

中華民國第四十七屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

最佳團隊合作獎

040712

越挫越勇！延年益壽！

學校名稱：國立彰化女子高級中學

作者： 高二 許智嘉 高二 詹羽萱 高二 李茗珠 高二 黃筠婷	指導老師： 蕭碧鳳
---	--------------

關鍵詞：花生 白藜蘆醇 抗氧化能力

越挫越勇！延年益壽！

摘要

近年來，抗氧化物質很熱門，尤其以白藜蘆醇最受矚目，引起我們的興趣。我們的實驗探討花生芽菜不同部位以及不同壓重及 UV 的處理，對白藜蘆醇、總酚類含量及抗氧化力的影響，更進一步餵食果蠅，探討對壽命的影響。結果顯示：花生芽菜的總酚類含量、抗氧化力，皆為胚根>子葉>胚軸。在壓重處理，對芽菜生長是促進性的影響，對總酚類、白藜蘆醇含量是抑制性的影響，對抗氧化力的影響則不一定。而在 UV 處理，對芽菜生長是抑制性的影響，對總酚類含量、抗氧化力則為促進性的影響，但對白藜蘆醇含量卻無顯著影響。由此可知不同壓重及 UV 處理對花生芽菜的生長、內含物含量及抗氧化力有不同的影響，以芽菜收成前 1 天照射 12 小時 UV 的處理效果最佳。

壹、研究動機

豆類種子對於全世界的人類及動物是能量、蛋白質及營養之重要來源。然而，外源凝集素(lectins)、菲汀酸鹽(phytates)及棉子糖(raffinose)等抗營養物質卻會降低豆類的營養價值。許多文獻顯示，豆類種子經發芽過程後，不僅可降低抗營養物質，更能提高營養特性，除了會使蛋白質、胺基酸及碳水化合物等成分發生變化外，亦會提高大豆異黃酮、白藜蘆醇及類黃酮等機能性成分，這些機能性成分除了具有抗氧化作用外，亦可預防癌症等慢性病。

趙(2001)等發現，數種豆芽菜50%乙醇萃取液具不同的抗氧化效力，並且與總酚化合物、花青素及維生素C呈顯著相關性。近年來發現，花生仁除了含有Vit E及類黃酮外，經發芽後亦會產生白藜蘆醇之植物防禦素，並且會隨發芽時間的增加而提高抗氧化效力。因此，種子發芽對人體營養及機能特性值得更深入探討。

法國逆說(French Paradox)在這幾年一直是研究界廣泛討論的學說，主要原因是法國的生活飲食習慣中有高吸煙率，並且常食用高量動物性脂肪，但法國人因心臟相關疾病的死亡率卻很低。歸納原因，可能與法國人用餐習慣飲用紅酒有關。紅酒比白酒含有更多的酚類化合物，例如類黃酮及白藜蘆醇等成分。類黃酮與白藜蘆醇皆可直接清除自由基，以減少LDL的氧化和泡沫細胞的形成，並有效的延緩動脈粥樣化形成。目前亦有不少資料顯示，白藜蘆醇對人體除了具有抗氧化之效果外，更具有抗血小板凝集、抗發炎及抗癌性等保健功能。

Jason(2004)等研究發現熱量限制飲食，或在酵母菌、線蟲或果蠅飲食中添加白藜蘆醇，均可延長生命約30%，且讓果蠅隨心所欲進食，在飲食中添加白藜蘆醇，果蠅不僅可以活得較久，也沒有出現因熱量限制而失去生育力的問題。Joseph(2006)等以老鼠進行研究亦顯示，從紅酒中萃取高量的白藜蘆醇(Resveratrol)能夠降低糖尿病機率，肝臟問題或者其他與肥胖相關的疾病，而且也能讓肥胖老鼠壽命比沒接受這種物質的胖老鼠長，死亡率也降低31%。兩篇文章皆發表於nature期刊上，顯示出白藜蘆醇具有可以延年益壽的神奇功效。

白藜蘆醇除了可在紅酒中發現，王(2003)等發現花生發芽後可產生更多的白藜蘆醇，是相當值得推廣的本土性健康食品。在花生懸浮細胞培養的實驗中，利用外傷、病原體或真菌感染、UV光照射的處理，可誘導白藜蘆醇的合成。Chung等(2003)進一步分析花生白藜蘆醇合成酶之mRNA的活性表現，發現除了上述的處理外，一些與壓力有關的賀爾蒙：如乙烯、salicylic acid、jasmonic acid，亦可誘導白藜蘆醇合成酶基因的表現。這些處理中以UV處理最為簡便且

不會有汙染的問題；另外，傳統的豆芽菜生產者利用大石頭壓在豆芽上面，可讓豆芽菜長得「結實又粗壯」，以提升芽菜的品質與產量，也是一種簡便且無汙染的處理方法。

所以我們除了想比較花生芽菜不同部位的總酚類含量與抗氧化能力分析，還想以不同的壓重和UV處理的方式，來測試不同栽種方式對花生芽菜的總酚類、白藜蘆醇含量與抗氧化能力的影響，找出最適宜的處理方式，以生產更具機能性的花生芽菜，並進一步餵食果蠅，探討花生萃取液對其壽命的影響。

貳、研究目的

- 一、探討花生芽菜不同部位（胚根、胚軸、子葉）的總酚類含量及抗氧化能力的差異。
- 二、探討在不同壓重處理下，對花生芽菜的生長、總酚類、白藜蘆醇含量以及抗氧化能力的影響。
- 三、探討在不同紫外光照射處理下，對花生芽菜的生長、總酚類、白藜蘆醇含量以及抗氧化能力的影響。
- 四、探討餵食果蠅處理後的花生萃取液，對果蠅壽命的影響。

參、研究設備及器材

- 一、高壓液相層析儀
- 二、冷凍離心機
- 三、水浴槽
- 四、製冰機
- 五、恆溫植物生長箱
- 六、分光光度計
- 七、果汁機
- 八、紫外光(UVC)燈管(波長 190-280nm)
- 九、培養箱

肆、研究過程或方法

一、花生芽菜的栽培方法：

- (一) 選擇種子：選擇飽滿、發芽率高的花生。
- (二) 消毒及浸水：以漂白水(2%次氯酸鈉)消毒10分鐘，再用蒸餾水清洗並泡水8小時。
- (三) 育苗：將吸水種子平鋪於容器中，加鋁箔使容器密閉，保持溼度。
- (四) 播種：選取發芽良好的芽菜，置於25°C植物培養箱中栽培。
- (五) 採收：胚軸長到3~4公分、子葉未展開時，約浸種後6天即可收成。

二、不同壓重的處理

- (一) 播種後48小時，分別以1Kg、2Kg、4Kg的砝碼置於壓克力板上分別連續壓重4天與2天，進行芽菜栽培試驗。
- (二) 花生芽菜收成後，測量其胚軸寬度與長度並進行分析。

三、不同紫外光照射的處理

- (一) UV1：收成前1天以照度0.05Lux的紫外光分別照射24小時與1小時，花生芽菜收成後，測量其胚軸寬度與長度並進行分析。
- (二) UV3：收成前3天以照度0.05Lux的紫外光分別照射12小時與1小時，花生芽菜收成後，測量其胚軸寬度與長度並進行分析。

四、總酚類化合物測定

- (一) 取花生芽80%甲醇萃取液0.2ml加入1ml之Folin & Clocalteu's reagent，均勻混合三分鐘後，再加入0.8ml之7.5% Na₂CO₃水溶液，靜置30分鐘，以分光光度計讀取750nm吸光值。
- (二) 製造gallic acid標準曲線，依據標準曲線計算總酚類含量。

五、白藜蘆醇含量分析

- (一) 取花生芽80%甲醇萃取液經0.45μM濾紙過濾，並取樣品20μl以HPLC進行梯度分析。
- (二) 使用C18分析管柱，移動相為100%甲醇及去離子水以1ml/min之流速進行梯度分析，偵測波長設定為307nm。
- (三) 計算：白藜蘆醇(mg/ml)=[(樣品尖峰面積/標準品尖峰面積)*稀釋倍數(ml)*標準品濃度(mg/ml)]/樣品體積(ml)。

六、抗氧化能力測試

- (一) DPPH自由基清除能力
 1. 先取花生芽 80%甲醇萃取液 200 μl，與 0.1 ml 0.2mM 之 DPPH 甲醇溶液 100 μl 混合，於室溫靜置 30 分鐘，以分光光度計讀取 505nm 吸光值。控制組以等量的 80%甲醇取代。
 2. 吸光值愈低表示樣品清除 DPPH 自由基的能力愈強，DPPH 自由基清除能力 (%)=[(控制組吸光值-樣品吸光值)/控制組吸光值]*100%。
- (二) 還原力活性測定
 1. 先取花生芽 80%甲醇萃取液 500 μl，加入 0.2M pH6.6 磷酸緩衝液 0.25ml及 1%赤血鹽 0.25ml，於 50°C水浴反應 20 分鐘後迅速冷卻，加入 10%三氯醋酸 0.25ml，於 15°C、700g離心 10 分鐘，取上清液 0.5ml，加入去離子水 0.5ml及 0.1%氯化鐵溶液 0.5ml混合均勻，靜置 10 分鐘後，以分光光度計讀取 700nm吸光值。
 2. 吸光值愈高表示樣品的還原力愈強。

七、果蠅餵食實驗

- (一) 培養基成分配置：

	對照組	未處理的花生芽菜(25%)	未處理的花生芽菜(50%)	處理的花生芽菜(25%)	處理的花生芽菜(50%)
玉米粉	83.2 g	83.2 g	83.2 g	83.2 g	83.2 g
砂糖	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g
酵母	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g

洋菜粉	8.32 g				
丙酸	4 ml				
乙醇	4 ml				
水	1L	750ml	500ml	750ml	500ml
花生芽 菜汁液	-	250ml	500ml	250ml	500ml

1. 滅菌：培養瓶、棉花塞以高壓蒸氣滅菌後備用。
2. 花生芽菜汁液的製備：花生芽菜秤重後，加入適量 80%乙醇，並以果汁機打碎後，過濾取其汁液，調整濃度至 1g/1ml。處理的花生芽菜為黃色 UV1 的處理。
3. 培養基製備：將培養基各項成分(丙酸、乙醇、花生芽菜汁液除外)秤好放入鍋中，加入水，一邊攪拌一邊加熱，沸騰後關小火再加熱至培養基濃稠(約十分鐘)，關火待溫度下降至 60°C，加入丙酸、乙醇及花生芽菜汁液攪拌均勻後分裝，倒入培養瓶至高度 1~1.5 公分，待培養基冷卻乾燥後即可使用。

(二) 實驗處理

1. 先以一般培養基大量飼養果蠅，收集同一天羽化的果蠅進行餵食實驗。
2. 同一天羽化之果蠅麻醉後，分別將雄果蠅與雌果蠅各 20 隻分裝至上述五種培養基，每種培養基作三重複，分別飼養於 25°C、29°C 的培養箱中。
3. 每兩天將果蠅麻醉取出，計算死亡數，存活個體更換至新的培養基繼續培養。
4. 觀察至所有果蠅死亡為止。
5. 繪製生存曲線圖。

八、統計

所有數據皆三重複以上，以 ANOVA 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“*”。

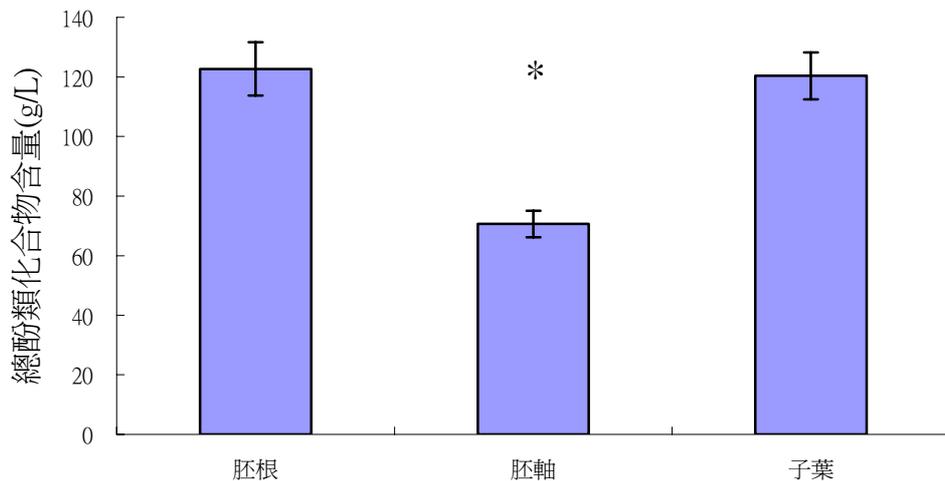
伍、研究結果

一、花生芽菜不同部位（胚根、胚軸、子葉）的總酚類及抗氧化能力的差異

(一) 不同部位總酚類含量變化

結果如圖一，胚軸的總酚類含量顯著低於胚根和子葉，胚軸對胚根和子葉皆有顯著差異。

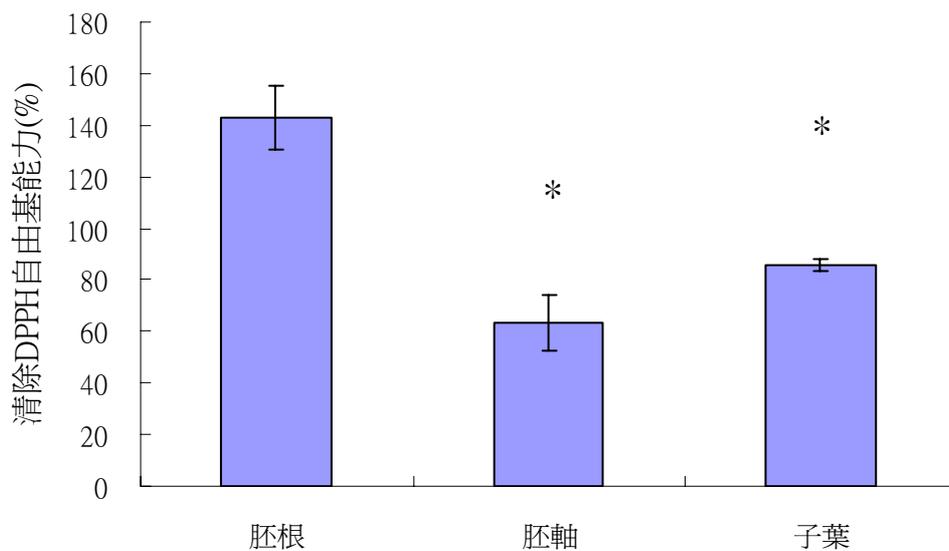
圖一、不同部位總酚類含量變化



(二) 不同部位清除 DPPH 自由基的能力變化

結果如圖二，清除 DPPH 自由基的能力為胚根 > 子葉 > 胚軸，胚軸與子葉皆與胚根有顯著差異。

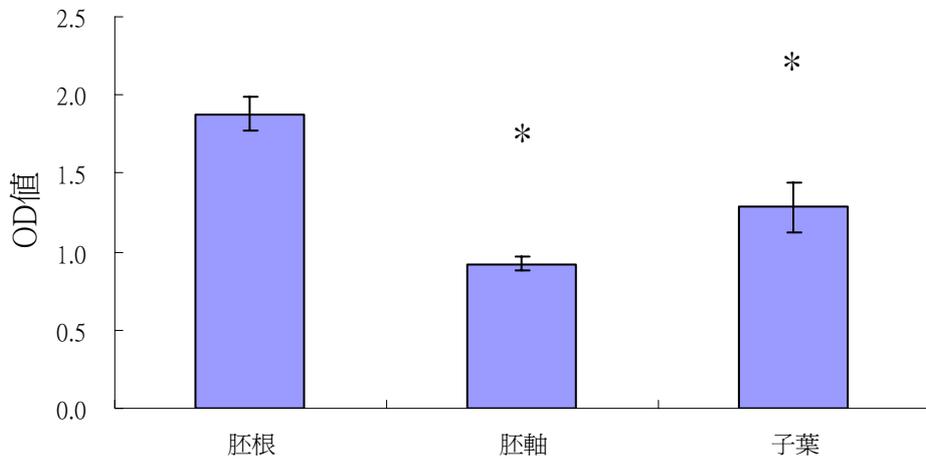
圖二、不同部位清除DPPH自由基的能力變化



(三) 不同部位還原力活性的變化

結果如圖三，還原力活性的變化為胚根 > 子葉 > 胚軸，胚軸與子葉皆與胚根有顯著差異。

圖三、不同部位還原力活性的變化

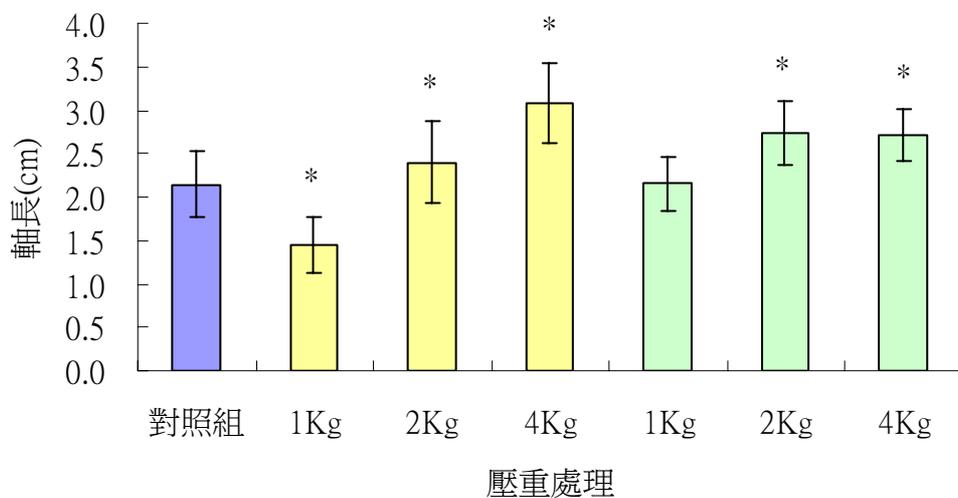


二、不同壓重處理下，對花生芽菜的生長、總酚類、白藜蘆醇含量以及抗氧化能力的影響(黃色 bar 為連續壓重 4 天，綠色 bar 為連續壓重 2 天)

(一) 不同壓重處理後的芽菜軸長變化

結果如圖四，除了 1Kg 壓重 4 天的處理對芽菜軸長為抑制性的影響外，其他的壓重處理對芽菜軸長則皆為促進性的影響，顯示足夠的壓重處理會使芽菜軸長增長。

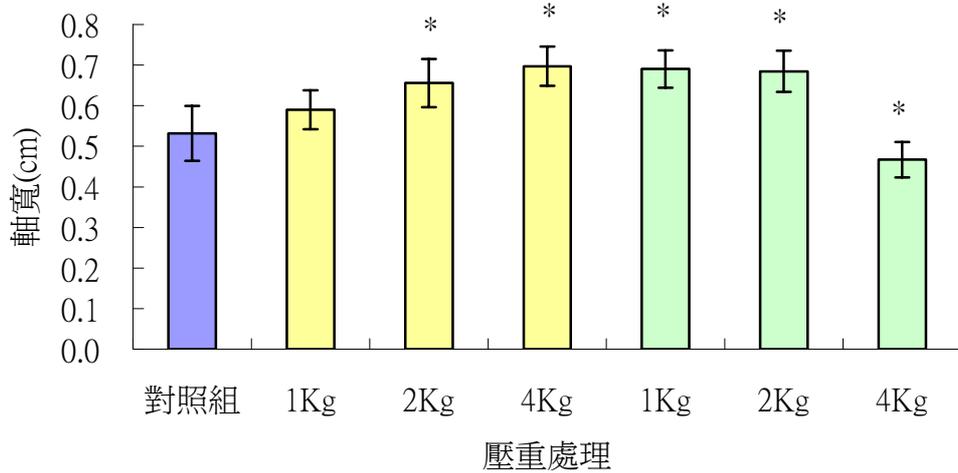
圖四、不同壓重處理後的芽菜軸長變化



(二) 不同壓重處理後的芽菜軸寬變化

結果如圖五，除了4Kg壓重4天的處理，對芽菜軸寬為抑制性的影響外，其他的壓重處理對芽菜軸寬則為促進性的影響，顯示足夠的壓重處理會使芽菜軸寬增加。

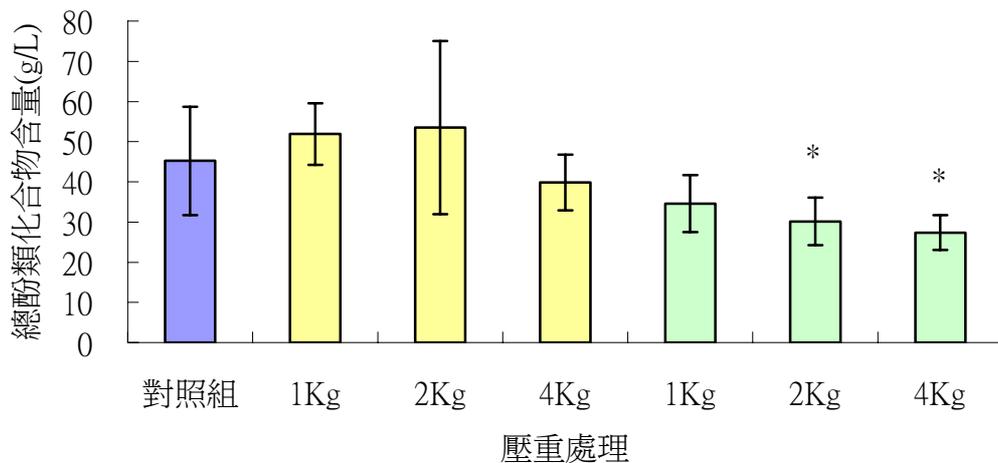
圖五、不同壓重處理後的芽菜軸寬變化



(三) 不同壓重處理後芽菜的總酚類含量變化

結果如圖六，在壓重4天的處理下，總酚類的含量與對照組無顯著差異，而在2Kg、4Kg壓重2天的處理下，總酚類含量顯著減少。

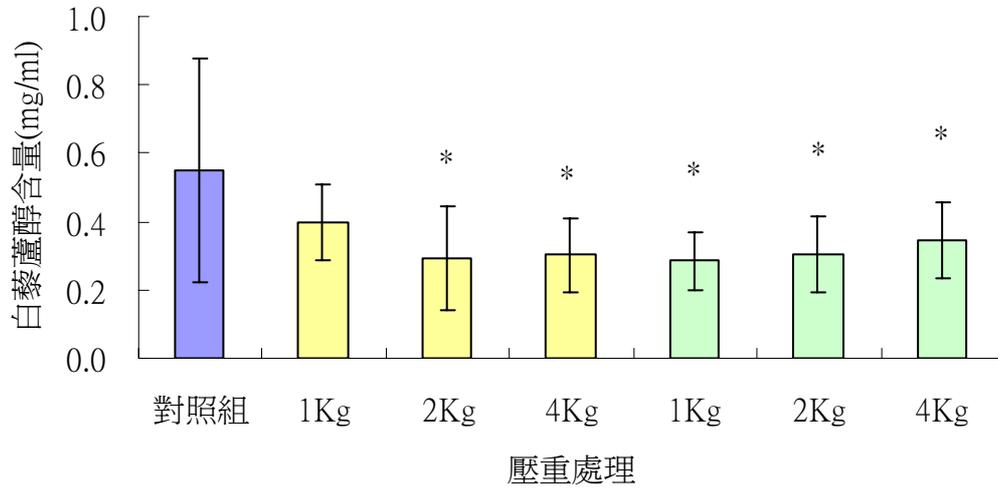
圖六、不同壓重處理後芽菜的總酚類含量變化



(四) 不同壓重處理後芽菜白藜蘆醇含量的變化

結果如圖七，除1Kg壓重4天與對照組無顯著差異外，其他處理皆使芽菜白藜蘆醇的含量顯著下降。

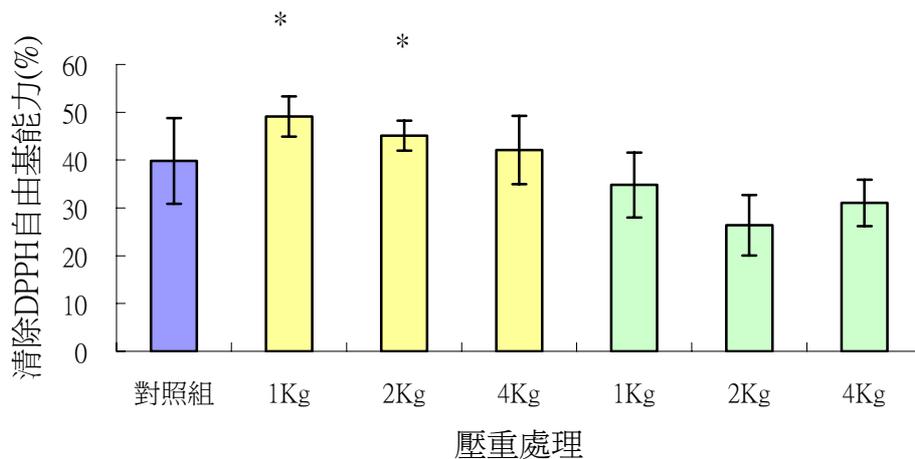
圖七、不同壓重處理後芽菜白藜蘆醇含量的變化



(五) 不同壓重處理後芽菜清除DPPH自由基的能力變化

結果如圖八，在1Kg、2Kg壓重4天的處理下芽菜清除DPPH自由基的能力顯著較對照組增加，壓重2天的處理則減少，但與對照組無顯著差異。

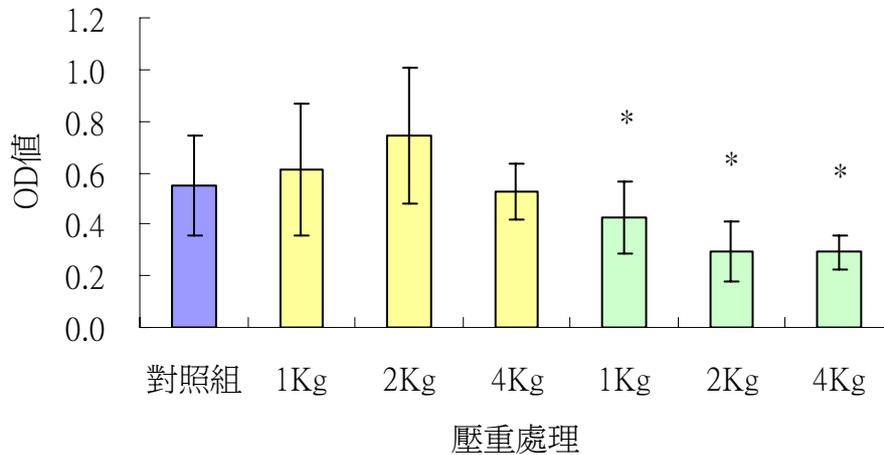
圖八、不同壓重處理後芽菜清除DPPH自由基的能力變化



(六)不同壓重處理後芽菜還原力活性的變化

結果如圖九，在壓重4天的處理下，芽菜還原力活性較對照組略為增加，但無顯著差異；而在壓重2天的處理下，芽菜還原力活性則顯著較對照組減少。

圖九、不同壓重處理後芽菜還原力活性的變化

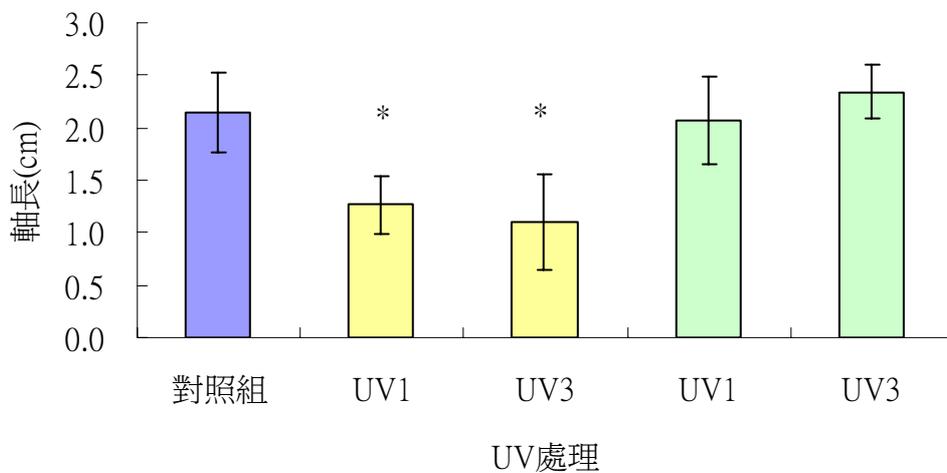


三、不同紫外光照射處理下，對花生芽菜的生長、總酚類、白藜蘆醇含量以及抗氧化能力的影響(黃色UV1為收成前1天照射12小時UV，黃色UV3為收成前3天照射24小時UV，綠色UV1、UV3各為收成前1天、前3天照射1小時UV)

(一)不同紫外光照射處理後的芽菜軸長變化

結果如圖十，在黃色UV1及黃色UV3處理下，芽菜軸長顯著較對照組減短；綠色UV1及綠色UV3則與對照組無顯著差異。

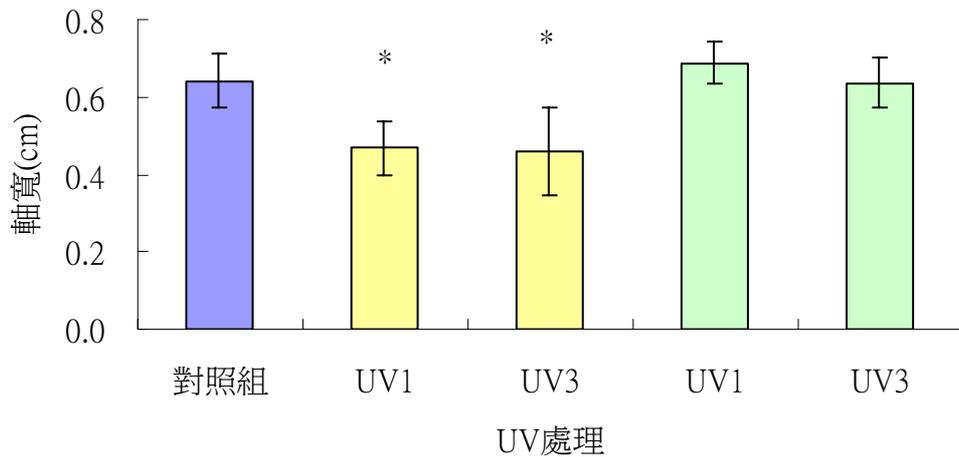
圖十、不同紫外光照射處理後的芽菜軸長變化



(二)不同紫外光照射處理後的芽菜軸寬變化

結果如圖十一，在黃色UV1及黃色UV3處理下，芽菜軸寬顯著較對照組減少；綠色UV1及綠色UV3則與對照組無顯著差異。

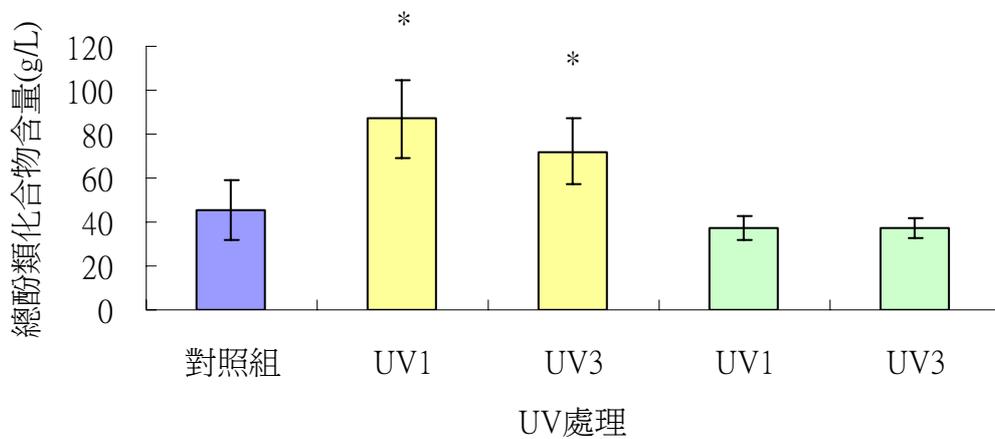
圖十一、不同紫外光照射處理後的芽菜軸寬變化



(三)不同紫外光照射處理後芽菜的總酚類含量變化

結果如圖十二，在黃色UV1及黃色UV3的處理下，總酚類的含量顯著較對照組增加，尤其以黃色UV1的促進效果最為顯著，而綠色UV1及UV3的處理則與對照組無顯著差異。

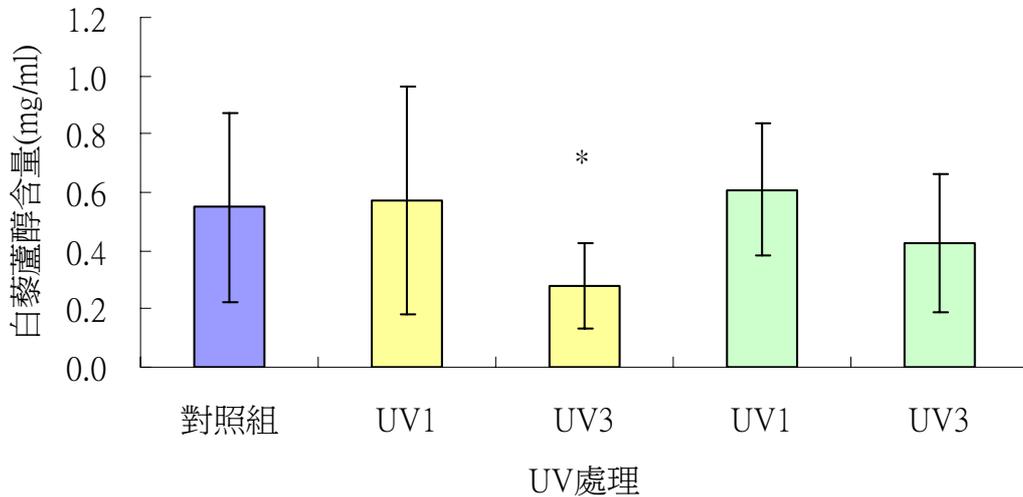
圖十二、不同紫外光照射處理後芽菜的總酚類含量變化



(四)不同紫外光照射處理後芽菜白藜蘆醇含量的變化

結果如圖十三，除黃色 UV3 的處理使芽菜白藜蘆醇的含量較對照組顯著下降外，其他處理皆與對照組無顯著差異。

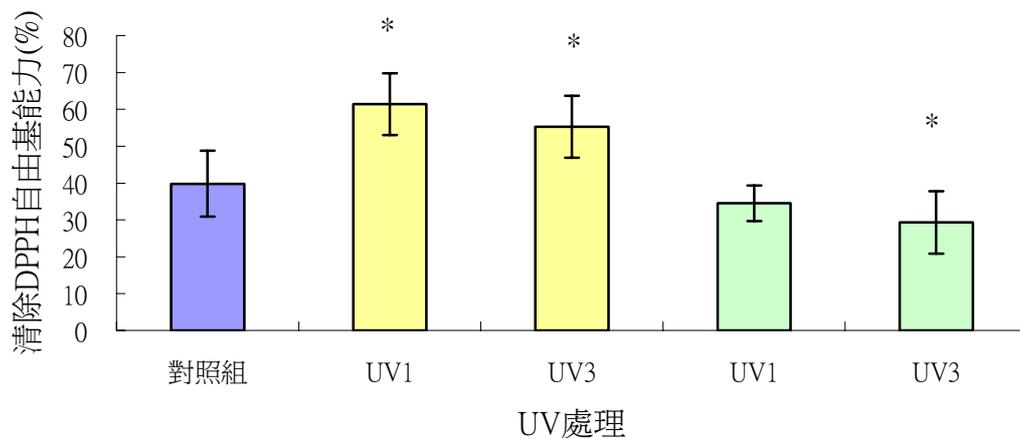
圖十三、不同紫外光照射處理後芽菜白藜蘆醇的變化



(五)不同紫外光照射處理後芽菜清除 DPPH 自由基的能力變化

結果如圖十四，在黃色 UV1 及黃色 UV3 的處理下，芽菜清除 DPPH 自由基的能力顯著較對照組增加，尤其以黃色 UV1 的促進效果最為顯著；綠色 UV3 的處理則較對照組減少，綠色 UV1 的處理則無顯著差異。

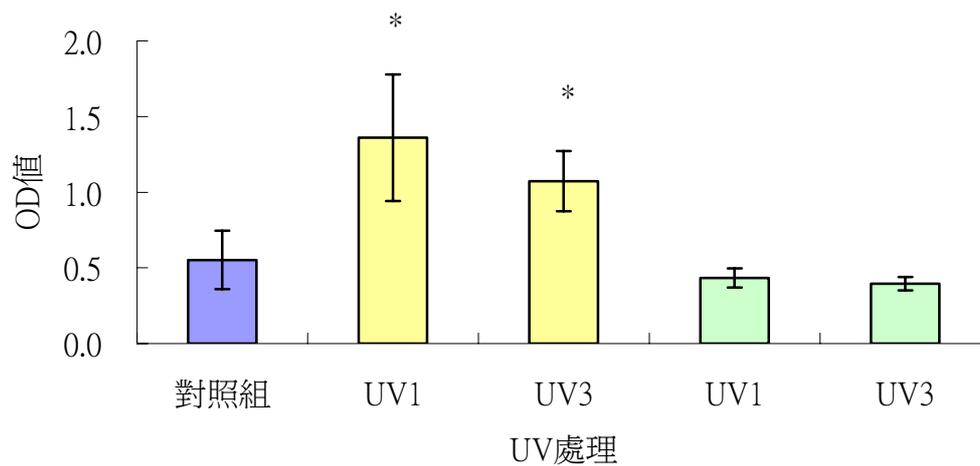
圖十四、不同紫外光照射處理後芽菜清除DPPH自由基的能力變化



(六)不同紫外光照射處理後芽菜還原力活性的變化

結果如圖十五，在黃色 UV1 及黃色 UV3 的處理下，芽菜還原力活性顯著較對照組增加，尤其以黃色 UV1 的促進效果最為顯著；綠色 UV1 及綠色 UV3 的處理與對照組則無顯著差異。

圖十五、不同紫外光照射處理後芽菜還原力活性的變化



陸、討論

- 一、花生芽菜的栽種過程中困難重重，由於花生發芽率不高，較綠豆芽菜的栽種困難，且一般市面上的芽菜培養盤因孔洞太小，並不適合栽種花生芽菜，試了很多種盒子最後決定用有濾盤的樂扣密封盒。由於芽菜的生長過程必須要保持很高的溼度，且又要通風，所以我們後來是以鋁箔封口後，於鋁箔上打洞，使空氣流通，並於固定時間加入水分，以維持溼度。另外，最初栽種的花生容易發霉，推測可能是消毒不夠或浸泡時間過長。經過改進後，發霉率大大降低，減少栽種的失敗。
- 二、傳統上利用大石頭壓在豆芽菜上面，可讓豆芽菜長得「結實又粗壯」，以提升芽菜的品質與產量。在不同壓重處理方式，我們也嘗試了許多方法，最後決定以砝碼均勻固定在壓克力板上來進行壓重處理，既可固定重量、均勻分散壓力，又不會傾倒。用多重的重量處理也測試許多次，原本覺得已經很重了，沒想到都沒有顯著差異，由此可知花生芽菜的抗壓力超強，愈挫愈勇。
- 三、各種測試方法都須先經過測試，才能找到適當的濃度以進行分析，因此我們花了許多時間在事前的測試上。另外，依照文獻的方法，測試白藜蘆醇含量的結果並不穩定，所以在進行 HPLC 分析的過程中，我們改變不同分析的方式，不僅可以增加穩定度，也可以減少測試的時間。
- 四、實驗結果發現花生芽菜在總酚類含量與抗氧化能力上，胚根與子葉皆顯著高於胚軸，文獻中也提及在白藜蘆醇的含量上，也是胚根與子葉顯著高於胚軸。由此可見胚根與子葉的部份所具有的機能性成分比胚軸多，具有較高的抗氧化能力，營養價值更高，食用上不應將胚根部分丟棄。
- 五、不同壓重處理下，對胚軸的長和寬大多有促進性的影響，其中又以對胚軸的增長效應最為顯著；對總酚類、白藜蘆醇含量的影響則大多是抑制性的；對清除 DPPH 自由基能力及還原力活性，連續壓四天的是促進性的影響，而只壓兩天的是抑制性的。由此可見壓重可促進花生芽菜的生長，且連續性的重壓反而較只壓兩天的提高整體的抗氧化力，但未提高總酚類與白藜蘆醇的含量，可能增加的是別種的抗氧化物。
- 六、不同 UV 處理下，對胚軸的長和寬有抑制性的影響，且照射時數愈長，抑制愈顯著；照射時數長對總酚類含量、還原力活性及 DPPH 清除自由基能力的影響是促進性的，只照射 1 小時則影響不大，但對白藜蘆醇含量的影響卻不顯著。由此可知 UV 可抑制花生芽菜的生長，但會提高總酚類含量與整體抗氧化力，對白藜蘆醇含量的影響則不顯著。
- 七、前人在花生懸浮細胞培養與白藜蘆醇合成酶之 mRNA 的活性表現分析中顯示許多逆境處理可誘導白藜蘆醇的合成。我們選擇重力以及 UV 的處理是因為兩者皆可誘使植物產生乙烯(逆境荷爾蒙)，且不需很特別的儀器，就可以處理，又不會造成污染。但我們的實驗結果卻顯示重力處理反而使白藜蘆醇的含量減少，UV 處理的影響則不顯著；而且兩者對芽菜生長及抗氧化力的影響不盡相同，由此可知不同逆境處理對植物的影響很難一言以蔽之，對懸浮細胞與芽菜整體的影響也不同。
- 八、我們的實驗雖然沒有達到預期使白藜蘆醇增加的結果，但長時間 UV 處理可使總酚類含量及整體抗氧化能力增加，目前以收成前 1 天照射 12 小時 UV(黃色 UV1 處理)的處理效果最佳，可獲得最多的總酚類與最好的抗氧化能力，將以此處理的花生芽

菜萃取液進一步餵食果蠅。

九、花生芽菜具有許多機能性成分，其中總酚類化合物大多具有抗氧化的功效，這幾年最熱門的就是白藜蘆醇，除了具有抗氧化的功效外，更具有抗血小板凝集、抗發炎及抗癌性等保健功能，還能延年益壽，因而備受矚目，所以花生芽菜是非常值得大量推廣的健康蔬菜。目前正在進行果蠅餵食實驗，希望能證明花生芽菜萃取液確實可以延年益壽，經過處理的花生芽菜應該效果更好，更可增加花生芽菜的價值。

柒、結論

- 一、花生芽菜總酚類含量、整體抗氧化能力的變化，皆為胚根 > 子葉 > 胚軸，故食用芽菜時，不應將胚根丟棄。
- 二、在壓重處理下，對芽菜生長是促進性的，對芽菜內含總酚類、白藜蘆醇的含量是抑制性的，對整體抗氧化力而言，連續壓 4 天的略為增加，只壓 2 天的則減少。
- 三、不同 UV 處理下，照射時數愈長，對芽菜生長的抑制效應愈顯著，且對花生芽菜的總酚類含量、抗氧化力的影響，皆為促進性的，但對白藜蘆醇的含量卻無顯著影響。
- 四、不同壓重及 UV 處理方式對花生芽菜的生長、內含物含量及抗氧化能力有不同的影響，且對所含不同抗氧化的機能性成分的影響也不同，如 UV 處理會提高總酚類的含量，但會降低白藜蘆醇的含量，對整體抗氧化能力的表現是促進性的。
- 五、栽種方式對植物所造成的影響不容小覷，目前在進行餵食果蠅的試驗，以期證明花生芽菜的功效。

捌、參考資料及其他

- 一、徐慶琳.2002.山藥粉之特性及產品開發之研究.國立嘉義大學食品科學研究所碩士論文.
- 二、王國璽.2003.機能性花生芽之製備探討.國立嘉義大學食品科學研究所碩士論文.
- 三、趙文婉，張珍田，周淑姿.2001.五種食用豆芽菜 50%乙醇萃取液抗氧化性之研究.中華生質能源學會會誌.20(3-4)：113-122.
- 四、Chen RS, Wu PL, Chiou RYY. 2002. Peanut roots as a source of resveratrol. *J Agric Food Chem.* 50(6):1665-1667.
- 五、Chung IL, Park MR, Chun JC, Yun SJ. 2003. Resveratrol accumulation and resveratrol synthase gene expression in response to abiotic stress and hormones in peanut plant. *Plant Sci.*164：103-109.
- 六、Ko TF, Weng YM, Chiou RYY. 2002. Squalene content and antioxidant activity of Terminalia catappa leaves and seeds. *J Agric Food Chem.* 50(19):5343-5348.
- 七、Yen GC, Chen HY. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J Agric Food Chem.*43:27-32.
- 八、Jason G. Wood, Blanka Rogina, Siva Lavu, Konrad Howitz, Stephen L. Helfand, Marc Tatar, David Sinclair. 2004. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature.* 430: 686 – 689.
- 九、Joseph A. Baur, etc. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature.* 444:337-342.

【評語】 040712 越挫越勇！延年益壽！

1. 富團隊精神合作協調能力佳。
2. 對實驗資料之解釋及控制宜再深入。