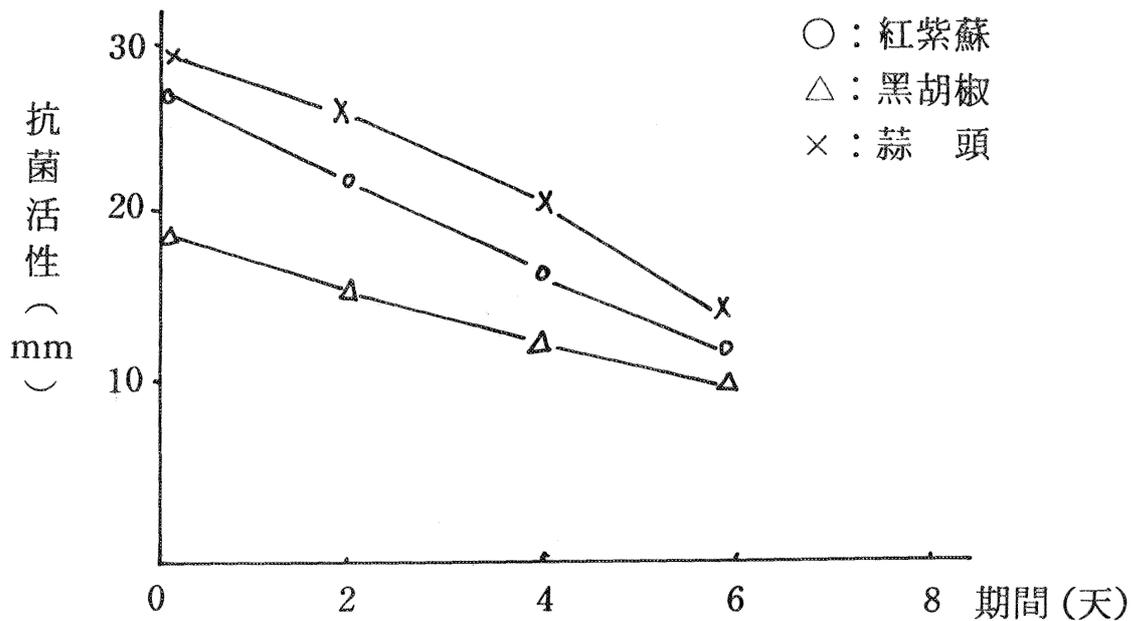


圖四 不同貯存條件之香辛料餾出液對 *A.niger* 抗菌活性之比較



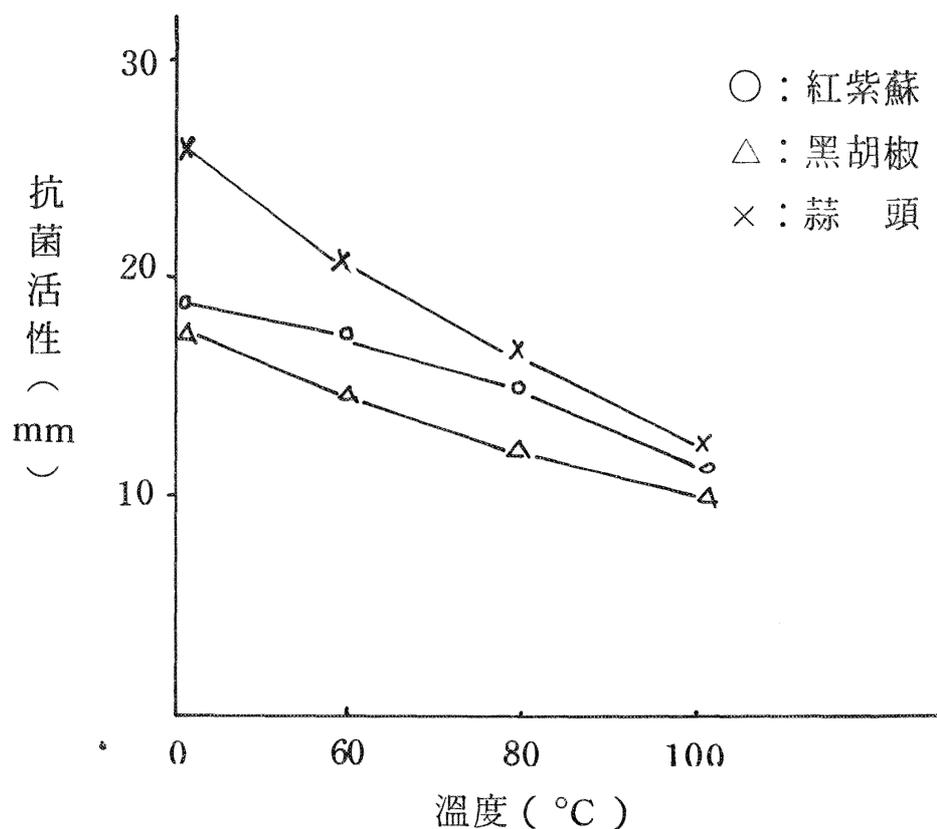
圖五 不同貯存條件之香辛料餾出液對 *Candida mycoderma* 抗菌活性之比較

2. 將紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭之餾出液各 10 ml 分注入三支試管中，試管口不塞棉栓，暴露於空氣中，放置一週，隔二天取出測定其對 *A. niger* 之抗菌活性，如圖六所示，上述香辛料餾出液，由於其之揮發性及氧化作用，香辛成分漸減，一週後，對 *A. niger* 之抗菌活性不明顯。



圖六 暴露於空氣中之香辛料餾出液對 *A. niger* 之抗菌活性

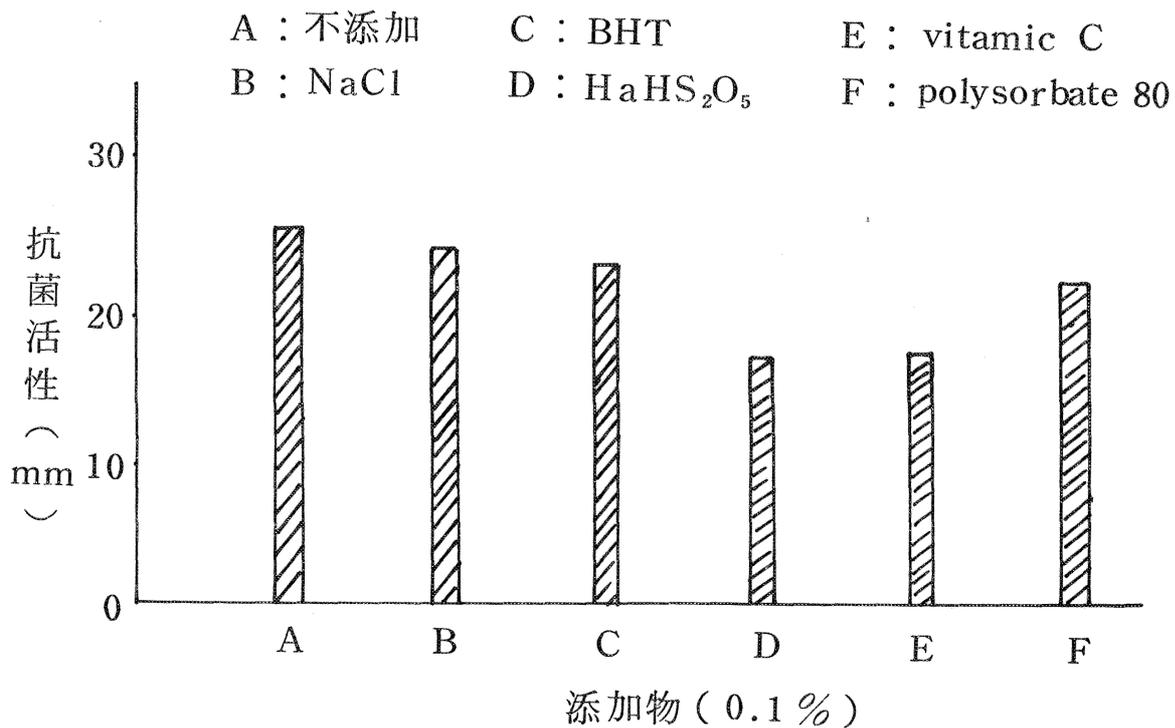
3. 另以三支試管，各盛裝 10 ml 之紅紫蘇、黑胡椒、蒜頭之餾出液，試管口塞以棉栓，並紮以硫酸紙，在水浴上各以 60°C、80°C 及 100°C 處理 10 分鐘，再分別測定其對 *E. coli* 之抗菌活性，其結果如圖七，顯示上述三種香辛料餾出液對於不同溫度處理後，其抗菌活性有減低的傾向，在 100°C 處理 10 分鐘，仍有抗菌作用。



圖七 不同溫度處理之香辛料餾出液對 *E. coli* 抗菌活性之影響

(五) 添加物對於香辛料餾出液防腐作用之安定性：

一般香辛料食品中，如醃製品、辣醬油、合利他命 (polytamin) 等，摻有食鹽、抗氧化劑 (antioxidant)、酸性亞硫酸鹽 (bisulphite)、vitamin C 及乳化劑等，這些成分會不會影響香辛料之防腐性，實有檢討之必要，爰取 A、B、C、D、E、F 六支試管，分別裝入 10 ml 之蒜頭餾出液，另於 B、C、D、E 試管中各加入 0.1% NaCl、BHT (butyl-hydroxy toluene)、 NaHS_2O_5 、vitamic C 及 polysorbate 80 非離子性乳化劑，於室溫中 (20 ~ 25°C)，靜置 24 小時，再測其對 *Escherichia coli* 之抗菌活性，如圖八之結果所示，食鹽、抗氧化劑及乳化劑對蒜頭餾出液之抗菌活性無顯著之影響；而 NaHS_2O_5 與 vitamic C 對蒜頭餾出液之抗菌活性有降低之現象。



圖八 添加物與蒜頭餾出液對E. coli 抗菌活性之影響

四、結語：

利用香辛料的目的，可分為：(1)消除食品中不良氣味，進而促進食慾與消化，(2)具有不同的藥效成份，可使身體生理作用旺盛，亦有防腐殺菌作用，可殺滅消化器官內之細菌，並預防食物腐敗，使具有較長久之保存性。本實驗比較了數種日常使用之香辛料對於微生物生長之抑制力，並檢討其在不同條件下之抗菌效力，若以香辛料當做防腐劑使用，相信總比其他之化學防腐劑（Chemical preservatives）或是抗生素（Antibiotics）要來得安全些。

參考文獻：

1. 食品科學文摘第六卷第六期 57（1978）。
2. 台灣農家要覽（上）1155～1172（1980）。
3. 化工技術第三卷第四期 53～54（1978）。
4. 魏品壽，張曙明，正中書局，農業微生物實驗法 60～90（1973）。
5. 詹文鋒，省立佳冬高農，對一羥基苯甲酸酯類防腐效力之檢討 3～

- 4 (1981) 。
6. Gucklhorn, I.R., Mfg, Chemist and Aerosol News 39 35
1969 。
 7. Patel, NK., Can J, Pharm Sci 2(3) 77, 1967 。
 8. Wedderburn, DL., J. Soc. cosm. Chem 9 210 1958 。
 9. Vanderzant C. and R, Nickelson, survival of virio parahae-
molyticus in shirmp tissue under various environmental
conditions, Applied Microbiology, 34 ~ 37 (1972) 。
 10. Cavallito C.J. and J.H. Bailey, Allicin, the antibacterial
principle of Allium Sativum, I, Isolation, physical properties
and antibacterial action, 66, 1950 ~ 1951 (1948) 。

評語： 1.應用香辛科防腐性由來已久，現用科學方法解釋頗為可取。
2.實驗設計及思考程序甚為週全。