
()

040707

--	--

誰害我消化不良？—澱粉酶抑制劑之研究

壹、摘要

近年來，植物所合成的澱粉酶抑制劑已被分離純化用以治療糖尿病與減肥，是種相當有用的物質。我們的實驗係利用不同植物的萃取液，來測試其所含的澱粉酶抑制劑，對不同生物之澱粉酶的影響。其中，花豆、黑豆、馬鈴薯萃取液抑制豬胰臟澱粉酶的效果最佳；菜豆、四季豆萃取液抑制蒼蠅澱粉酶的效果最佳；黑豆、皇帝豆萃取液抑制黃豆澱粉酶的效果最佳；不同萃取液抑制口水澱粉酶的效果則差不多。另外，我們針對幾種抑制效果較顯著的萃取液，進行活性測試，其中皇帝豆的澱粉酶抑制劑最耐高溫， 100°C 才會失去活性，其次是菜豆、四季豆，在 85°C 時變性，最差的是黑豆。菜豆、四季豆兩者在偏酸性環境中的抑制蒼蠅澱粉酶的效果最佳，而皇帝豆、黑豆則在中性的環境中抑制黃豆澱粉酶之效果最佳。由此可見，不同植物的澱粉酶抑制劑的活性皆會受溫度與 pH 值的影響，其成分應為蛋白質。我們更進一步將萃取液處理黃豆種子，確實可抑制黃豆種子萌發，降低其發芽率與發芽長度。本實驗證明植物之澱粉酶抑制劑可抑制多種生物的澱粉酶活性，未來可應用於生物防治、人類糖尿病治療、減肥、以及抑制種子萌發或調節植物生長等方面，可謂妙用無窮啊!!

貳、研究動機

國二的時候，我們就有做過有關於澱粉酶的實驗，我們測試了許多蔬菜、水果內所含的澱粉酶活性，得到不錯的成果。進入高中後，我們本來想針對這個主題進行更深入的研究，偶而從一些文獻中發現許多植物不僅具有澱粉酶，還具有澱粉酶抑制劑，可以抑制澱粉酶的作用。尤其是豆類，目前市面上已有從腰豆所萃取出來的“腰豆素”，因為抑制人類澱粉酶的作用很顯著，近年來已被分離純化作為藥用，用以治療糖尿病和減肥，因而引起我們想更進一步研究的興趣。

澱粉酶主要的功能是把含澱粉的食物(例如米、麵粉、麵包等)分解成葡萄糖，以便人體吸收利用。澱粉酶抑制劑則是抑制澱粉酶的作用，目前研究以 α -澱粉酶抑制劑(Alpha Amylase Inhibitor)的效果最明顯可靠。 α -澱粉抑制劑可抑制澱粉酶的作用，使食物中的澱粉不易在口腔、小腸中分解轉變成葡萄糖，進而減少葡萄糖的吸收利用，可應用在減少糖尿病的惡化及減少肥胖的發生。

1975 年，科學家馬歇爾 (J.J. Marshall) 和勞達 (C.M. Lauda) 從腰豆 (Kidney Bean) 的蛋白質當中，分離出一種物質叫「腰豆素」(Phaseolamin)，並且在實驗中發現，腰豆素可以和人體的澱粉酶 (α -Amylase) 結合，並且抑制它的活性。腰豆是一種食物中常見的豆類，台灣常吃的大紅豆、菜豆，美國人常吃的豆子濃湯，都屬於腰豆類，許多西式的濃湯也常用腰豆作為熬湯的湯底。另外，在其他的豆類，以及小麥、黑麥當中，也發現了與腰豆素類似的澱粉酶抑制劑，這些發現激起了許多人對於將澱粉酶抑制劑應用在醫療上的興趣，目前已有一些產品問世。

我們的實驗就是要測試不同植物的萃取液，對不同生物之澱粉酶活性的抑制效果，找出幾種可能有用的澱粉酶抑制劑，再測試其活性。

本實驗與高二生命科學第一章第一節、與高三生物第二章第一節、第四章第三節相關。

參、研究目的

- 一、探討不同萃取液對不同生物之澱粉酶活性的影響，找出可能有用的澱粉酶抑制劑。
- 二、探討所找到的萃取液在不同溫度處理後對澱粉酶活性的抑制效果。
- 三、探討所找到的萃取劑在不同酸鹼值中對澱粉酶活性的抑制效果。
- 四、探討所找到的萃取劑對黃豆發芽的影響。

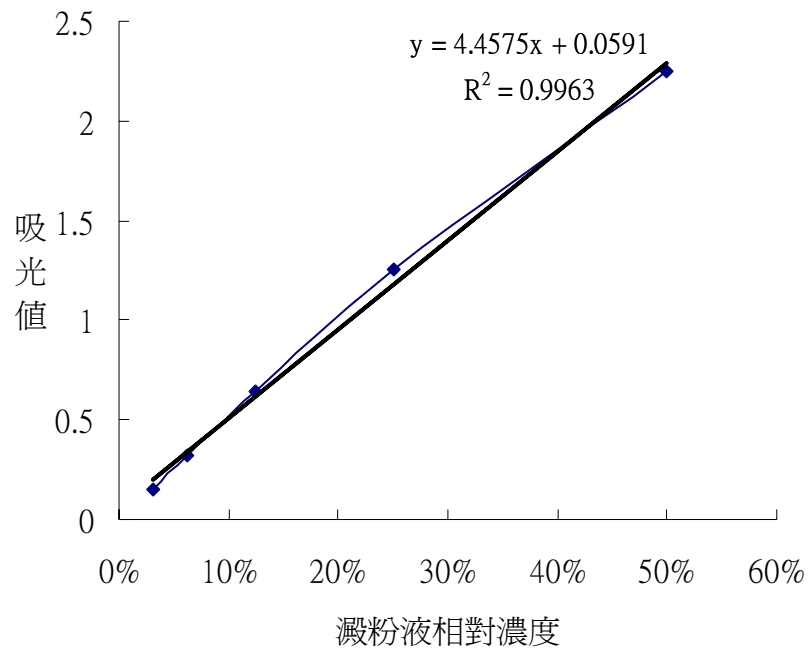
肆、研究設備及器材

- 一、實驗材料：四季豆、菜豆、黑豆、花豆、馬鈴薯、皇帝豆、黃豆、豬胰臟、蒼蠅、人類口水
- 二、實驗藥品：磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4)、磷酸二氫鈉(NaH_2PO_4)、食鹽(NaCl)、T.C.A. (trichloacetic acid)、碘(I_2)、碘化鉀(KI)、澱粉
- 三、實驗器材：高速離心機、攪拌機、攪拌子、紫外光分光儀(分光光度計)、恆溫槽、恆溫培養箱、燒杯、試管、離心管、培養皿、研鉢、滴管、微量吸管 (micropipette)、微吸管頭 (Micro Pipettor tip)、血清瓶、微量天平、秤量紙、藥匙
- 四、藥品配置：
 - (一)磷酸鹽緩衝溶液(0.02M，pH6.9)：
磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4)溶液：5.68 g 溶於 1 升水中
磷酸二氫鈉(NaH_2PO_4)溶液：4.80 g 溶於 1 升水中
兩溶液以 1：1 的比例混合。
 - (二)不同 pH 值的磷酸緩衝溶液：
將(一)所調好的磷酸氫二鈉與磷酸二氫鈉溶液依不同比例混合。
 - (三)包含 0.3M NaCl 的磷酸鹽緩衝溶液(0.02M，pH6.9)：
取已配好的磷酸鹽緩衝溶液 1 升加入 17.50g NaCl
 - (四)碘液：12.7g I_2 及 0.6g KI 溶於 200ml 水中
 - (五)澱粉液(0.04%)：0.4g 澱粉加水至 1 升

伍、研究過程或方法

- 一、澱粉濃度-吸光值的標準曲線製作：
 - (一)取配置好的澱粉液作系列稀釋成原液的 1/2、1/4、1/8、1/16、1/32
 - (二)不同濃度的澱粉液各取 2ml，分別加 0.5ml 碘液，混合均勻，測量 OD_{620}
 - (三)以 0.04%的澱粉原液視為 100%的相對濃度，繪出標準曲線。

圖一、澱粉濃度-吸光值的標準曲線



二、萃取液的製備

- (一) 秤取豆子 2g，加入包含 0.3M NaCl 的磷酸鹽緩衝溶液(0.02M，pH6.9)20ml，置於冰上研磨。
- (二) 將研磨液於 4°C，13500 rpm 離心 10 分鐘，取出上清液 10ml。
- (三) 於 10ml 上清液中加入 0.5g T.C.A.(三氯乙酸，濃度約為 5%)，使其溶解並緩慢攪拌 1 小時，會使某些蛋白質發生沉澱。
- (四) 上述溶液於 4°C，13500 rpm 離心 10 分鐘，取出上清液。
- (五) 半透膜一端用線綁緊，將上清液裝入半透膜中，另一端也綁緊，將之置入 1 升磷酸鹽緩衝溶液(0.02M，pH6.9)中進行透析，置於 4°C 冰箱隔夜。
- (六) 取出半透膜內的液體，倒入試管內，即為萃取液，置於冰上備用。

三、不同生物之澱粉酶溶液的製備

- (一) 秤取 0.1g 的豬胰臟、黃豆、蒼蠅屍體，分別加入磷酸鹽緩衝溶液(0.02M，pH6.9)10ml，置冰上研磨。
- (二) 將研磨液於 4°C，13500 rpm 離心 10 分鐘，取出上清液，即為不同生物的澱粉酶溶液，倒入試管內，置於冰上備用；口水的澱粉酶溶液則直接加入磷酸鹽緩衝溶液混合均勻，不必研磨與離心。

四、不同的萃取液對不同生物之澱粉酶活性的測試

(一)三支試管，分別置入下列溶液：

	試管 1	試管 2	試管 3
萃取液	0.5ml	-	0.5ml
澱粉酶溶液	0.5ml	0.5ml	-
磷酸鹽緩衝液(0.02M, pH6.9)	-	0.5ml	0.5ml

(二)震盪混合均勻後，於 37°C 下靜置 30 分鐘，讓萃取液中的澱粉酶抑制劑與澱粉酶進行反應。

(三)取三隻試管，各加入 3ml 澱粉液(0.04%)，分別加入上述試管內的溶液各 0.5ml，震盪混合均勻後，於 37°C 下進行反應 5~30mins(第一次作需視反應速率斟酌時間的多寡)。

(四)各取出 2ml 溶液，分別加 0.5ml 碘液，混合均勻，測量 OD₆₂₀，應用澱粉濃度-吸光值的標準曲線，將吸光值換算成澱粉濃度。

(五)每次選用一種萃取液與一種澱粉酶進行實驗，每一試管都至少三重複。

(六)選出抑制效果比較顯著的萃取液進行下列的實驗。

五、萃取液在不同溫度下對澱粉酶活性的抑制效果

(一)將萃取液分別以 60°C、75°C、85°C 與 100°C 水浴處理 1 小時。

(二)同方法四的處理，測試不同溫度處理的萃取液對澱粉酶活性之影響。

六、萃取液在不同 pH 值下對澱粉酶活性的抑制效果

(一)三支試管，分別置入下列溶液：

	試管 1	試管 2	試管 3
萃取液	0.5ml	-	0.5ml
澱粉酶溶液	0.5ml	0.5ml	-
磷酸鹽緩衝液(0.02M, pH6.9)	-	0.5ml	0.5ml
不同 pH 值的磷酸鹽緩衝液	2ml	2ml	2ml

不同 pH 值的磷酸鹽緩衝液分別為 PH5.5、PH6.0、PH6.5、PH7.0、PH7.5、PH8.0

(二)震盪混合均勻後，於 37°C 下靜置 30 分鐘，讓萃取液中的澱粉酶抑制劑在不同的 pH 值下與澱粉酶進行反應。

(三)同方法四的處理，測試萃取液在不同 pH 值下對澱粉酶活性的影響。

七、萃取液對黃豆種子發芽的影響。

(一)黃豆種子泡水 6 小時後，小心去掉種皮，以利萌發。

(二)分別於培養皿內加入 7.5ml 的水、磷酸鹽緩衝液(0.02M, pH6.9)、萃取液，分別置入 20 顆大小相等的黃豆種子。

(三)每天觀察黃豆種子的發芽情形。

陸、研究結果

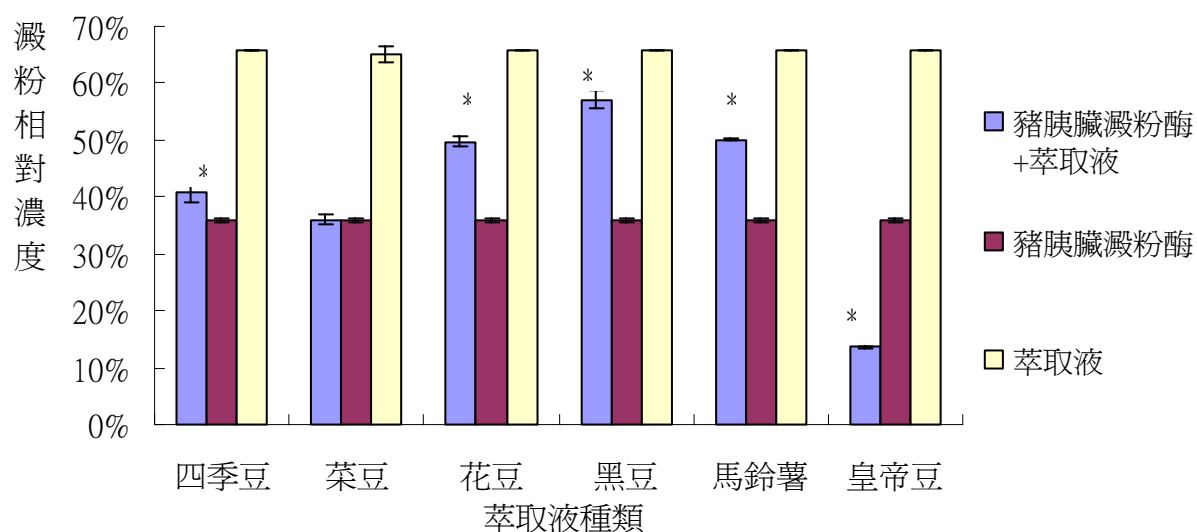
一、數據皆進行統計分析，統計結果具有顯著差異者(P<0.05)，於圖表上方標誌”*”。

二、探討不同萃取液對不同生物之澱粉酶活性的影響

(一)不同萃取液對豬胰臟澱粉酶的影響：

結果如圖二，黑豆、花豆、馬鈴薯、四季豆萃取液皆可抑制豬胰臟澱粉酶分解澱粉的效果(t-test, P<0.05)，抑制效果由高到低依序為：黑豆>花豆>馬鈴薯>四季豆。菜豆萃取液並無明顯的抑制效果(t-test, P>0.05)，而皇帝豆萃取液不僅沒有抑制作用，還能促進豬胰臟澱粉酶的分解作用(t-test, P<0.05)，值得再進一步探討。

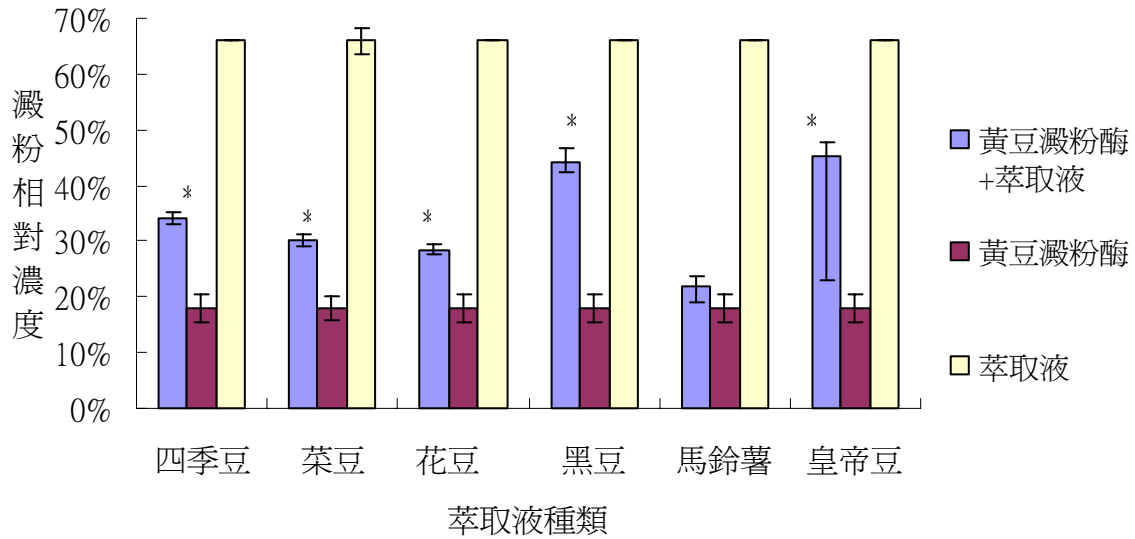
圖二、不同萃取液對豬胰臟澱粉酶分解澱粉的影響



(二)不同萃取液對黃豆澱粉酶的影響

結果如圖三，除馬鈴薯萃取液外，其餘萃取液皆可抑制黃豆澱粉酶分解澱粉的效果(t-test, P<0.05)，其中以黑豆與皇帝豆萃取液抑制黃豆澱粉酶分解澱粉的效果最顯著，抑制效果由高到低依序為：皇帝豆>黑豆>四季豆>菜豆>花豆。

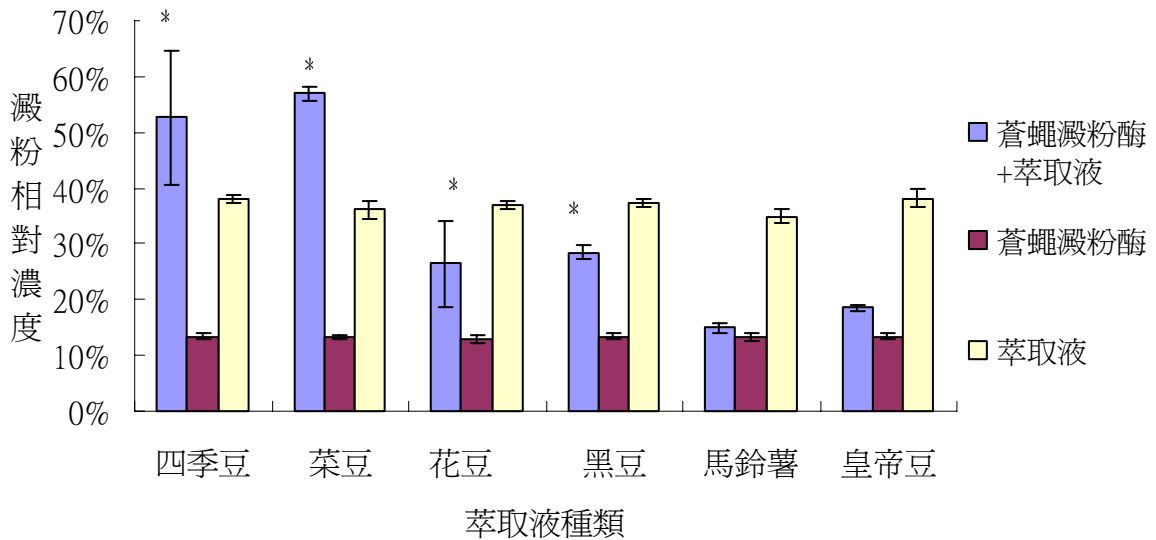
圖三、不同萃取液對黃豆澱粉酶分解澱粉的影響



(三)不同萃取液對蒼蠅澱粉酶的影響

結果如圖四，除馬鈴薯萃取液外，其餘萃取液皆可抑制蒼蠅澱粉酶分解澱粉的效果 (t-test, $P < 0.05$)，其中以四季豆與菜豆抑制蒼蠅澱粉酶分解澱粉的效果最顯著，抑制效果由高到低依序為：菜豆>四季豆>黑豆>花豆>皇帝豆。

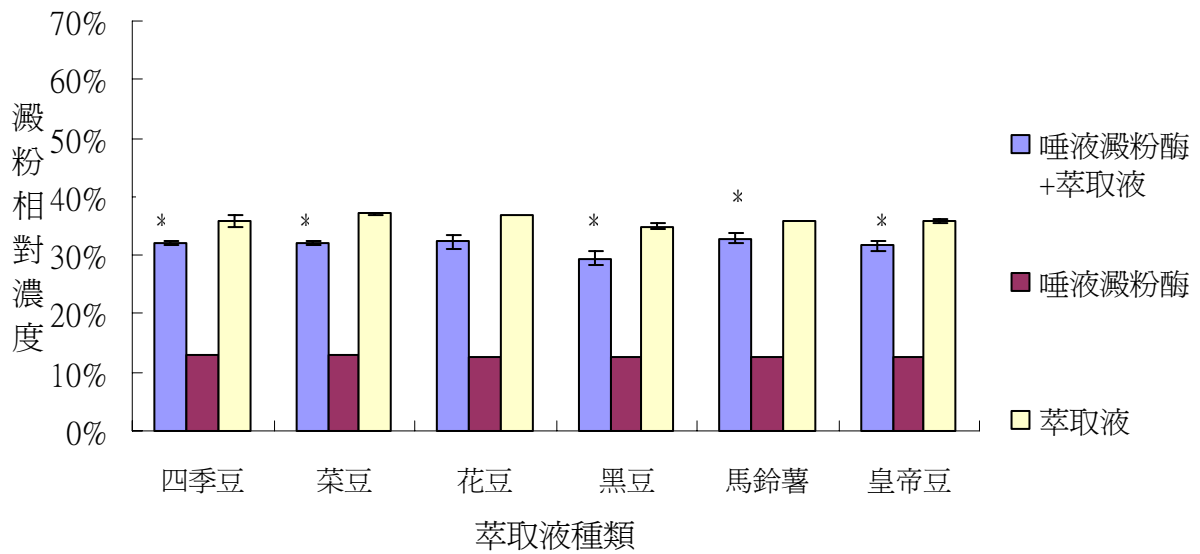
圖四、不同萃取液對蒼蠅澱粉酶分解澱粉的影響



(四)不同萃取液對人類唾液澱粉酶的影響

結果如圖五，每種萃取液皆可抑制人類唾液澱粉酶分解澱粉的效果 (t-test, $P < 0.05$)，且抑制效果差不多。

圖五、不同萃取液對唾液澱粉酶分解澱粉的影響



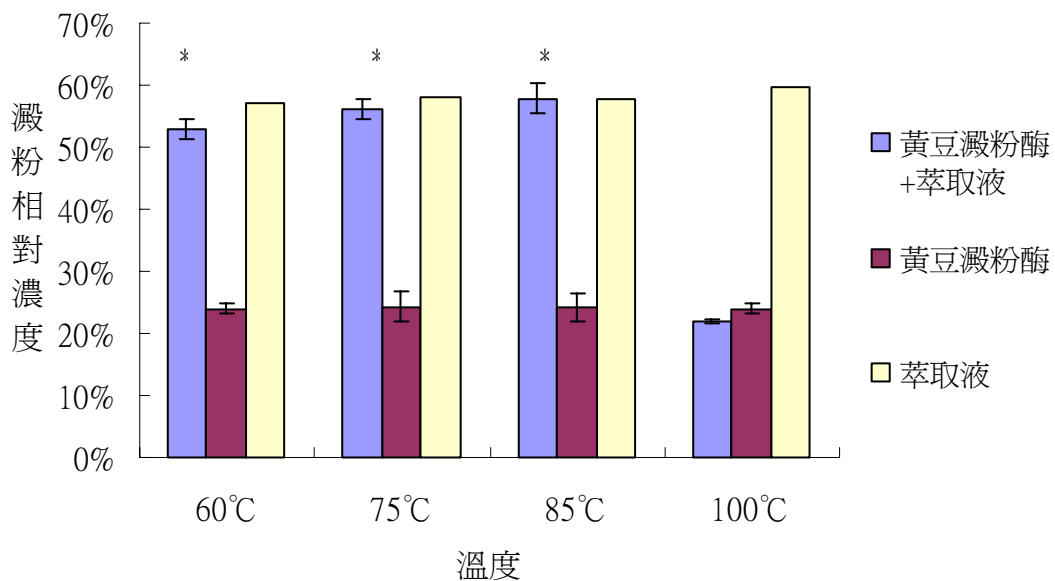
(五)由上述實驗結果發現：黑豆與皇帝豆萃取液抑制黃豆澱粉酶分解澱粉的效果最顯著，而四季豆與菜豆抑制蒼蠅澱粉酶分解澱粉的效果最顯著，所以我們將這幾種萃取液再進行溫度與 pH 值的測試。

三、探討所找到的萃取液在不同溫度處理後對澱粉酶活性的抑制效果。

(一)四季豆萃取液在不同溫度處理後對澱粉酶活性的抑制效果。

結果如圖六，以 60°C~85°C 水浴處理 1 小時後，四季豆萃取液對蒼蠅澱粉酶仍有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)，但 100°C 溫度的處理後，四季豆萃取液幾乎完全失去抑制效果，可推測四季豆萃取液中所含的澱粉酶抑制劑在超過 100°C 以上的溫度，即已變性而失去抑制的效果。

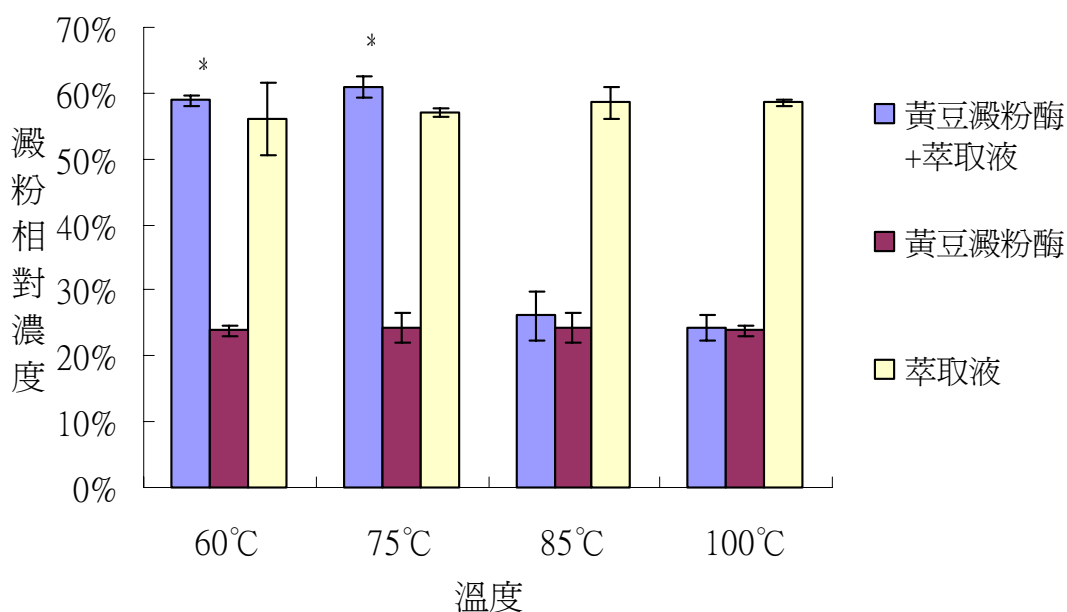
圖六、四季豆萃取液在不同溫度處理後對黃豆澱粉酶的抑制效果



(二) 菜豆萃取液在不同溫度處理後對蒼蠅澱粉酶的影響

結果如圖七，以 60°C 與 75°C 溫度水浴處理 1 小時後，菜豆萃取液對蒼蠅澱粉酶仍有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)，但 85°C 與 100°C 溫度的處理後，菜豆萃取液幾乎完全失去抑制效果，可推測菜豆萃取液中所含的澱粉酶抑制劑在超過 85°C 以上的溫度，即已變性而失去抑制的效果。

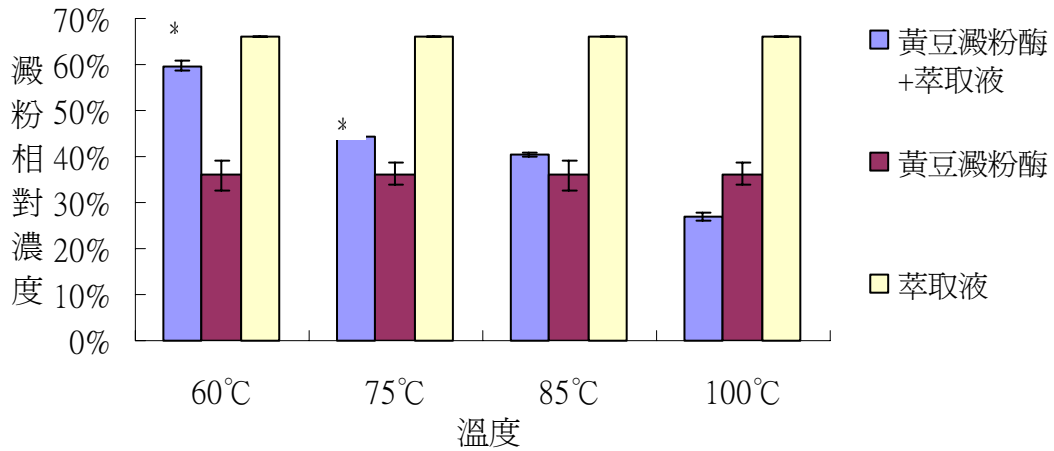
圖七、菜豆萃取液在不同溫度處理後對黃豆澱粉酶的抑制效果



(三) 黑豆萃取液在不同溫度處理後對黃豆澱粉酶的影響

結果如圖八，以 60°C、75°C 溫度水浴處理 1 小時後，黑豆萃取液對黃豆澱粉酶仍有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)，但 75°C 的抑制效果已顯著降低，85°C 與 100°C 溫度的處理後，黑豆萃取液幾乎完全失去抑制效果，可推測黑豆萃取液中所含的澱粉酶抑制劑在超過 85°C 以上的溫度，即已變性而失去抑制的效果。

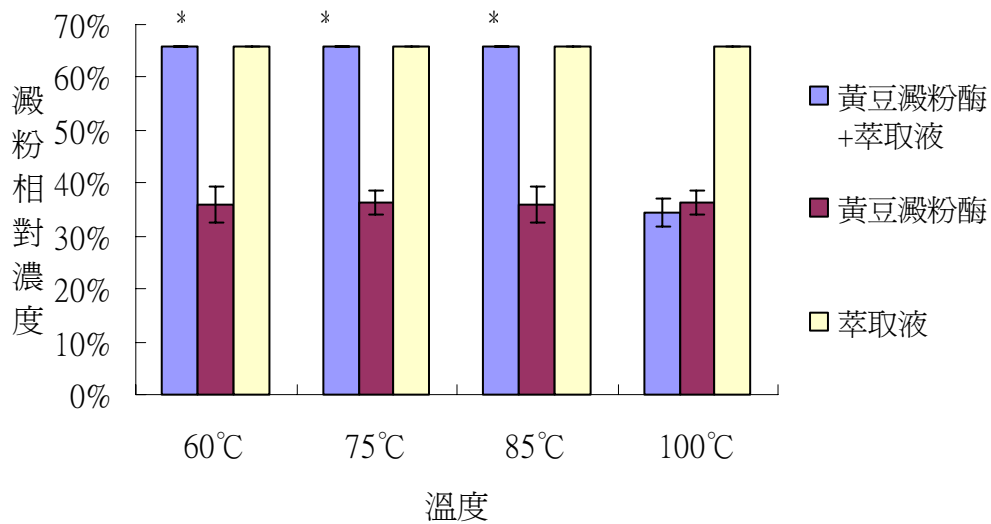
圖八、黑豆萃取液在不同溫度處理後對黃豆澱粉酶的抑制效果



(四)皇帝豆萃取液在不同溫度處理後對黃豆澱粉酶的影響

結果如圖九，以 60°C、75°C 與 85°C 溫度水浴處理 1 小時後，皇帝豆萃取液對蒼蠅澱粉酶仍有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)，但與 100°C 溫度的處理後，皇帝豆萃取液幾乎完全失去抑制效果，可推測皇帝豆萃取液中所含的澱粉酶抑制劑在超過 85°C 以上的溫度，即已變性而失去抑制的效果。

圖九、皇帝豆萃取液在不同溫度處理後對黃豆澱粉酶的抑制效果

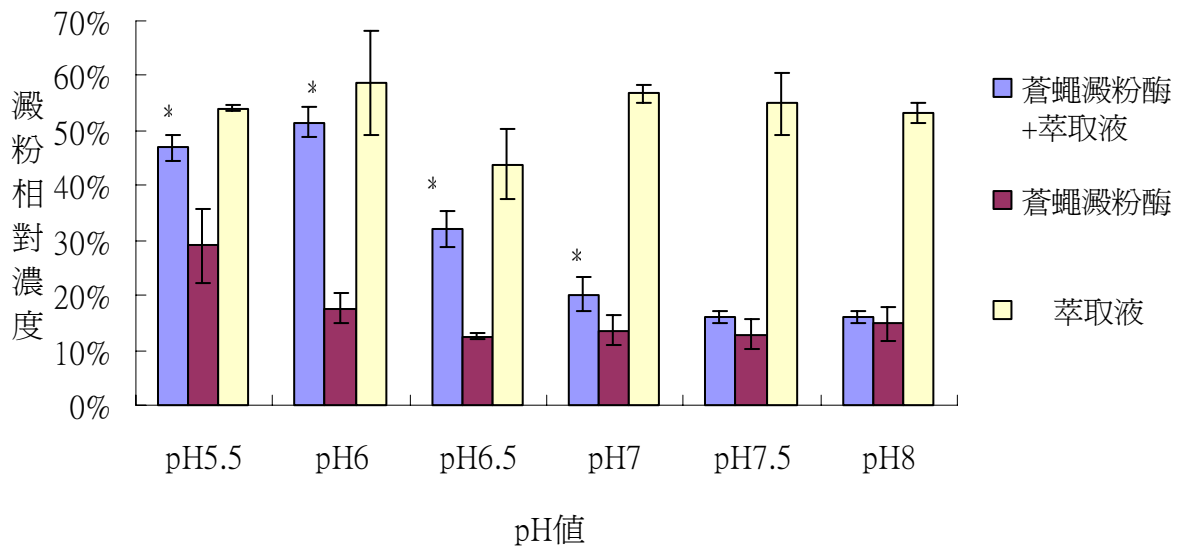


四、探討所找到的萃取液在不同酸鹼值中對澱粉酶活性的抑制效果

(一) 四季豆萃取液在不同 pH 值下對蒼蠅澱粉酶的影響

結果如圖十，四季豆萃取液在 pH7 以下皆有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)，pH 值高過 7 以後，即無顯著的抑制效果(t-test, $P > 0.05$)。其中在 pH 6 的環境下，抑制蒼蠅澱粉酶的效果最佳，抑制效果由高到低依序為：pH 6 > pH5.5 > pH6.5 > pH7。

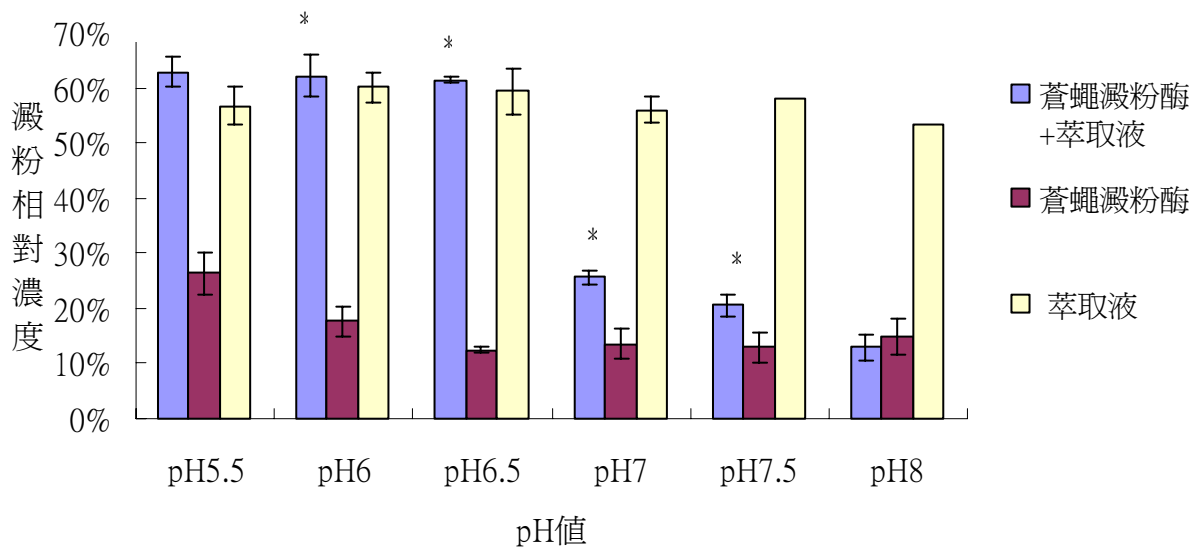
圖十、四季豆抑萃取液在不同pH值下對蒼蠅澱粉酶的抑制效果



(二) 菜豆萃取液在不同 pH 值下對蒼蠅澱粉酶的影響

結果如圖十一，菜豆萃取液在 pH7.5 以下皆有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)，pH 值高過 7.5 以後，即無顯著的抑制效果。在 pH5.5~ pH6.5 的環境下，抑制蒼蠅澱粉酶的效果皆很顯著，抑制效果由高到低依序為：pH 6.5 > pH5.5 > pH6 > pH7 > pH7.5。

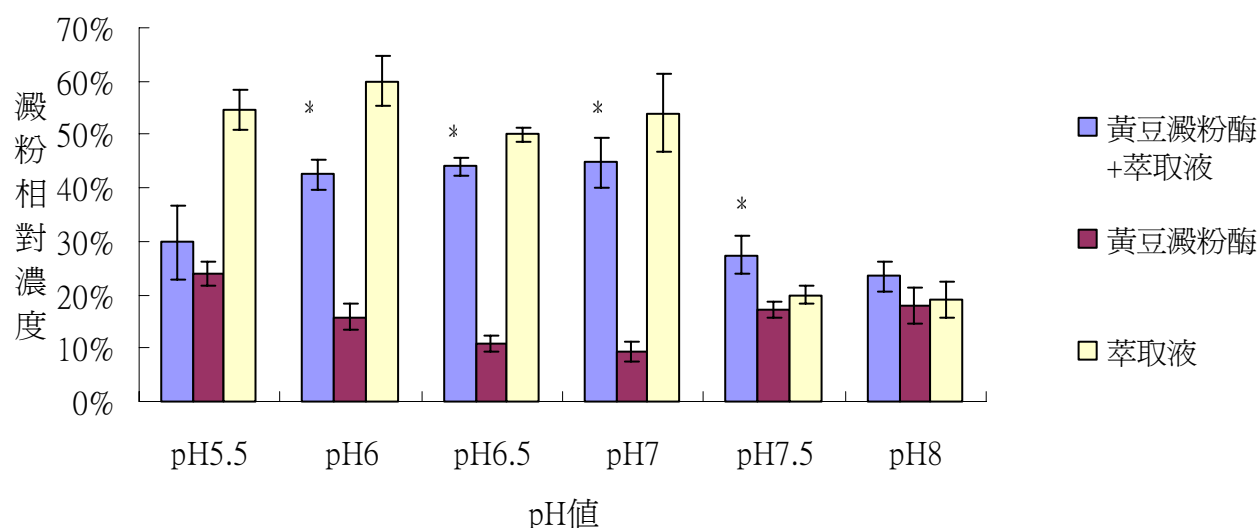
圖十一、菜豆萃取液在不同pH值下對蒼蠅澱粉酶的抑制效果



(三)黑豆萃取液在不同 pH 值下對黃豆澱粉酶的影響

結果如圖十二，黑豆萃取液在 pH6~7.5 之間皆有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)。其中在 pH6~ pH7 的環境下，抑制黃豆澱粉酶的效果皆很顯著，抑制效果由高到低依序為：pH7 > pH6.5 > pH6 > pH7.5。

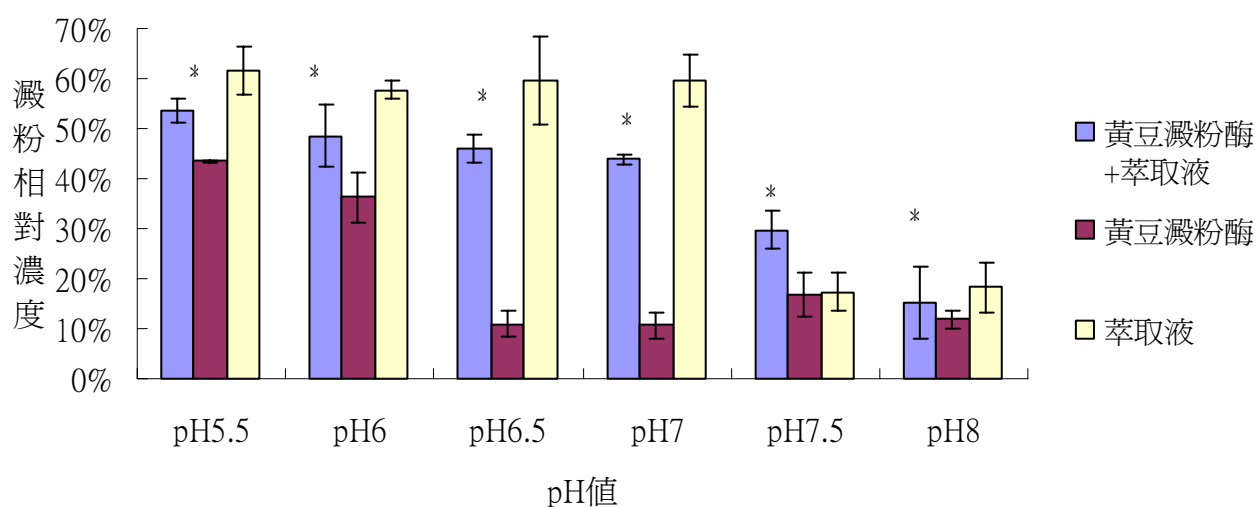
圖十二、黑豆萃取液在不同pH值下對黃豆澱粉酶的抑制效果



(四)皇帝豆萃取液在不同 pH 值下對黃豆澱粉酶的影響

結果如圖十三，皇帝豆萃取液不同 pH 值的環境下皆有顯著的抑制效果(t-test, $P < 0.05$)。其中以 pH6.5、pH7 的環境下，抑制黃豆澱粉酶的效果最佳，抑制效果由高到低依序為：pH6.5 > pH7 > pH7.5 > pH6 > pH5.5 > pH8。

圖十三、皇帝豆萃取液在不同pH值下對黃豆澱粉酶的抑制效果

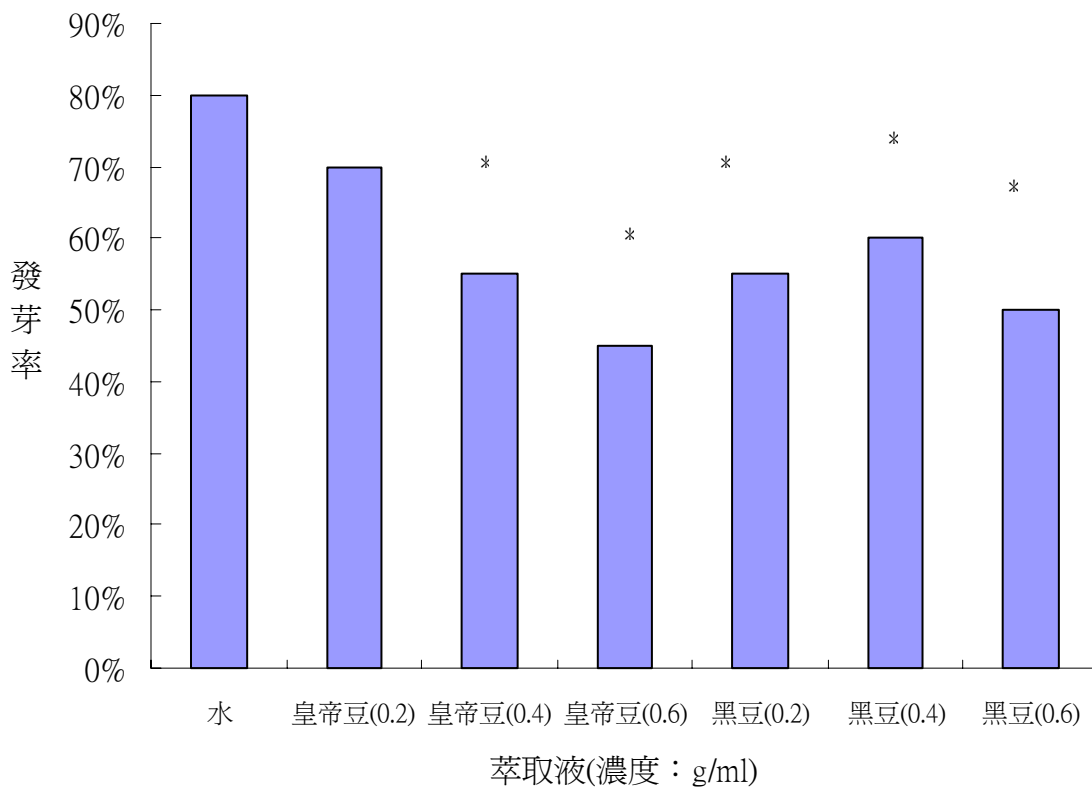


五、探討所找到的萃取液對黃豆發芽的影響

(一)不同濃度的皇帝豆、黑豆萃取液對黃豆發芽率的影響

結果如圖十四，0.4 g/ml、0.6 g/ml 的皇帝豆萃取液對黃豆發芽率的影響與水(對照組)相較具有顯著差異(chi-square, $p < 0.05$)，0.2g/ml 則無顯著差異。三種不同濃度的黑豆萃取液皆具有顯著差異(chi-square, $p < 0.05$)。在皇帝豆與黑豆萃取液的處理下，發芽率最低的濃度皆為 0.6g/ml。由此可知，皇帝豆、黑豆萃取液對黃豆發芽率具有抑制效果。

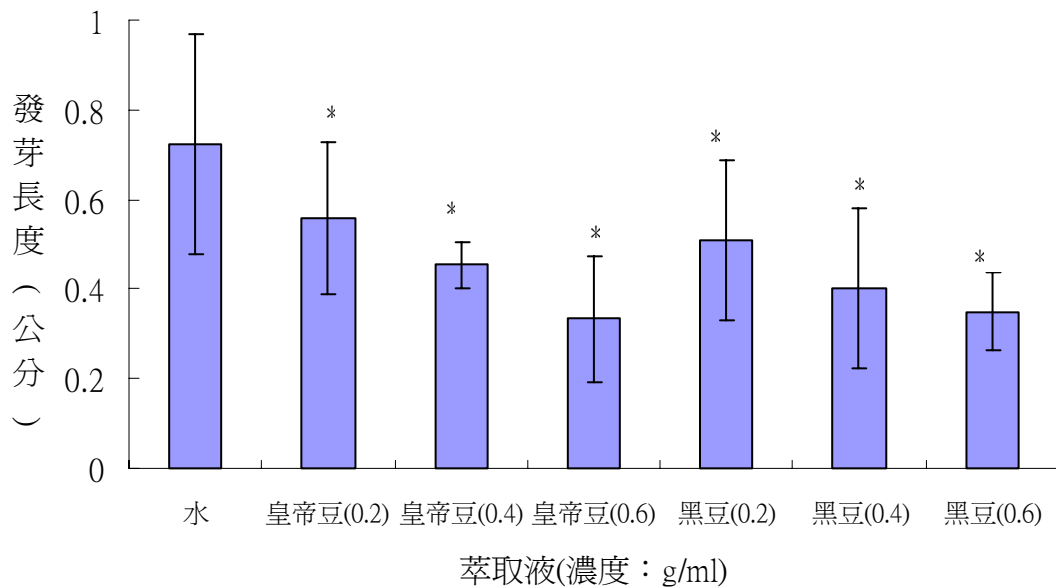
圖十四、不同濃度萃取液對黃豆發芽率的影響



(二)不同濃度的皇帝豆、黑豆萃取液對黃豆發芽長度的影響

結果如圖十五，黃豆種子在皇帝豆與黑豆萃取液的影響之下，其發芽長度與水(對照組)相較皆具有顯著差異(ANOVA, $p < 0.05$)。且發芽長度皆具有濃度愈高，發芽長度愈短的趨勢，在 0.2(g/ml)下發芽長度最長，其次 0.4(g/ml)、0.6(g/ml)，由此可見皇帝豆、黑豆萃取液皆具有抑制黃豆芽生長的效果，且濃度愈高，抑制效果愈好。

圖十五、不同濃度萃取液對黃豆發芽長度的影響



柒、討論

- (一) 我們一開始進行測試時，遭遇了許多的困難，在製作澱粉濃度-吸光值的標準曲線時，我們測試幾種波長與不同的澱粉濃度，最後發現在測量 OD₆₂₀ 時的效果最好，澱粉液的濃度也在逐步調整後，最後終於有了一條接近完美的標準曲線。
- (二) 豆類萃取液與澱粉酶溶液的反應，也是逐步調整後，才找到適當的濃度與反應時間，為了避免每次所萃取的豆類與澱粉酶溶液的品質不穩定，我們每一次實驗都至少三重複。
- (三) 我們一開始直接將豆子研磨後離心，所得到的萃取液本身就有相當高的澱粉酶活性，會干擾對不同生物之澱粉酶活性的測試。後來我們從文獻中找到一種比較簡單的方法，以 0.3M NaCl 的磷酸鹽緩衝溶液進行鹽溶後，再以 5% T.C.A. 將某些蛋白質沉澱掉，即可去掉萃取液中的大部分澱粉酶，讓我們可以順利的進行實驗。為了避免萃取液本身所殘存的澱粉酶干擾測試結果，我們在實驗時，皆有測試萃取液本身的澱粉酶活性，以確保實驗的可靠性。
- (四) 我們發現此次實驗所測試的萃取液均含有澱粉酶抑制劑，可以抑制澱粉酶的分解作用，但對不同生物之澱粉酶的抑制效果並不相同。由此可見澱粉酶抑制劑應該廣泛存在於大部分的植物中，而且不同植物所合成的澱粉酶抑制劑應該有所不同。
- (五) 實驗結果顯示：四季豆、菜豆對蒼蠅澱粉酶的抑制效果最佳，對豬胰臟澱粉酶的抑制效果最差，兩者同屬腰豆類，性質相似；黑豆對各種澱粉酶的抑制效果差不多；馬鈴薯對人類口水澱粉酶的抑制效果最佳，對蒼蠅澱粉酶的抑制效果最差；皇帝豆對黃豆澱粉酶的抑制效果最佳，對豬胰臟澱粉酶則有幫助分解的效果，至於原因為何，還無法說明。
- (六) 植物合成澱粉酶抑制劑的主要原因可能為對抗草食動物的吃食，稱為抗生作用。此次實驗所測試的萃取液大多可抑制豬胰臟、蒼蠅與人類口水中的澱粉酶活性，應該

和這些植物通常比較容易受哪些動物的取食有關，可以在進一步研究探討。例如四季豆、菜豆抑制蒼蠅澱粉酶的效果最佳，可能這兩種豆類時常會受到昆蟲的取食，因而產生對蒼蠅澱粉酶抑制作用較強的抑制劑，可讓昆蟲吃了後消化不良，而減少取食作用；反之，馬鈴薯塊莖、皇帝豆抑制蒼蠅澱粉酶的效果最差，此類植物可能較不會受昆蟲取食，所以對蒼蠅澱粉酶的抑制效果不強。另外，也可運用於生物防治上，將抑制效果顯著的澱粉酶抑制劑的基因轉殖到植物體內，抑制害蟲的取食作用。

- (七) 此次實驗所測試的植物萃取液均可抑制人類口水澱粉酶的活性。如果可以取得國外的”腰豆”來進行測試比較，就可以知道這些植物所含的澱粉酶抑制劑的效果是否可媲美”腰豆”。不過菜豆、四季豆也同屬腰豆類，應該也可能具有開發的價值。目前中國大陸也找出一種可媲美”腰豆”的白雲豆，也屬腰豆類。由此可見此類植物所含的澱粉酶抑制劑是相當具有價值的，可應用於醫療上，很有開發的價值。
- (八) 此次實驗所測試的萃取液除了抑制動物的澱粉酶活性，也可抑制黃豆澱粉酶的活性，我們有找到一篇文獻探討植物於不同時期之澱粉酶抑制劑的表現，對植物生長所造成之影響，由此可知植物合成澱粉酶抑制劑的功能除了可對抗食草動物的吃食作用，也可調節植物本身內在澱粉酶的活性，可謂一舉數得。另外，不同時期甚至不同部位的植物體，所含的澱粉酶抑制劑的多寡也是值得探討的。
- (九) 四季豆與菜豆的萃取液在抑制蒼蠅澱粉酶分解的效果上相當顯著，而黑豆與皇帝豆萃取液則對黃豆澱粉酶的分解效果相當顯著。所以我們針對這四種萃取液再進一步地進行活性測試，實驗這四種萃取液在不同溫度處理與 pH 值下的抑制效果。結果發現萃取液的抑制效果皆會受到溫度與 pH 值的影響，由此可知澱粉酶抑制劑的成分應該為蛋白質。
- (十) 在溫度處理的實驗結果中，發現黑豆、菜豆、四季豆抑制劑在 85°C 的溫度以上就會失去功能，黑豆在 75°C 的抑制效果明顯下降，而皇帝豆要到 100°C 的溫度以上，由此可知，此四種豆類的澱粉酶抑制劑的耐熱程度不同，皇帝豆最大，而黑豆最小。所以我們在食用豆類食品時，皆要徹底煮熟，尤其是皇帝豆一定要煮沸至 100°C，要不然可能無法完全去掉澱粉酶抑制劑的活性，就會影響到豆類中澱粉的分解利用效率，而影響養分的吸收。
- (十一) 在 pH 值處理的實驗結果中，菜豆、四季豆兩者在在偏酸性環境中的抑制蒼蠅澱粉酶的效果最佳，而皇帝豆、黑豆則在中性的環境中抑制黃豆澱粉酶之效果最佳。另外，不論是蒼蠅或黃豆的澱粉酶也會受到 pH 值的影響，在中性環境中的分解效果較好，鹼性次之，酸性最差，兩者之間的相關聯性，也需進一步探討，才能將澱粉酶抑制劑的作用發揮到極致。
- (十二) 由於皇帝豆與黑豆抑制黃豆澱粉酶的效果顯著，又因為澱粉酶是種子萌發過程中所必須合成的重要酵素，所以我們推測皇帝豆與黑豆萃取液中的澱粉酶抑制劑應可抑制黃豆種子的萌發。所以我們利用皇帝豆與黑豆萃取液處理黃豆種子，觀察其發芽率與發芽長度，確實是有抑制效果，這也是澱粉酶抑制劑的一項妙用。
- (十三) 因為菜豆、四季豆萃取液對蒼蠅澱粉酶的抑制效果也很顯著，本想以此兩種豆類萃取液餵食蒼蠅，觀察其是否有影響澱粉酶作用，而達到減肥的效果，一直沒有成功，因為蒼蠅通常於餵食萃取液的不久後就死掉。後來由文獻知道：未煮熟的腰豆中含

有很劇烈的兩種毒素 Anti-nutrients 與 hemagglutins (紅血球凝集素)，兩者都可導致動物死亡，不可生食。經加熱或煮熟後這種毒素就會消失，然而澱粉酶抑制劑也同時遭破壞。所以必須要分離純化出植物的澱粉酶抑制劑，才可以進行這類的實驗。

(十四) 本次實驗利用植物萃取液來測試澱粉酶抑制劑的活性，若能進一步將澱粉酶抑制劑分離純化，應該可以得到更多且更有用的結果。這將是我們下一步所要努力的目標。

捌、結論

- 一、植物萃取液中，以花豆、黑豆、馬鈴薯抑制豬胰臟澱粉酶的效果最佳；菜豆、四季豆抑制蒼蠅澱粉酶的效果最佳；黑豆、皇帝豆抑制黃豆澱粉酶的效果最佳；不同萃取液抑制口水澱粉酶的效果則差不多。
- 二、皇帝豆的澱粉酶抑制劑最耐高溫，100°C 才會失去活性，其次是菜豆、四季豆，在 85°C 時變性，最差的是黑豆。
- 三、菜豆、四季豆兩者在在偏酸性環境中的抑制蒼蠅澱粉酶的效果最佳，而皇帝豆、黑豆則在中性的環境中抑制黃豆澱粉酶之效果最佳。
- 四、不同植物的澱粉酶抑制劑對不同生物之澱粉酶的影響不同，且會受到溫度與 pH 的影響，可見不同植物所合成的澱粉酶抑制劑不同，且其成分應為蛋白質。
- 五、無論是皇帝豆或黑豆萃取液確實可抑制黃豆種子萌發，降低其發芽率與發芽長度。

玖、參考資料及其他

- 一、Carlini, C. R., and M. F. Grossi-de-Sá.(2002). Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon* 40: 1515-1539.
- 二、Chrispeels, M. J., and N. V. Raikhel.(1991). Lectins, lectin genes, and their role in plant defense. *Plant Cell* 3: 1-9.
- 三、Ishimoto, M., and K. Kitamura.(1989). Growth inhibitory effects of an α -amylase inhibitor from kidney bean, *Phaseolus vulgaris* (L.) on three species of bruchids (Coleoptera: Bruchidae). *Appl. Entomol. Zool.* 24: 281-286.
- 四、K.Sasikiran, M.R.Rekha, and G.Padmaja.(2002). Proteinase and alpha-amylase inhibitors of sweet potato: Changes during growth phase, sprouting, and wound induced alterations. Central Tuber Crops Research Institute, Thiruvananthapuram, Kerala, India. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 43: 291-298.
- 五、美食主義者的窈窕新寵-腰豆與黃豆萃取精華。Smile 夢想天堂。民九十年二月二十日，取自：<http://home.kimo.com.tw/cccmw.tw/h005.html>

※附錄照片



照片一：不同種類的豆子



照片二：以電子天平秤重



照片三：將豆子置於冰上研磨



照片四：離心去除沉澱物



照片五：加入 T.C.A.，攪拌一小時，
使部分蛋白質沉澱



照片六：離心去除沉澱物



照片七：上清液倒入半透膜內



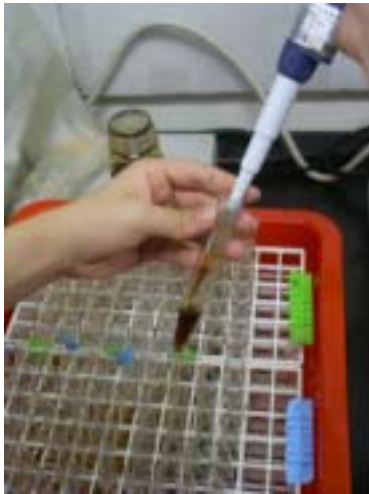
照片八：置入 1 升磷酸鹽緩衝溶液中透析



照片九：分別於試管內加入萃取液、澱粉 與磷酸鹽緩衝溶液



照片十：置入 37°C 的恆溫箱中反應



照片十一：反應後加入澱粉液，放置數分鐘後，加入碘液呈色



照片十二：水浴槽



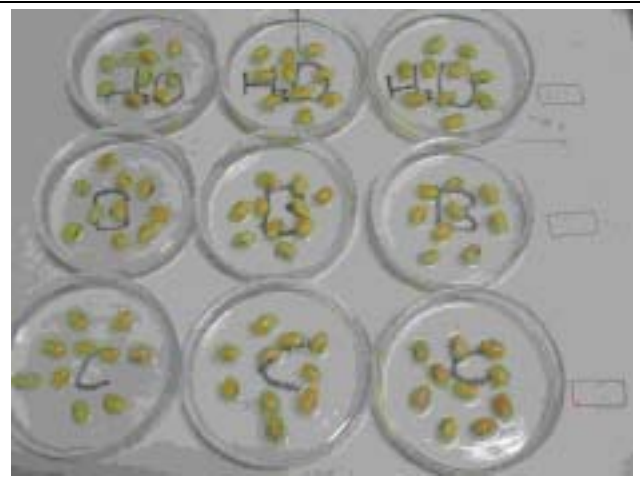
照片十三：不同處理的呈色反應，每一處理都至少三重複。試管 1：抑制劑+澱粉；試管 2：澱粉；試管 3：抑制劑。



照片十四：紫外線分光儀(分光光度計)



照片十五：檢測反應液的吸光值，讀取
 OD_{620}



照片十六：以清水、不同濃度的豆類萃
取液處理黃豆種子(H₂O：水、B：黑豆、
C：皇帝豆)



040707

-

1.

2.

3.