

作品名稱：葵花寶典--山葵抑菌傳說

摘要

日本料理中常見生魚片搭配山葵一同食用，到底是什麼道理，純粹是因為味道夠嗆而已嗎？根據地方耆老的說法山葵具有殺菌效果，因此在生活的料理中經常拿來當作佐料，並不限於日本料理。是否誠如耆老所說有殺菌效果，就讓我們以「山葵的抑菌效果」為題，進行研究。實驗結果發現：

- 1.山葵種植需要濕冷的環境，怕多雨又不耐曬，主要是日本料理使用，在嚴格的監控下對環境影響已經非常輕微了。
- 2.山葵精油對大腸桿菌、海洋弧菌確實有抑菌效果，即使精油只有很少的濃度也會有抑菌環的產生，也就是有抑菌效果，而且隨著精油濃度增加，抑菌環也就是抑菌效果越明顯。
- 3.利用 **ELISA reader** 光譜分析菌數可以發現，山葵精油能抑制大腸桿菌、海洋弧菌的生長，而且抑菌效果隨著濃度增加抑菌效果越強。
- 4.山葵精油的抑菌效果比乙醇好外，甚至比抗生素更好，可以說是天然的抗生素。
- 5.比較山葵精油對大腸桿菌及海洋弧菌的抑菌百分率比較結果，山葵精油對大腸桿菌的抑菌效果大於海洋弧菌。

壹、研究動機

上自然課時，經常聽到學生說社區家長在做料理時，經常佐以一種特殊的佐料，綠色的外觀，吃起來又嗆又辣，詢問孩子後才知道，這就是山葵，就是日本料理中經常使用的「哇沙米」(wasabi)。孩子們也不知道為什麼要佐山葵食用，於是詢問部落耆老。據耆老們說明山葵早在日據時代就開始種植，聽說食品搭配山葵食用可以有殺菌保鮮效果，所以經常使用在料理中。

為什麼日本料理的生魚片都要搭配「山葵」來使用呢？這是我們平常在吃日本料理時的疑惑？山葵的味道除了又嗆又辣吃起來很過癮外，難道山葵有什麼特殊功用呢？經由文獻搜尋發現，山葵竟然有抑制微生物、細菌的功能，學生們頓時非常想來設計一個實驗，看看山葵是否真有抑菌效果，因此促成了本次的研究主題。

貳、研究目的

- 一、與部落耆老一起拜訪山葵園，了解山葵的生長環境、應用、困境及對環境的影響
- 二、研究探討不同濃度的山葵精油對大腸桿菌(E.coli)的抑菌（抑菌環）效果
- 三、研究探討不同濃度的山葵精油對海洋弧菌的抑菌（抑菌環）效果
- 四、研究探討山葵精油抑菌測試(測菌數)效果
- 五、利用山葵精油製作山葵手工皂

參、研究設備及器材

一、器材：冷凝管、分餾裝置、加熱包、圓底燒瓶、鐵架、三叉鐵夾、樣品瓶、山葵精油、酒精燈 (95%酒精)、70%酒精、紙錠、塑膠培養盤、瓊脂 (LA、洋菜膠)、大腸桿菌菌液、海洋弧菌菌液、L 型玻棒、微量吸管、培養箱、96well、ELISA reader (酵素免疫分析測讀儀)、相機。

肆、研究過程或方法

學校本位課程與推動學習城鄉—社區永續發展實驗站計畫結合，本年度的山葵精油班中，學生在山葵手工皂的實際操作中瞭解到精油的抗菌效果，尤其由在地傳統農作物山葵萃取製作的山葵精油特別有興趣，因此，在上網搜尋山葵的抗菌效果後，決定以此議題作為本次科展的題目，看看山葵精油是否能對細菌產生抑菌效果。

一、山葵的檔案

山葵 (日語：山葵／わさび／ワサビ wasabi*)，學名 *Wasabia japonica*，是一種屬於十字花科的植物，又稱為「山崙菜」，為綠色植物，味道極其強烈。它的辛辣跟辣椒不同，辣椒的辣味刺激舌頭，而山葵的辣味卻刺激鼻竇。山葵中的「異硫氰酸鹽」能抑制微生物生長，可是山葵並不能治療食物中毒。山葵含有辛味配糖體的芥子黑，精油及維他命 C 等物質，除了具防腐、殺菌、健胃的功效，還有極強的殺菌力。(維基百科)

根據耆老的說法，以前肩膀酸痛、神經痛、風濕、跌打損傷、扭傷時，都可以取山葵汁塗患部，或用紗布浸泡汁液貼在患部，乾了以後便換新藥，一天約換三次，幾天後就可以很快復原。

本實驗著重在經過熱萃取的山葵精油是否也同樣具有抑菌效果呢，若一樣也具有抑菌效果那定能提升山葵的應用層面。

二、何謂抑菌？

抑菌 (bacteriostasis) 抑制細菌和真菌的生長繁殖的方法。常用的抑菌劑 (bacteriostat) 是一些抗生素，能可逆性抑制細菌的繁殖，但不直接殺死細菌。

本研究主要在測試萃取的山葵精油能否抑制大腸桿菌及海洋弧生長，以及抑制兩種細菌的生長效果，藉以證明山葵精油確實有抑菌效果。

三、山葵精油萃取過程

為了萃取山葵精油，首先我們將山葵曬乾，然後磨成粉末狀，藉由實驗室蒸餾來獲取高純度的山葵精油，以利後續實驗探討

萃取精油過程：

1. 購買新鮮山葵，大致沖洗乾淨，進行乾燥後磨成粉末狀。
2. 將山葵粉末及95%的酒精倒入圓底燒瓶中，再將圓底燒瓶放入加熱包，開始加熱。
3. 啟動冷凝循環裝置。
4. 加熱包一開始加熱，使沸騰的溶液水有點冒泡即可。
5. 待其冷卻打開收集器控制閥，下部的水露出，即可取出製備完成之山葵精油。

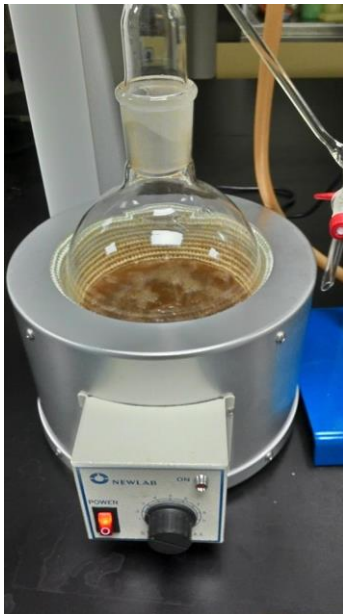
圖 1 山葵精油萃取過程過程



清洗後的新鮮山葵



將山葵乾燥後磨成粉



啟動電源開始加熱



啟動冷凝循環裝置



收集蒸餾之山葵精油



山葵精油成品

四、研究過程

研究一、與部落耆老一起拜訪山葵園，了解山葵的生長環境、應用、困境及對環境的影響

我們先上網搜尋與山葵相關資料，然後設計學習單，一同訪談部落中種植山葵的耆老，讓學生們對山葵的種植環境、生長條件、應用以及目前種植山葵所面臨的困境等，以對部落的傳統經濟作物有初步的認識。

接下來請部落耆老帶領學生進行戶外實地探索，藉由實地勘查將書面資料與現場做結合相互驗證，增加學生對傳統作物能做整體性通盤的瞭解。

最後，我們將實驗結果告知部落耆老，讓他們瞭解山葵的價值，希望能將所有種植的山葵進一步的提高應用價值。

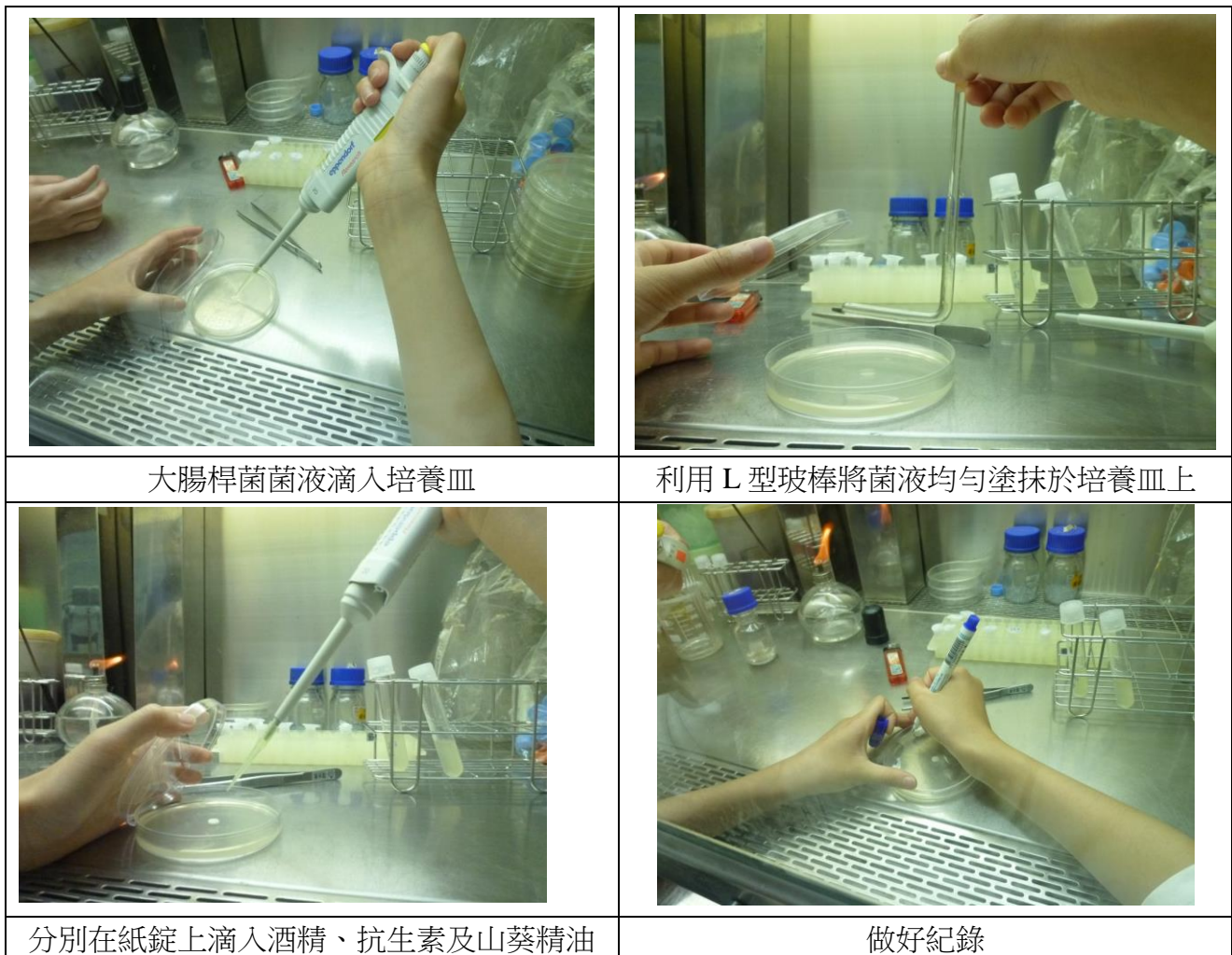
研究二、不同濃度的山葵精油對大腸桿菌(E.coli)的抑菌（抑菌環）效果

實驗過程全在無菌無塵操作台中進行，確保不會受到外來細菌的污染與干擾。

（一）實驗步驟

1. 取出大腸桿菌菌液滴入培養皿中。
2. 利用 L 型玻棒將菌液均勻塗抹於培養皿上。
3. 放入紙錠，分別在紙錠上滴入酒精、抗生素及山葵精油，檢驗抗菌效果。
4. 放入培養箱一天。
5. 取出拍照做成紀錄。

圖 2 山葵精油對大腸桿菌的抑菌效果實驗操作流程



研究三、探討不同濃度的山葵精油對海洋弧菌的抑菌（抑菌環）效果

為什麼山葵要搭配生魚片一起吃呢？研究團隊對山葵對一般海鮮中常含有的海洋弧菌是否也有抑菌效果非常好奇，因此進行了第二個研究探討，探討山葵精油對海洋弧菌的抑菌效果如何，是否也跟大腸桿菌一樣呢？

（一）實驗步驟：

1. 取出海洋弧菌菌液滴入培養皿中。
2. 利用 L 型玻棒將海洋弧菌菌液均勻塗抹於培養皿上。
3. 放入紙錠，分別在紙錠上滴入酒精、抗生素及山葵精油，檢驗抗菌效果。
4. 放入培養箱一天。
5. 拍照記錄。

研究四、研究探討山葵精油抑菌測試(測菌數)效果

研究一、研究二主要探討精油是否會產生抑菌效果，而抑菌的效果又是如何？是否有量化指標可以依循，因此我們就進行另一個實驗，利用 **ELISA reader** 讀取菌液吸光值轉換成細菌的抑菌效果。

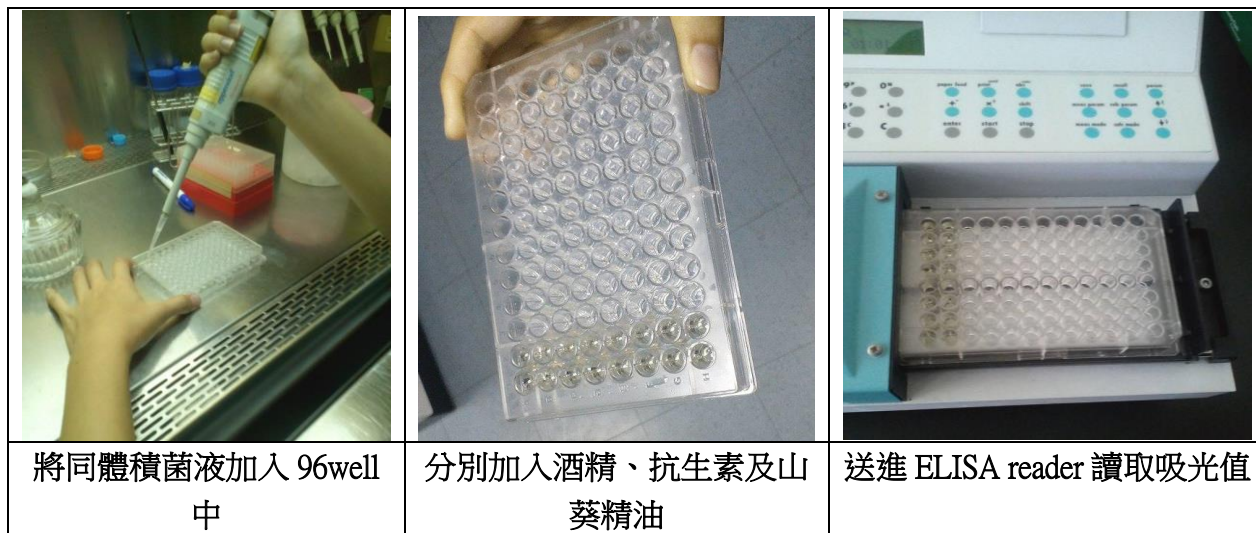
（一）實驗步驟：

1. 將同樣體積 4 個樣本的菌液分別加入 96well 中。
2. 分別加入酒精、抗生素及山葵精油，檢驗抑菌效果。
3. 放入培養箱一天。
4. 24 小時過後，利用 ELISA reader 讀取每一個樣本的吸光值，然後算出 OD 吸光值的平均 OD 吸光值。
5. 將平均 OD 吸光值換算成菌數，即可得知菌數是否有減少。

【OD 吸光值換算菌數公式】

$$OD_{600} \text{ of } 1.0 = 8 \times 10^8 \text{ cells/ml}$$

圖 3 利用 ELISA reader 讀取吸光值測試細菌數操作流程



研究五、製作山葵精油手工香皂

蒸餾萃取的山葵精油，精油前面三個研究得知其抑菌效果極佳，因此為讓山葵精油能有進一步的生活應用，我們將山葵精油加入手工皂中，以做成具有抑菌效果的手工皂，擴增山葵精油的應用層面，也為山葵找出一條高價值應用途徑。強鹼、水、油的比例為 1：2：6。

操作步驟如下：

1. 融化強鹼：將氫氧化鈉加入水中(一定是把鹼加入水)，鹼要慢慢地倒入。(此為放熱反應，小心燙!)
2. 皂化反應：將放涼的鹼液緩緩倒入油脂當中，最好一邊慢慢攪拌油脂一邊倒入鹼液同時滴入所需山葵精油，當混和液體呈現乳白狀時即為皂液。
3. 塑形：將皂液倒入模型。
4. 脫模：隔日取出肥皂(小心地拿出，此時肥皂還很軟)。
5. 等待：等待30~45天後皂化結束就完成了!!

◇ 注意事項：

1. 實驗過程必須戴上口罩及手套。
2. 實驗教室必須窗戶打開，保持空氣流通。
3. 混合液攪拌時，會產生高溫，應特別注意安全。
4. 若不慎被混合液噴濺至皮膚，應立即用大量清水充洗乾淨。

圖 4 製作山葵精油手工香皂操作流程

	
將氫氧化鈉加入水中融化	將鹼液倒入油脂當中攪拌，加入山葵精油
	
混和液體呈現乳白狀時即為皂液	塑模後取出肥皂，再等 45 天皂化過程

伍、研究結果

一、與部落耆老一起拜訪山葵園，了解山葵的生長環境、應用、困境及對環境的影響

1. 種植山葵需要的氣候：溫度需要越冷越好的生長環境，這樣山葵的根才能長得出來，也才能有嗆辣感覺。陰影潮濕的地方，不過一天也需要大概三小時左右的日照，日照時間太長，因此需要在又冷又潮濕的樹林之下。
2. 種植山葵需要的地形：沒有限制，只要溫度能配合就可以了。不過，山葵非常怕潮濕，所以夏天或雨量多時很容易讓根爛掉。
3. 種植山葵需要的季節：山葵不怕冷，種植到採收需要兩年的時間，一般來說春天是產季，因為夏天容易因為雨量太大而爛掉。
4. 種植山葵的面積：現在山葵大都種植在阿里山區林地下方，大多是早期向林管處承租的，現在都不再開放新的種植農地，林務局定期檢察會將沒有種植的地方收回，所以種植的面積將會愈來愈少。
5. 山葵的用途：主要是拿來做日本料理使用，還有提供給工廠製作山葵加工製品-條狀山葵或罐裝山葵。
6. 種植山葵對生態環境影響：只會用到除草劑，施肥都以有機肥為主。將近五十年前開始種山葵開始，水土保持一直是努力的重點，若會造成破壞也是得不償失，還有林務局會

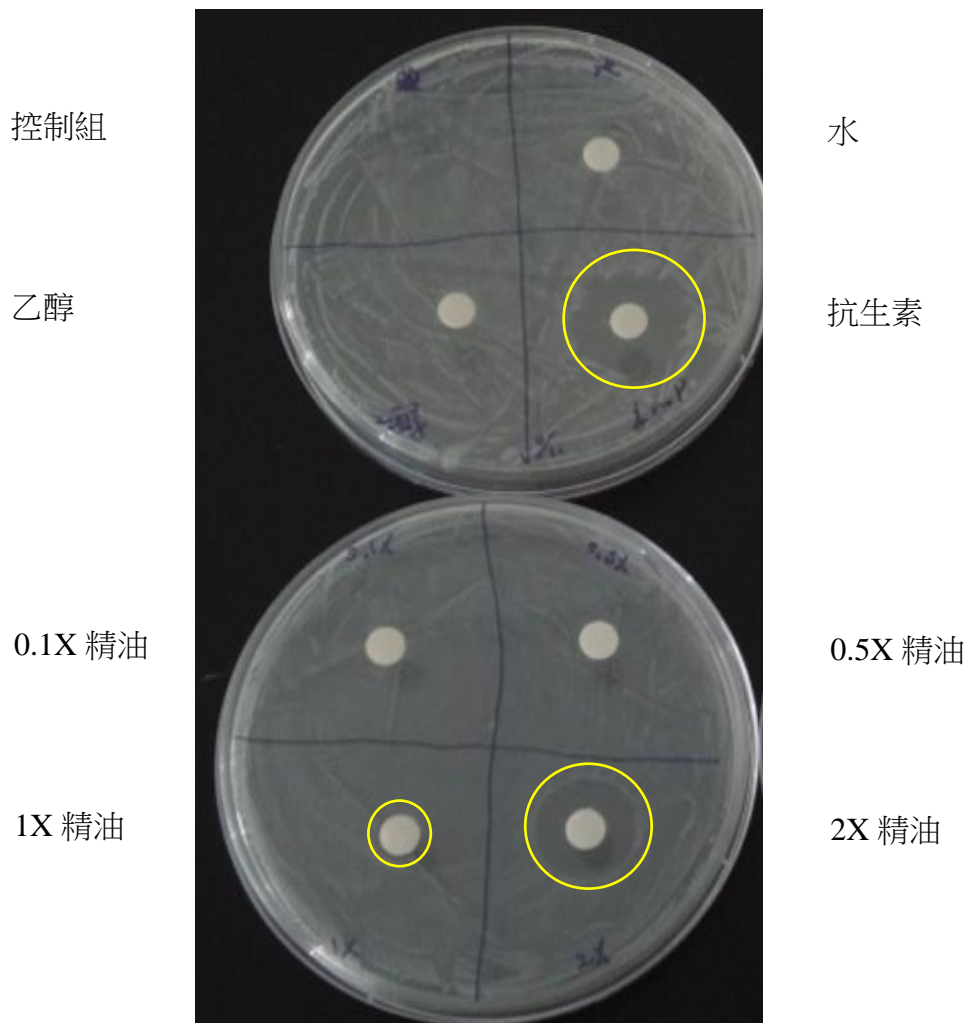
每月抽查怎麼敢呢！

7. 種植山葵的困境：山葵的種植大多在森林下方的空地，要到農地這一段路的交通不便，車輛器材不易進入，常常需要人力幫忙，農忙時非常辛苦；還有，山葵田地處偏遠，如果沒有常常巡邏，經常有被盜採的事情。

二、研究探討不同濃度的山葵精油對大腸桿菌(E.coli)的抑菌（抑菌環）效果

在培養皿中由左至右，又上到下依序為控制組、紙錠中加入水、乙醇及抗生素，先看各種溶液對大腸桿菌的反應，然後再做不同濃度的精油對大腸桿菌的影響實驗，黃色圓形圖表示產生抑菌環的範圍，各項研究結果如下，黃色圓圈表示抑菌環大小：

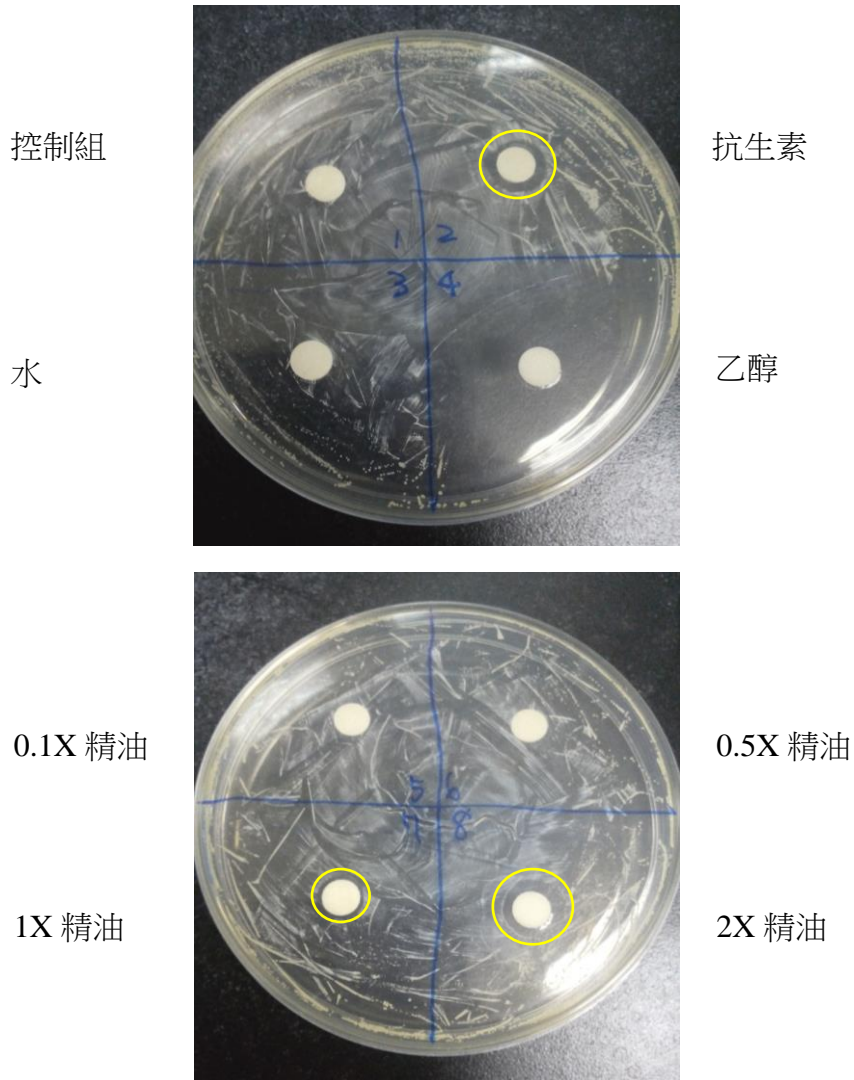
圖 5 山葵精油對大腸桿菌(E.coli)的抑菌（抑菌環）效果



三、研究探討不同濃度的山葵精油對海洋弧菌的抑菌（抑菌環）效果

在培養皿中由左至右，又上到下依序為控制組、紙錠中加入乙醇、水及抗生素，先看各種溶液對海洋弧菌的反應，然後再做不同濃度的精油對海洋弧菌的影響實驗，黃色圓形圖表示產生抑菌環的範圍，各項研究結果如下，黃色圓圈表示抑菌環大小：

圖 6 山葵精油對海洋弧菌的抑菌（抑菌環）效果



四、研究探討山葵精油抑菌測試(測菌數)效果

先將 ELISA reader 將加入不同物質及精油濃度的菌液判獨出來的測光值計算期平均值，然後帶入公式轉換為估計的細菌數量，然後製作成圖表，判斷比較不同物質及精油濃度對細菌抑菌效果，其結果如下：

表 1 加入不同物質及濃度的精油大腸桿菌平均 OD 值及菌數估計值

	大腸桿菌	菌+水	菌+乙醇	菌+Amp	菌+0.1x精油	菌+0.5x精油	菌+1x精油	菌+2x精油
OD值	0.52475	0.549	0.367	0.2565	0.40625	0.427	0.293	0.2205
菌數	4198000000	4392000000	2936000000	2052000000	3250000000	3416000000	2344000000	1764000000

圖 6 加入不同物質及濃度的精油大腸桿菌平均 OD 值及菌數估計值複合折線圖



表 2 加入不同物質及濃度的精油海洋桿菌平均 OD 值及菌數估計值

	海洋弧菌	菌+水	菌+乙醇	菌+Amp	菌+0.1x精油	菌+0.5x精油	菌+1x精油	菌+2x精油
OD值	0.7215	0.6645	0.58525	0.38	0.65525	0.502	0.57225	0.33025
菌數	5772000000	5316000000	4682000000	3040000000	5242000000	4016000000	4578000000	2642000000

圖 7 加入不同物質及濃度的精油大腸桿菌平均 OD 值及菌數估計值複合折線圖

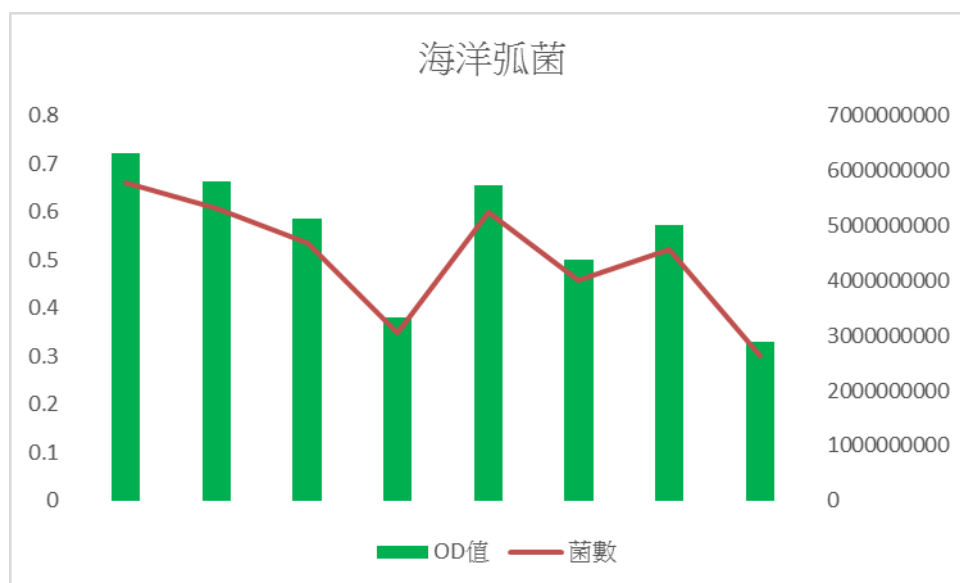


表 3 加入不同物質及濃度的精油大腸桿菌及海洋桿菌平均 OD 值比較

	單純菌液	菌+水	菌+乙醇	菌+Amp	菌+0.1x精油	菌+0.5x精油	菌+1x精油	菌+2x精油
桿菌OD值	0.52475	0.549	0.367	0.2565	0.40625	0.427	0.293	0.2205
弧菌OD值	0.7215	0.6645	0.58525	0.38	0.65525	0.502	0.57225	0.33025

圖 8 加入不同物質及濃度的精油大腸桿菌及海洋桿菌平均 OD 值比較

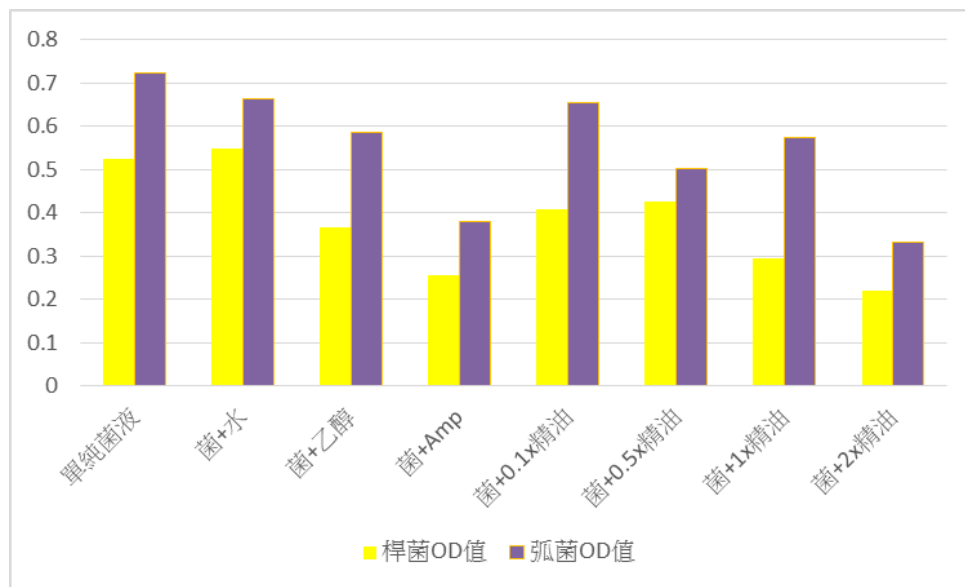


表 4 加入不同物質及濃度的精油大腸桿菌及海洋桿菌平均 OD 值比較

	單純菌液	菌+水	菌+乙醇	菌+Amp	菌+0.1x精油	菌+0.5x精油	菌+1x精油	菌+2x精油
桿菌預估值	4198000000	4392000000	2936000000	2052000000	3250000000	3416000000	2344000000	1764000000
弧菌預估值	5772000000	5316000000	4682000000	3040000000	5242000000	4016000000	4578000000	2642000000

圖 9 加入不同物質及濃度的精油大腸桿菌及海洋桿菌細菌預估值比較

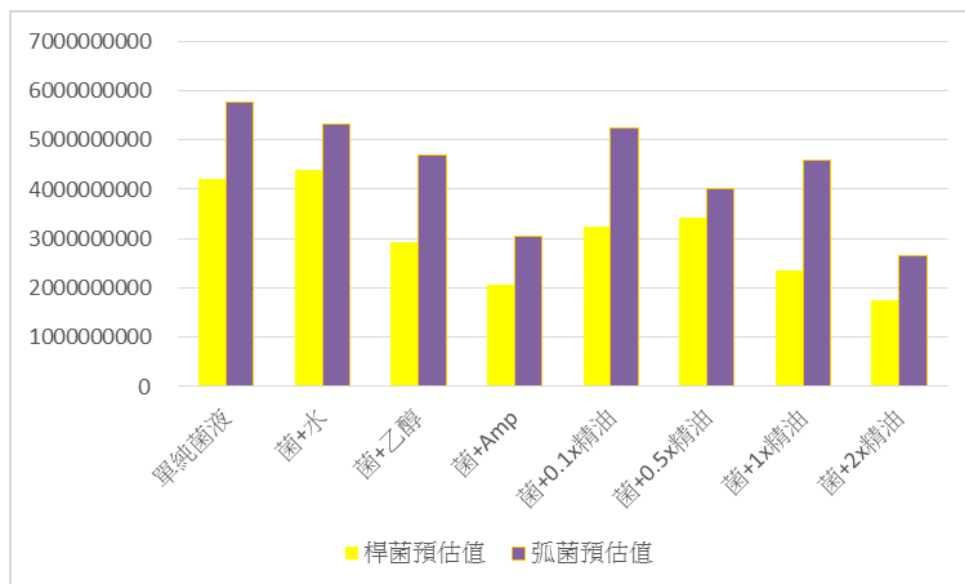
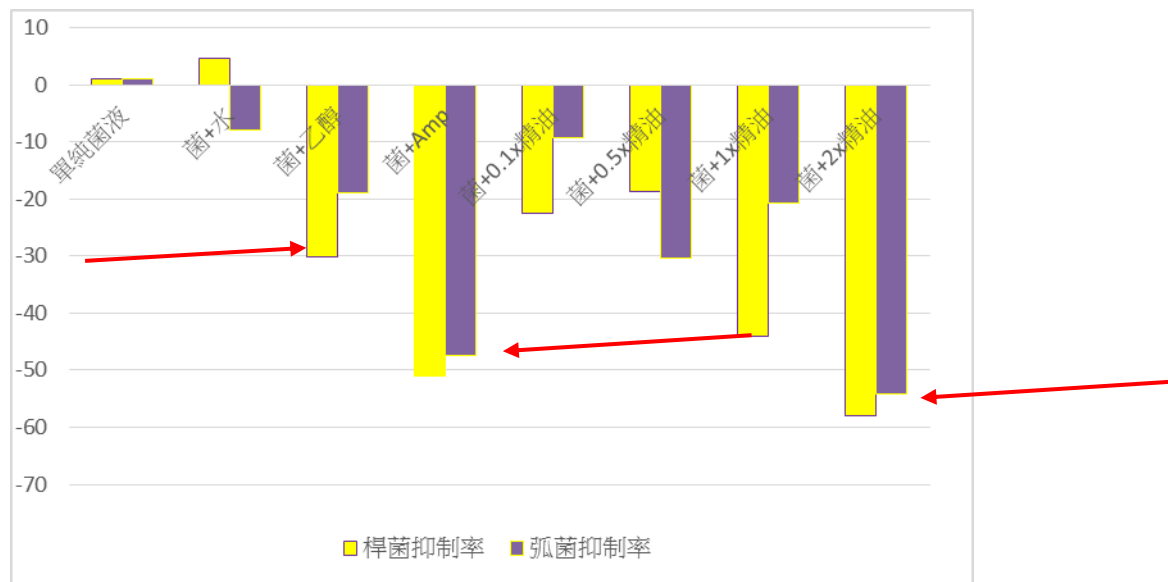


表 5 加入不同物質及不同濃度精油對大腸桿菌及海洋桿菌抑菌百分率比較

	單純菌液	菌+水	菌+乙醇	菌+Amp	菌+0.1x精油	菌+0.5x精油	菌+1x精油	菌+2x精油
桿菌預估值	1	4.62124821	-30.061934	-51.1195808	-22.582182	-18.6279181	-44.1638876	-57.9799905
弧菌預估值	1	-7.9002079	-18.884269	-47.3319473	-9.18225918	-30.4227304	-20.6860707	-54.2273042

圖 10 加入不同物質及不同濃度精油對大腸桿菌及海洋桿菌抑菌百分率比較折線圖



研究四、製作山葵精油手工香皂

本研究的目的是在於讓學生學習到如何製作手工肥皂的方法，並經由操作過程學習到實驗安全，並將山葵精油加入手工皂中完成具有抑菌效果的肥皂。

陸、討論

一、與部落耆老一起拜訪山葵園，了解山葵的生長環境、應用、困境及對環境的影響

- 1.山葵需要又冷又潮濕的環境，不怕冷可是怕雨量多的夏季，而且每天日曬不能超過 3 小時。
- 2.山葵需要兩年種植時間，產季大多集中在春季。
- 3.山葵多數用在日本料理，部分會做成山葵醬。
- 4.山葵田地處交通不便的林地，又常有盜採的發生，需大量人力支援，較令人困擾。
- 5.林務局的監督之下，對環境的影響已盡量降到最低了。

二、研究探討不同濃度的山葵精油對大腸桿菌(E.coli)的抑菌（抑菌環）效果

1. 山葵精油對大腸桿菌有抑制效果。
2. 山葵精油濃度越濃，抑菌環越明顯，顯現抑菌效果愈強。

3. 2X 濃度的山葵精油產生的抑菌環的大小跟抗生素所產生的抑菌環效果相當，可見山葵精油的抑菌效果與抗生素相當。
4. 酒精雖然有抑菌效果，但酒精揮發完後，抑菌效果就消失了，因此並沒有產生抑菌環。

三、研究探討不同濃度的山葵精油對海洋弧菌的抑菌（抑菌環）效果

1. 山葵精油對海洋弧菌有抑制效果。
2. 山葵精油濃度越濃，抑菌環越明顯，顯現抑菌效果愈強。
3. 2X 濃度的山葵精油產生的抑菌環的大小跟抗生素所產生的抑菌環效果相當，可見山葵精油的抑菌效果與抗生素相當。
4. 跟研究一一樣，酒精雖然有抑菌效果，可是酒精揮發完後，抑菌效果就消失了，因此並沒有產生抑菌環。

四、研究探討山葵精油抑菌測試(測菌數)效果

1. 大腸桿菌中加入精油濃度只要 0.1X 就能產生抑制生長的效果，如果濃度增加其抑菌效果會更好，如同研究一抑菌環所產生的效果一項，當精油濃度達到 2.0X 時，抑制細菌生長的效果就跟抗生素差不多。
2. 海洋弧菌中加入精油濃度只要 0.1X 就能產生抑制生長的效果，如果濃度增加其抑菌效果會更好，如同研究二抑菌環所產生的效果一項，當精油濃度達到 2.0X 時，抑制細菌生長的效果就跟抗生素差不多。
3. 比較菌數抑制百分比可以發現，乙醇、抗生素及山葵精油對大腸桿菌的抑制效果大於海洋弧菌。
4. 不同濃度的山葵精油對大腸桿菌的抑制效果也都大於海洋弧菌，只有 1X 濃度的樣本產生較為不同的差異-海洋弧菌數的抑制效果大於大腸桿菌。而 2X 濃度的山葵精油的抑菌效果竟然還比乙醇，甚至抗生素還要好；另一比較奇特的地方是海洋弧菌加入蒸餾水後竟然菌數會增加，這是一較特別之處。
5. 本研究證明山葵精油確實能達到抑制大腸桿菌及海洋弧菌的生長，其效果等同抗生素，因此值得進一步研究。

五、製作山葵精油手工香皂要特別注意強鹼溶化的安全性，千萬要注意實驗步驟是要強鹼慢慢加入水中，以免溶解時產生的高熱；製作山葵精油手工香皂的目的在於結合手工皂的優點—純天然無添加化合物、對敏感性皮膚有良好的清潔與保護作用等優點，並將本實驗所得到的山葵抑菌效果結合，並應用在日常生活之中，讓山葵的應用層面更廣，也希望為山葵創造出除了實用外更高價值的應用。

柒、結論

- 1.山葵種植需要濕冷的環境，怕多雨又不耐曬，主要是日本料理使用，在嚴格的監控下對環境影響已經非常輕微了。
- 2.山葵精油對大腸桿菌、海洋弧菌確實有抑菌效果，即使精油只有很少的濃度也會有抑菌環的產生，也就是有抑菌效果，而且隨著精油濃度增加，抑菌環也就是抑菌效果越明顯。
- 3.利用 **ELISA reader** 光譜分析菌數可以發現，山葵精油能抑制大腸桿菌、海洋弧菌的生長，而且抑菌效果隨著濃度增加抑菌效果越強。
- 4.山葵精油的抑菌效果比乙醇好外，甚至比抗生素更好，可以說是天然的抗生素。
- 5.比較山葵精油對大腸桿菌及海洋弧菌的抑菌百分率比較結果，山葵精油對大腸桿菌的抑菌效果大於海洋弧菌。
- 6.實驗過程中另外發現，一般所知的酒精的雖然消毒殺菌效果，可是揮發後細菌依然能夠滋生，所以使用酒精消毒的效果並無法保持很久，平常更應常常提醒自己常洗手的重要性。

捌、參考資料

1. 娜娜媽 (2010)。娜娜媽教你做超滋養天然修護手工皂。新北市：木馬。
2. 國立台灣大學出版中心 (2006)。學實驗技能示範：有機化學。台北市：臺大。
3. 維基百科。山葵。2014.10.1 取自：<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%91%B1>。
4. 翰林出版事業 (2014)。國小自然與生活科技 5 上。臺北市：翰林。
5. 翰林出版事業 (2014)。國小自然與生活科技 5 下。臺北市：翰林。
6. 蘇裕昌、何振隆 (2008)。精油的化學。林業研究專訊。15-3，1-5。