

# 中華民國第 52 屆中小學科學展覽會

## 作品說明書

---

高中組 生活與應用科學科

佳作

040803

瓜果為具有多種生物活性的天然保健聖品

學校名稱：臺中市私立明道高級中學

作者： 高二 廖以賢 高二 廖以善	指導老師： 王姍佩 吳宣萱
-------------------------	---------------------

關鍵詞：抗氧化、酪胺酸酶、抑制細菌

## 摘要

因應天然美白及抗氧化成份日漸受人們喜愛，本研究針對國產瓜果類的水萃取物，進行生物功能性之探討，包括抗氧化特性、美白效果等，並對其抑菌效果加以試驗，期望能找到純天然、全方位的保健聖品。首先，本研究證實瓜果萃取物都具有高量的總抗氧化活性，也都能有效的抑制鐵釘生鏽。我們再分析這些瓜果萃取物的美白效果，以青梅抑制酪胺酸酶的能力最佳，其次是番茄，我們又證實醃漬梅、香瓜皮與甜椒的萃取液也有明顯的美白效果。有趣的發現，香瓜皮、甜椒、梅子和番茄都能抑制大腸桿菌(*E. coli*)的生長。由本研究結果可知，香瓜、甜椒、蕃茄與梅子皆為人所喜愛的食物具有良好的抗氧化能力，對於皮膚保健與美白、抑菌也有效果，經常食用，將會是一項既便宜、實用、又討人喜愛的健康食物。

## 壹、研究動機

在日常生活中，常食用不同的瓜果、蔬菜等食物，我們從自然與生物課堂上學到蔬菜及水果含有豐富的維生素及多種營養素，對人體健康很有幫助。另外，由應用生物課第二章生物科學與食品也得知，某些蔬果類雖然可以利用特殊加工方式來長期保存(例如醃漬梅等)，但這是否會因此喪失其特殊營養成分或有效成分，讓我們感到迷惑與好奇。加上近年來養生保健蔚為熱門話題，而找尋兼具有抗氧化、美白等功能的天然物更是大眾喜愛的題材，以前天然物常常應用在身體保健或疾病治療上，然而最近漸漸朝天然化妝品發展的趨勢。對東方人而言，擁有白皙的皮膚是夢寐以求的一件大事，所以挖掘具有美白、抗氧化效果的產品一直是愛美者所追求的。所謂[天然的東西尚好]!!，過去許多研究報告發現天然植物中也含多種特殊功能的活性物質，若能從食物中攝取，多吃(吸收)富含維生素C、多酚類等成分的食物，對於美白及保健有一定效果，因此本試驗即以瓜果為對象，萃得其中之有效成分，進行美白及抗氧化等的體外試驗，也利用常見的食物感染菌 *E.coli* 測試樣品的抑菌能力，祈能找到或開發新的機能性食物或保養品。

## 貳、研究目的

本研究的目的希望能找到全方位的保健聖品，因此針對瓜果類的水萃取物，進行各種生物功能性之探討包括：

- 一、利用鐵釘生鏽氧化速率來比較瓜果萃取物的抗氧化能力
- 二、檢測瓜果萃取物的總抗氧化活性(TAA)
- 三、測定瓜果萃取物還原MTT試劑的能力
- 四、利用抑制酪胺酸酶活性來測量瓜果萃取物的美白效果
- 五、測試樣品對病原菌-埃希氏大腸桿菌的生長抑制效果

## 參、研究設備及器材

### 一、研究設備:

電子天平、離心機、果汁機、pH 儀、紫外/可見光光譜儀、盤式分析儀、相機、定量吸取器、糖度計、滅菌鍋、磁性攪拌器、水浴槽、無菌操作台、培養箱、振盪器、酒精燈、接種環。

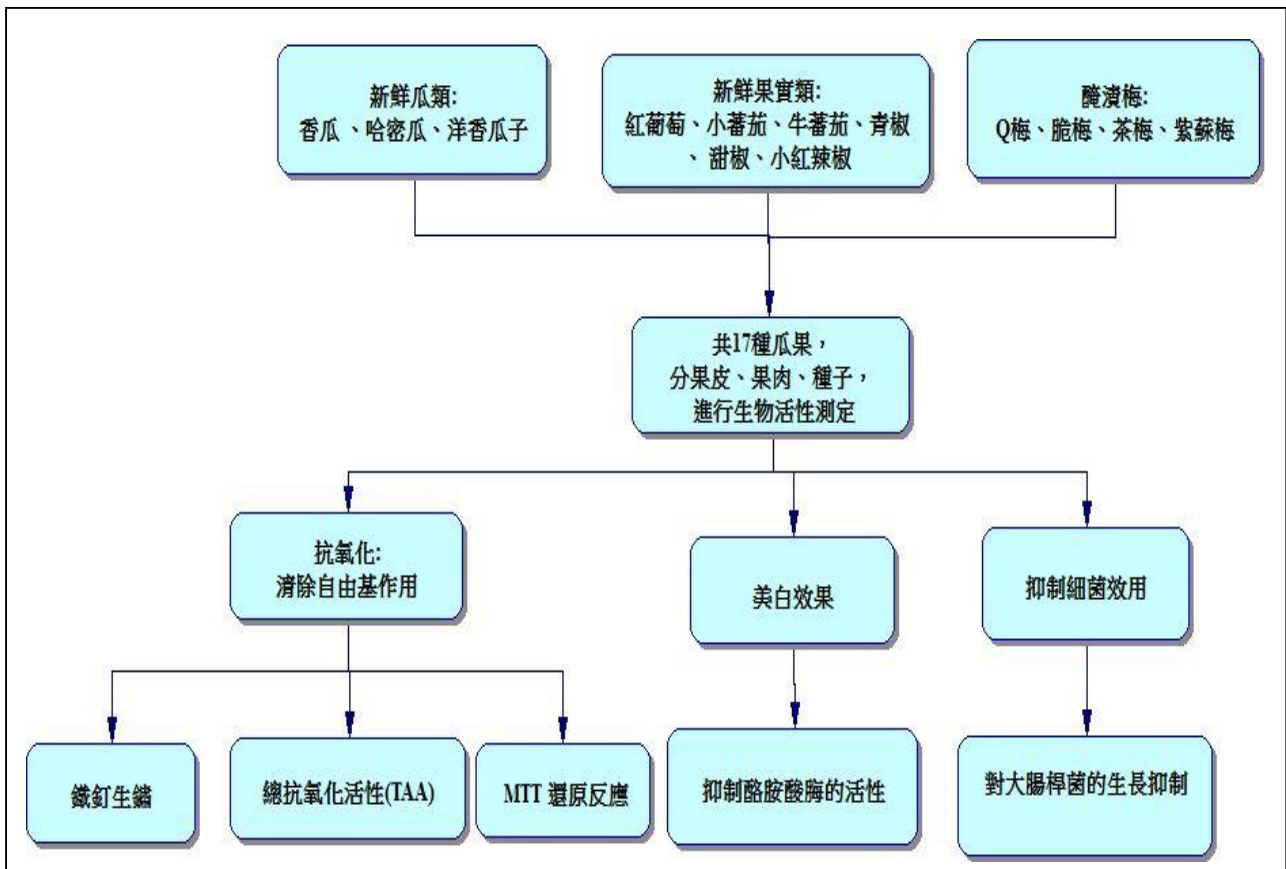
### 二、研究器材

大、小試管、塑膠吸管、燒杯、量筒、12 或 96 孔盤、鐵釘、石蕊試紙、定量瓶、試管、試管架(可放置不同處理的試管)、滴管、溫度計、秤量紙。

### 三、實驗藥品與材料

磷酸鹽緩衝溶液 (Phosphate buffered Saline 簡稱PBS，10倍濃度) 購自UR公司，Trolox C(水溶性維他命E) 由Aldrich公司購得，其餘藥品購自Sigma公司購得。

## 肆、研究過程與方法



### 一、背景資料

#### (一) 自由基 (Free radicals)

不論在分子、分子團、原子或原子團的外圍都有電子，其數量通常為偶數。當受到外在因素的影響而產生不成對的電子，就成為自由基。但自由基外圍的不成對電子很不穩定，會活潑地從其週遭搶奪電子來增加穩定性，如此卻使電子被奪去的物質變得不穩定，被掠奪者又變成掠奪者，於是發生了一連串的自由基連鎖反應，自由基也因此產生。若自由基存在細胞內會競爭及迫害健康細胞組成物質的成對電子，造成電子轉移。這類化學反應即為氧化，自由基便是強氧化劑。自由基也是造成肌膚損傷、膠原蛋白毀損、黑色素增生等肌膚問題的重要因子。因此[抗自由基]一直都是肌膚保養品一個很重要的效能。

## (二) 抗氧化物 (Antioxidants)

所謂抗氧化物就是可以抵抗氧化作用、降低活性氧分子傷害的物質，它能避免自由基帶來的鏈鎖反應，或中斷已經發生的鏈鎖反應，具有清除自由基的功能。一般而言，抗氧化劑在化學結構上必須具有一個能容易搶得電子的特性且能與其他氧化物相互反應，或者具有能與氧分子互相作用或去除之能力。抗氧化劑本身就是還原劑，還原劑就是本身氧化而去還原別人。相反的，氧化劑則是本身還原而去氧化別人。抗氧化劑的功用在於去除體內所產生的自由基，這些自由基是由氧氣和體內的各種物質反應而產生，會造成一連串有害的連鎖反應，而對體內組織造成各種傷害。抗氧化劑，就是比體內的物質更容易氧化的物質，可以替代體內的物質和自由基做氧化還原反應，藉此消滅自由基來保護體內的物質 (Clouatre, 2001)。

## (三) 美白與黑色素

近年來美白化妝品之主要作用機理是透過抑制黑色素細胞中酪胺酸酶(tyrosinase)的活性而達到美白效果。因為酪胺酸酶是黑色素代謝中目前唯一已知的酵素，黑色素為一種高分子的複合體，膚色的差異決定於黑色素細胞所產生的黑色素生成量，在容易接受紫外線照射的部位，其所含黑色素細胞的密度會隨之增加。酪胺酸酶受到陽光、自由基或發炎現象而活化，將體內的原基質-酪胺酸(tyrosine)代謝成左旋多巴(L-DOPA，全名 L-Dihydroxyphenyl alanine)，L-DOPA 再轉變為 dopachrome，經過一連串的生合成反應，最後形成混合型的黑色素(mixed type melanin)，因此，若能有效抑制酪胺酸酶的活性，就可以減少黑色素的形成。黑色素經由酪胺酸酶的反應生成，它具有吸收 UV 的功能，可以阻止 UV 引起的傷害，但是產生的黑色素若未被適時的代謝並在皮膚中累積，就會造成黑斑或雀斑，嚴重的時候甚至會導致黑色素瘤。目前在化妝品或醫療上使用的美白活性成分大多具有生理毒性(例如熊果素、對苯二酚與麴酸)，在使用上有諸多限制。因此，研究對於開發安全的有效美白成分仍是重要的發展方向。

## 二、 試劑反應原理

### (一) 鐵釘生鏽

鐵的生鏽要在有水有氧的情況下進行，『鏽』是金屬表面因氧化而產生的氧化物或是氫氧化物，『鐵生鏽』是氧化還原反應，當鐵原子失去電子變成  $Fe^{2+}$  離子時，鐵金屬就開始生鏽。因此，鐵鏽是一些鐵氧化物的統稱，通常為紅色，不同情況下會生成不同形式鐵的水合物 (Zfang, 2010)。

## (二) 總抗氧化活性 (Total antioxidant activity; TAA)

以樣品清除 ABTS (全名 2,2'-azino-bis(3-ethyl benzothiazoline-6-sulphonic acid) 自由基的能力來測定其總抗氧化活性，以作為保健指標的依據。所謂總抗氧化活性，就是當個體機能健康，即使體內產生高量的自由基，身體也能夠分泌足夠的抗氧化物，抵消自己所產生的自由基，以保護正常細胞未受破壞，我們便可稱他是擁有“高總抗氧化能力”的人。TAA 的測定原理是將 ABTS 溶液（淡黃色或無色）在過氧化氫與過氧化酶催化的條件下氧化成 ABTS 自由基，呈色劑顯現明顯的藍色（圖 4-1 所示），以此 ABTS 作為自由基發生源(Radical cation)，加入抗氧化劑或物質，可還原 ABTS 自由基成淡黃色或無色，可測其在波長 405nm 的吸光度，依吸光度大小換算濃度即為其總抗氧化活性 (TAA)。

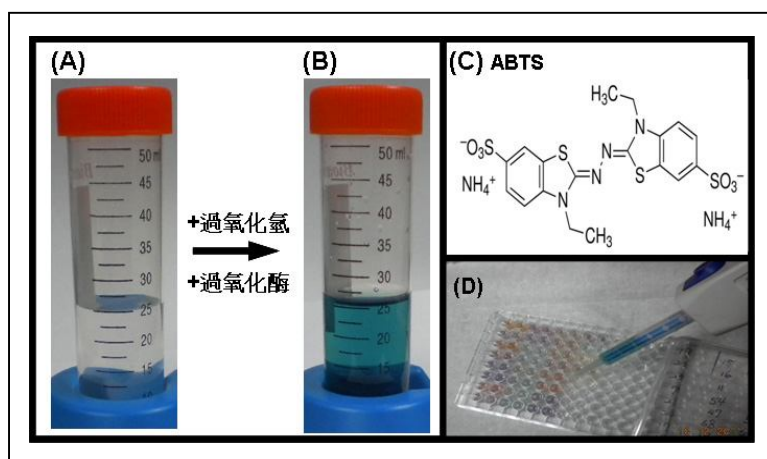


圖4-1:總抗氧化活性的測定 (A) ABTS原液 (B) 安定的藍綠色ABTS自由基 (C) ABTS 的化學式 (D)將(B)溶液等量加入內含樣品的孔盤中以測定樣品清除ABTS自由基的能力。

## (三) MTT 還原反應

MTT的全名是3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium。MTT在生物學上常被用來測定細胞的存活率或細胞的增生作用的方法，主要是藉由活細胞內粒線體中的琥珀酸去氫酶 (succinate dehydrogenase; 簡稱SDH)的作用，將淡黃色MTT tetrazolium還原成藍色的產物 (稱為 MTT formazan) (圖4-2)，故MTT assay可用作細胞存活率的指標。MTT 也可與具備還原能力的化學物質反應生成藍色之formazan產物，例如黃酮類Luteolin 或quercetin可將MTT還原成MTT formazan (Peng, 2005)。

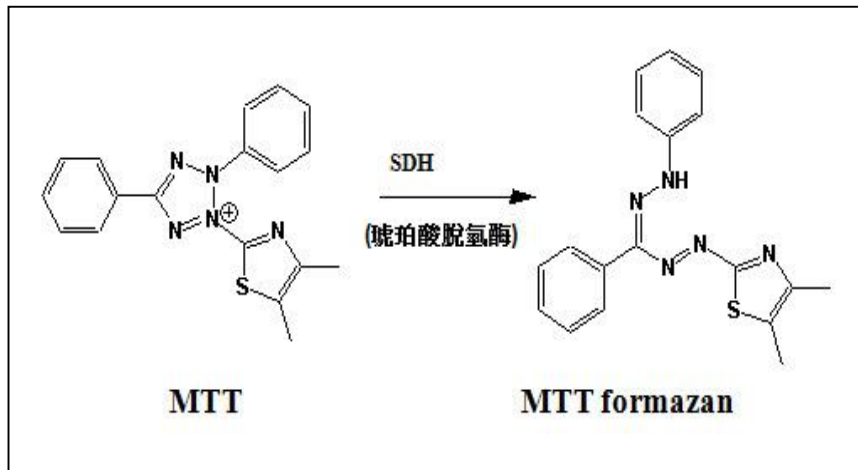


圖 4-2: MTT 還原反應圖， MTT 為黃色化合物，是一種接受氫離子的染料，可作用於活細胞線粒體中的呼吸鏈，在琥珀酸脫氫酶(SDH)的作用下 tetrazolium 環開裂，生成藍色的 formazan 結晶，formazan 結晶的生成量僅與活細胞數目成正比。

#### (四)抑制酪胺酸酶(Tyrosinase)的活性

以此作為測試美白效果的依據。酪胺酸酶是一種結構複雜的多亞基的含銅氧化還原酶，由黑色素細胞合成並且廣泛存在於微生物、動植物及人體中，黑色素的形成與體內酪胺酸酶的活性有關，因此，以實驗來量測樣品的美白效果，則以抑制酪胺酸酶活性的程度表示，酪胺酸酶代謝酪胺酸(Tyrosine)，由於反應後生成的黑色素 (Dopachrome, 多巴色素) 在可見光波長 490 nm 附近有最大吸光值，所以此酵素反應物以 490 nm 的讀值評估其活性之高低。酪胺酸經由酪胺酸酶作用後會形成黑色素，若抑制酪胺酸酶的活性，黑色素較不易沉積於皮膚，就有美白效果。

#### (五)抑菌效果的分析

許多研究指出在各種不同植物中具有抗菌物質。常用的抑菌的測試方法係在無菌的離心管中，加入 900  $\mu$ L 的稀釋後的測試樣品，每一管再分別加入體積 100  $\mu$ L 稀釋菌液，另做一組控制組(以 100 $\mu$ l 無菌 PBS 代替)。將每一管樣品震盪混合後，置於培養箱中培養。於固定時間取 100  $\mu$ L 之菌液加到培養基中，以無菌玻棒將測試液塗抹均勻，倒置於 37  $^{\circ}$ C 培養箱培養 18 小時後，利用菌落計數器計算培養基的數目。



### 三、樣品的製備:

(一) 樣品種類:本實驗所使用的瓜果樣品分別有 (1)瓜類: 包括香瓜 (皮、肉、子)、哈密瓜(肉、子)以及洋香瓜(肉、子) (2) 果實類: 包括紅葡萄 (果皮、種子), 小蕃茄 (果肉、果漿), 牛蕃茄 (果肉、果漿), 青椒 (果肉、種子), 甜椒 (果肉、種子), 小紅辣椒 (果肉、種子), 梅子(青梅、Q 梅、脆梅、茶梅、紫蘇梅)(圖 4-3)。本研究所使用的新鮮瓜果都是從傳統市場購買, 至於所使用的梅子產品都是我們家自己生產的, 只使用純天然的鹽與糖, 不添加任何人工試劑或防腐劑。



圖 4-3: 本研究所使用的瓜果樣品: 樣品編號分別是 1.香瓜 2.洋香瓜 3.哈密瓜 4.香瓜子 5. 哈密瓜子 6.洋香瓜子 7.青椒肉和青椒子 8. 紅甜椒 9.小紅辣椒 10.紅葡萄 11. 紅葡萄子 12. 牛蕃茄 13.聖女小番茄 14.青梅 15.脆梅 16.紫蘇梅 17.Q 梅 18.茶梅。



(二) **樣品的萃取**:將瓜果清洗乾淨，分果皮、果肉、種子，倒出多餘水分、秤重，再加入約3倍體積的冰溫 PBS 液體，用果汁機打成泥(<10 分鐘)，分裝入 50 mL 大試管中，充份搖動，再放入低溫離心機中，以 3,000 rpm 轉速離心 10 分鐘，取其上清液，分裝入 1.5 mL 小試管中，再次放入低溫離心機中，以 12,000 rpm 轉速離心 10 分鐘，取上清液，分裝並放入-20°C 冰箱保存備用(圖 4-4)。在擷取瓜果的萃取液時，使用至少 20 克以上的瓜果混合萃取之，每一種瓜果則分取二批次萃取，以增加取樣規模。不同水果間的比較，主要是依據其果肉、果皮或子的部位。若是分析果實不同部位(皮、肉、子)，則以徒手可輕易分離的組織分層取得肉與子，盡量減少黏附其他部位組織，而果皮則使用削皮器取得，瓜類的種子則再經過多次泡洗並除掉其上所黏附的果漿。

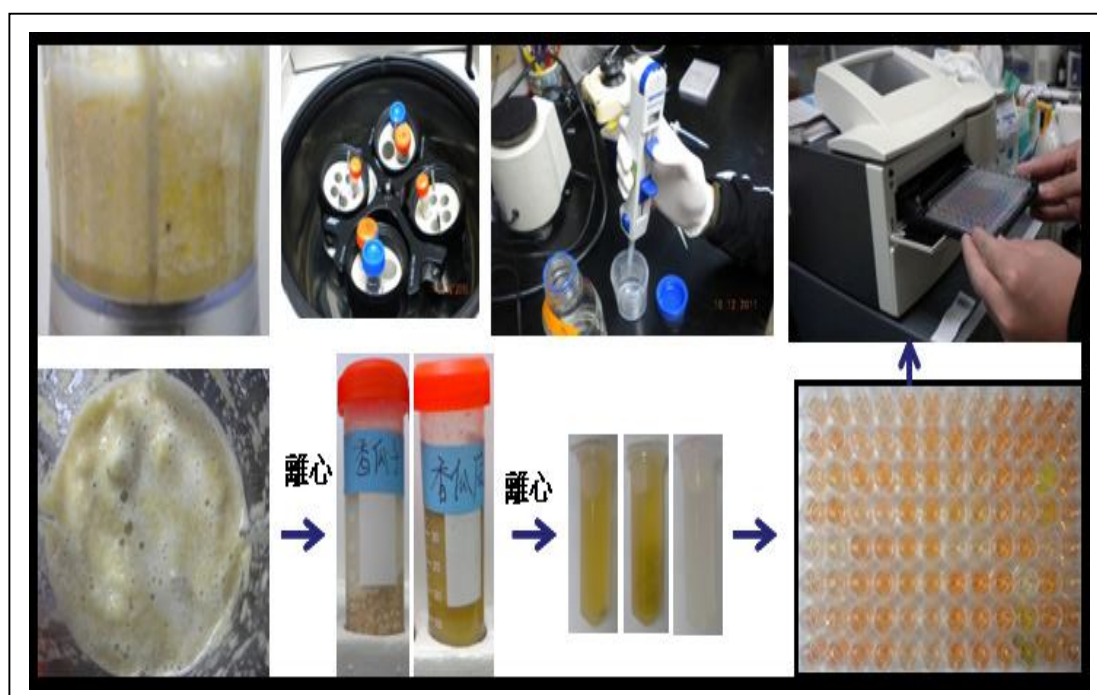


圖 4-4: 製作瓜果萃取液與各種分析檢測的操作(取樣、分裝與儀器操作)

(三)**樣品前處理**: 1. 進行實驗前，我們先以石蕊試紙(如圖 3-12)測試樣品的酸鹼度(pH 值)，發現所有梅子樣品的酸度都比較高 (pH 值約 3 左右)，其次是葡萄皮與番茄 (pH 值約 4)，而西瓜皮萃取液的酸鹼度在 5 左右，其餘樣品都是中性。由於測定樣品的生物活性(如酪胺酸酶活性和細菌生長)會受到樣品酸度的影響，因此，先以 2N 氫氧化鈉溶液將每一個樣品微調到中性(即 pH7 左右)，再進行抗氧化、美白等分析。2.測試樣品的抑菌效果，必須維持在無菌的環境下進行，所以需要在無菌操作台(Biosafety Hood)中操作，並事先將樣品溶液經由 0.22  $\mu\text{m}$  過濾器過濾(所謂低溫殺菌)。

## 伍、實驗方法

(一) 測定樣品抑制鐵釘生鏽的能力:先以砂紙將鐵釘表面磨擦後,放置於12孔盤培養皿中(每一孔都放入二支鐵釘),其每一孔都已先盛裝含40  $\mu\text{L}$  瓜果萃取液和1 mL過氧化氫( $\text{H}_2\text{O}_2$ )溶液(濃度5 mM),放置在室溫,以目測觀察氧化速率快慢,反應一周後,各取其反應液100  $\mu\text{L}$ ,測定在波長405nm的吸光值。

(二) 測定樣品的總抗氧化活性 (TAA):各取20  $\mu\text{L}$  樣品(或維他命C作對照),放入96 孔盤,隨後各加入180  $\mu\text{L}$  剛配製好的溶液A (含ABTS/過氧化氫/過氧化酶),在20分鐘後測量波長405 nm吸光值。

(三) 測定樣品還原MTT試劑的能力:樣品將黃色的MTT溶液還原成藍色formazan,在波長595 nm測定其吸光值,以檢測formazan之生成量,作為樣品的還原力依據,各取20  $\mu\text{L}$  樣品,放入96 孔盤,隨後加入100  $\mu\text{L}$  PBS,再加入100  $\mu\text{L}$  MTT 溶液(5 mg/mL溶於PBS中),在反應 0.5、6、28、45和70小時後,量測波長595 nm的吸光值。

(四)測定樣品抑制酪胺酸酶(Tyrosinase)活性:以抑制酪胺酸酶活性的程度來測量瓜果萃取物對形成黑色素產物(dopachrome)的抑制效果(即美白效果),測定時,各取 25  $\mu\text{L}$  樣品,放入 96 孔盤,隨後依序加入 150  $\mu\text{L}$  PBS,15  $\mu\text{L}$  酪胺酸 (L-tyrosine,3 mM) ,10  $\mu\text{L}$  酪胺酸酶(tyrosinase, 2100 unit/mL) ,在 20 分鐘後量測波長 OD490 nm 的吸光值。

(五)測定樣品的抑菌作用: 測試樣品對大腸桿菌 (簡稱*E. coli*)的生長抑制效果。本研究稍微修飾一般測定菌液的方法,不以菌落分析細菌生長量的方法,而是直接測定菌液在波長600nm的吸光值。以2x YPD培養液將過夜菌稀釋100倍,再各取100  $\mu\text{L}$  稀釋菌液加入96孔盤,其中已含有5  $\mu\text{L}$ 的樣品,將樣品與菌液混合後,置於培養箱中培養18小時後,利用盤式分析儀測定其在波長600 nm的吸光值以比較樣品之間的試驗菌數。

(六)測定樣品的含糖量分析: 我們的梅子樣品是醃漬物,故梅子水萃取物的含糖量比較高,於是我們使用手持式的糖度計來分析瓜果樣品的含糖量。所謂糖度就是在20°C的100g溶液中之蔗糖克數,以比重表示, Brix度=蔗糖%。我們將40  $\mu\text{L}$ 的瓜果萃取液加入糖度計中並立刻讀取刻度就是糖度。

## 陸、研究結果

首先，我們先用二種測定方法: (一)防止鐵釘生鏽的反應 與 (二)總抗氧化活性 (total antioxidant activity; TAA)來比較瓜果萃取液的抗氧化能力。

(一) 測定樣品抑制鐵釘生鏽的能力:

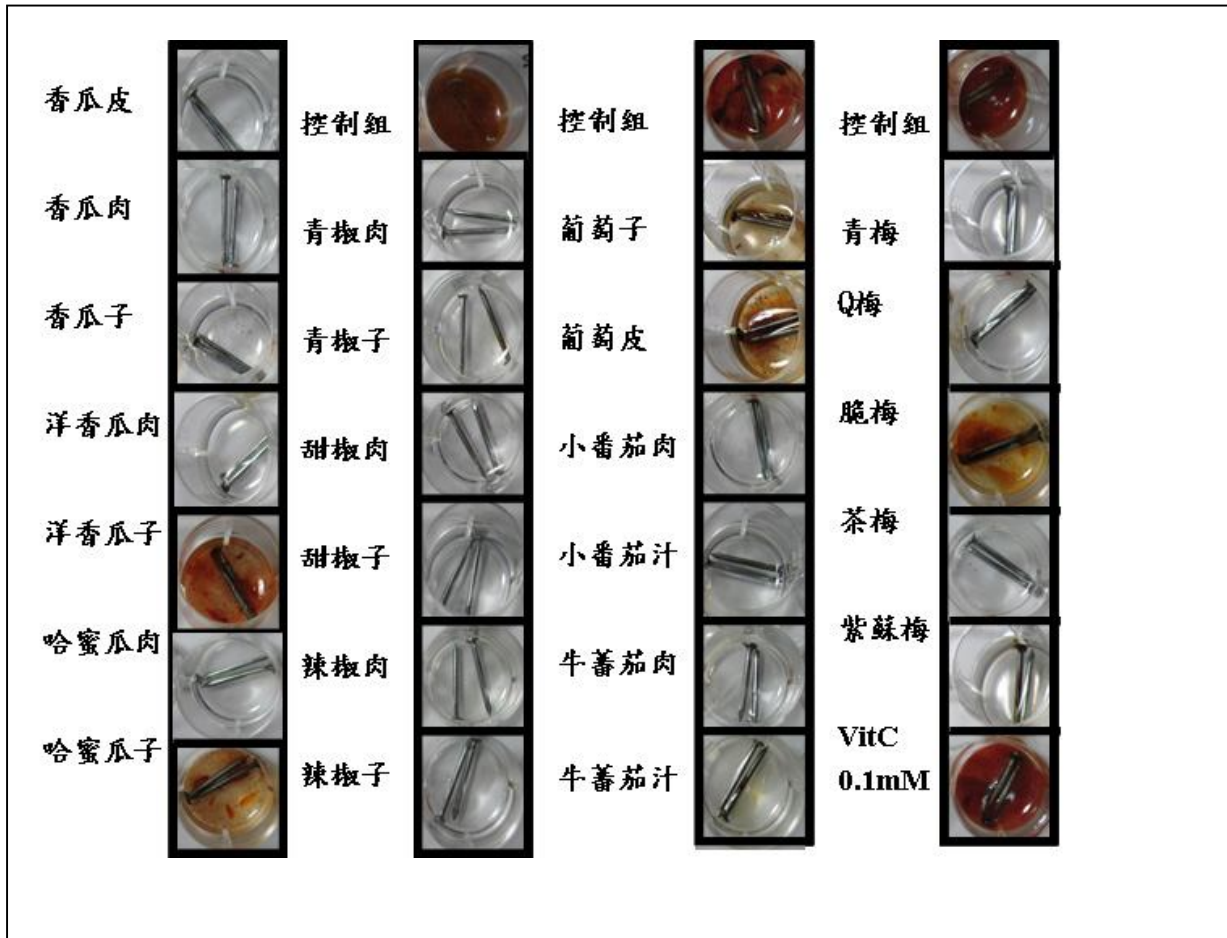


圖 5-1: 比較瓜果類萃取物之防止鐵釘生鏽的能力

由簡單的鐵釘生鏽氧化速率來觀察並比較瓜果萃取液的抗氧化能力，因為鐵鏽是由鐵和氧氣在潮濕環境下生成，首先發現鐵釘生鏽前，溶液會先轉呈黃色，接著在鐵釘表面被覆一層一層的鐵鏽，溶液最後可能變成褐色，如圖 5-1 為室溫反應二周後所擷取鐵釘生鏽的攝錄圖片。在未滴加萃取液的鐵釘快速生鏽，而香瓜(皮、肉、子)、番茄、椒類(青、甜或辣椒)與梅子(茶、紫蘇或 Q 梅)的水萃取液的鐵釘幾乎沒變色，表示這些萃取液確實有延緩鐵釘生鏽氧化的速率。

(二) 測定樣品的總抗氧化活性 (TAA):

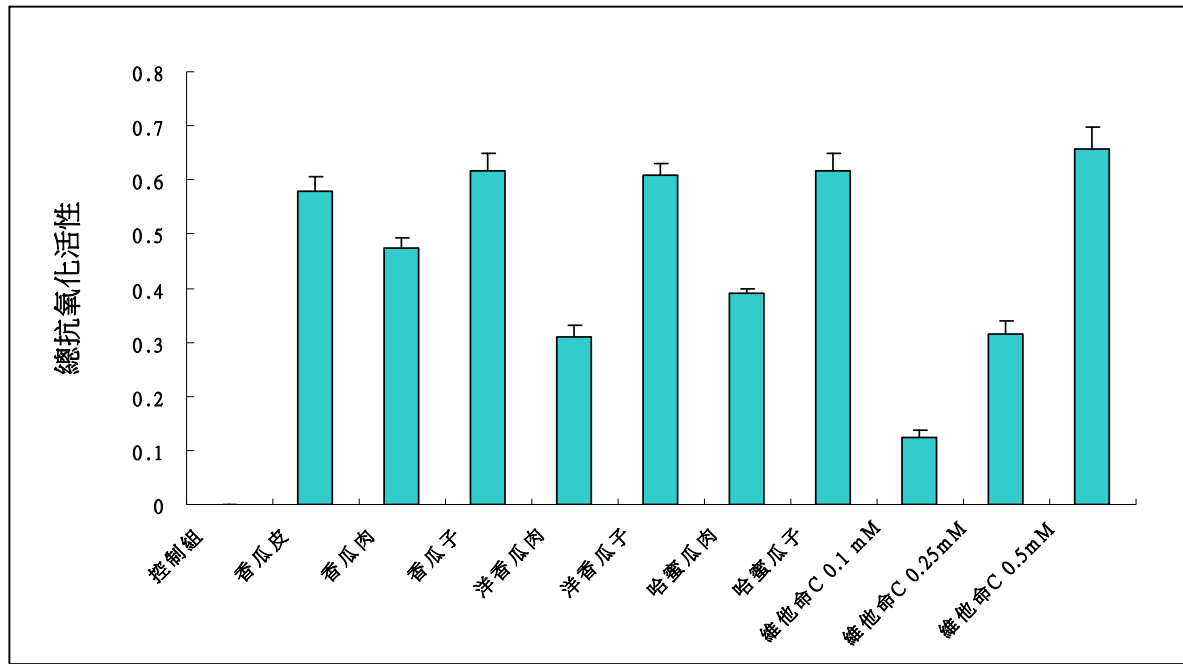


圖 5-2: 比較瓜類萃取物之總抗氧化力。資料以平均值 ±標準差 表示。

如圖5-2 所顯示瓜類，不論是果皮、果肉或子，都含有高總抗氧化活性 (>0.30)，約介於維他命C 0.25-0.5 mM的總抗氧化活性。由於蔬果或飲料中之抗氧化力是來自於多種成分，在無法釐清單一成分抗氧化力的條件下，藉由維他命C作為各測試樣品的總抗氧化力參數指標，以便於分析比較。

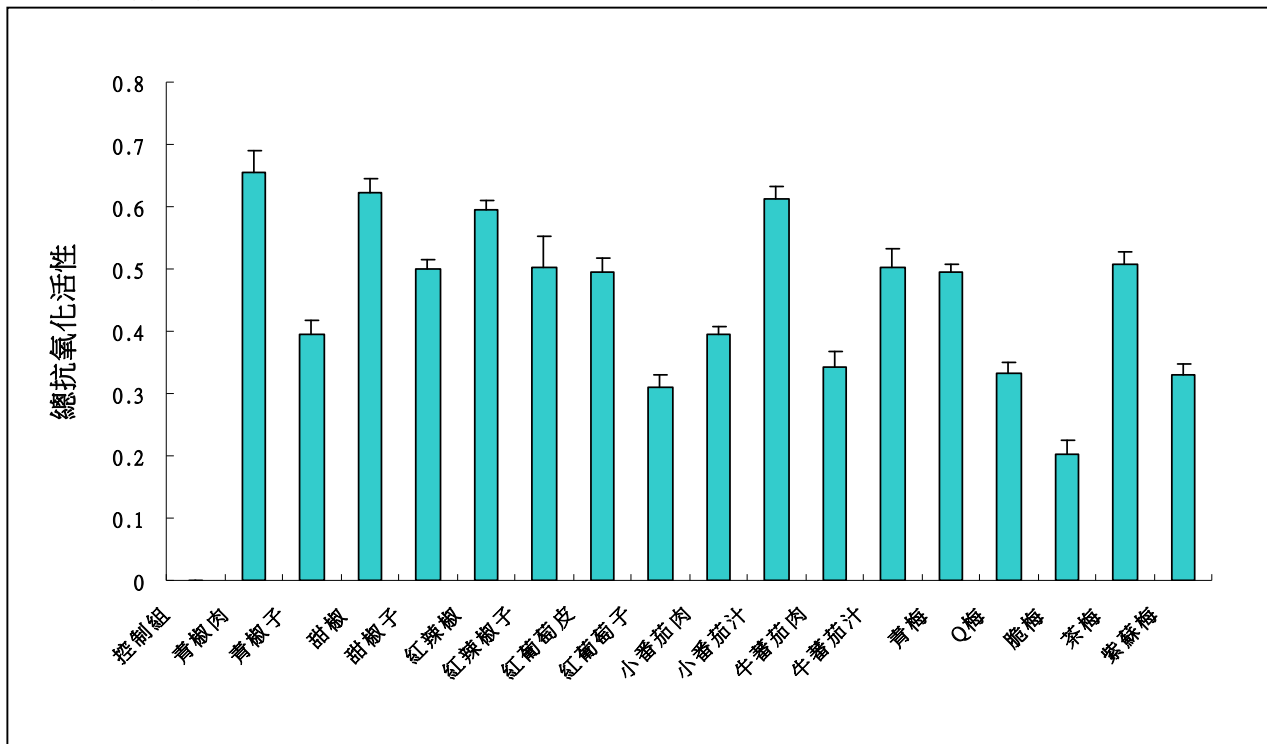


圖 5-3: 比較果類萃取物之總抗氧化力。資料以平均值 ±標準差 表示。

圖5-3比較果類萃取物之總抗氧化力，結果顯示椒類(青椒及甜椒)和葡萄皮的總抗氧化活性都比其種子的活性還高。反之，小番茄和牛番茄的汁液(含種子)卻比果肉(含皮)有較高的總抗氧化活性。在梅子樣品中，以青梅和茶梅含較高的總抗氧化活性(約與番茄汁液的活性相當)，其次是Q梅和紫蘇梅，而脆梅所含的總抗氧化活性最低。

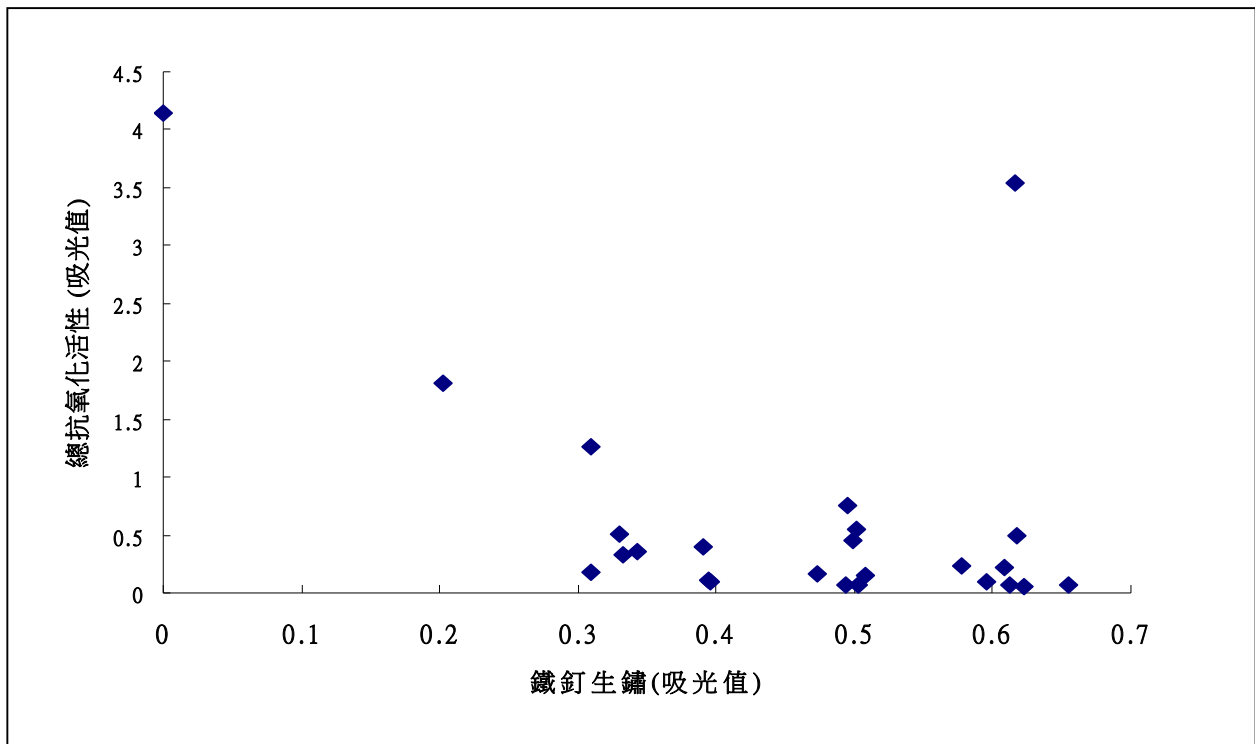


圖 5-4: 比較瓜果萃取物之總抗氧化活性與鐵釘生鏽測定的相關性。

在樣品與鐵釘生鏽反應一周後，我們擷取各樣品的反應液100ul，測定其吸光值 (OD405nm)，所得量化數值與其對應的總抗氧化活性(TAA)來做比較，由圖 5-4的結果顯示這二種測定方法的相關性頗高。

(三)測定樣品還原MTT試劑的能力:

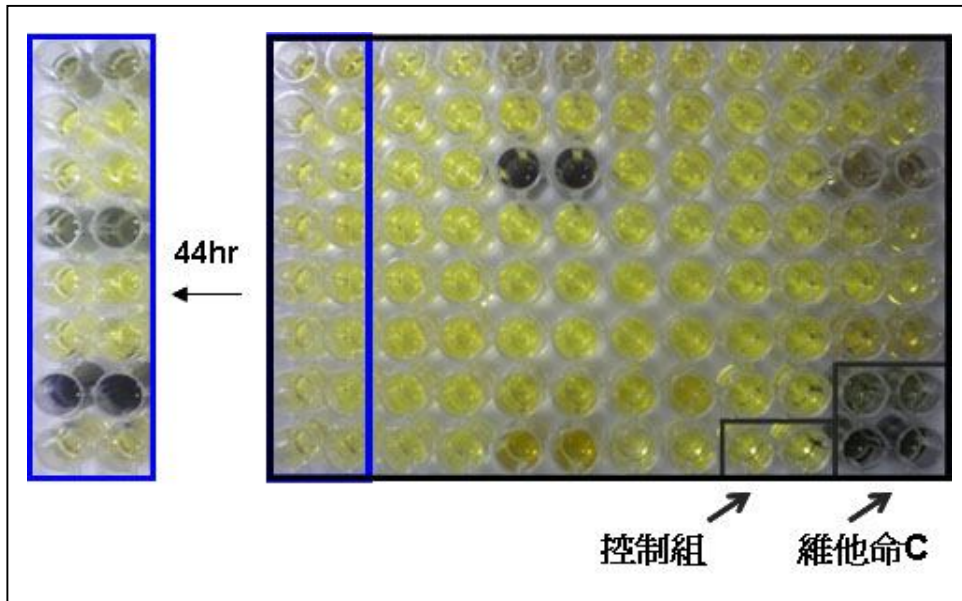


圖 5-5：MTT還原反應。測試樣品的還原力，在OD595 nm吸光值愈高，表示樣品還原力愈強。

我們先量測常用的抗氧化劑-維他命C 對MTT 的還原能力，將維他命C 加入PBS 溶液中與 MTT (5 mg/ mL)一起反應(0-42 小時)，此抗氧化劑在不含酵素的生理食鹽緩衝溶液中，在數分鐘內就將MTT 還原成藍色，維他命C濃度愈高，還原MTT 能力愈好，佐以光譜儀測595 nm 吸光值也得到證明 (圖5-5)。

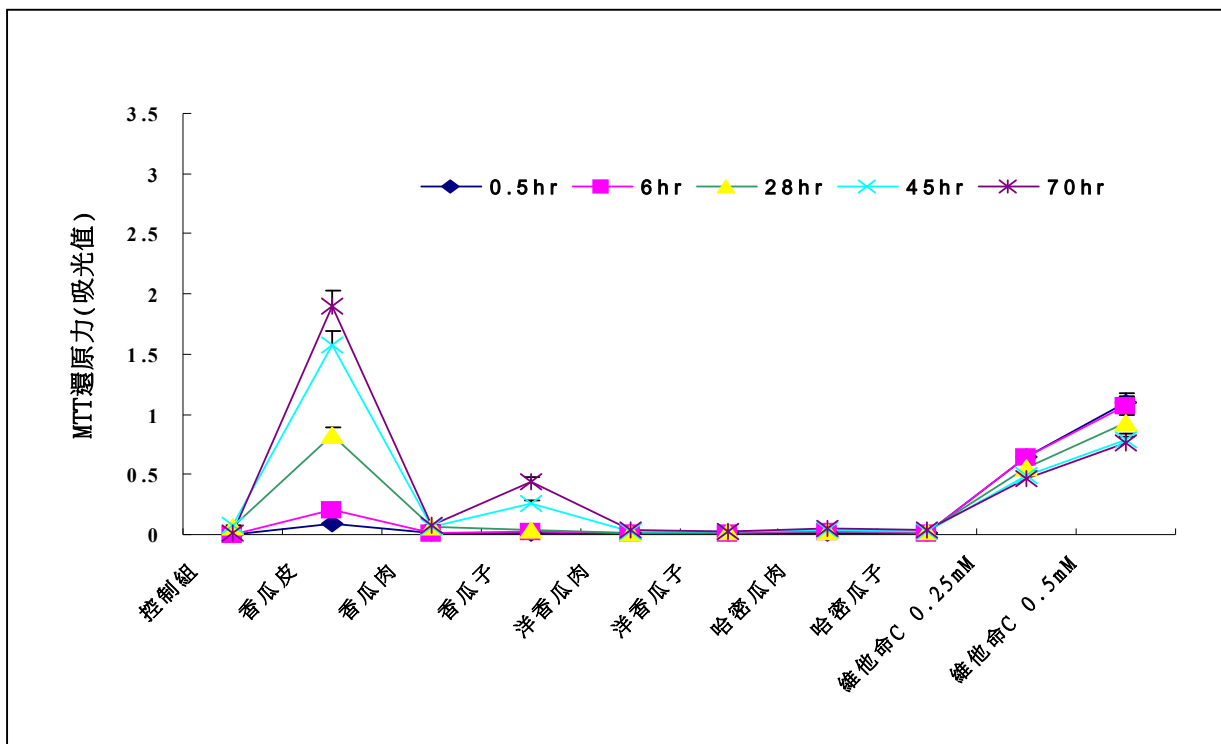


圖 5-6: 維他命 C 和瓜類萃取物影響 MTT 還原反應的程度與時間關係。



圖 5-6 顯示維他命 C 將 MTT 還原成藍色 formazan 的速度很快，反應在五分鐘內就幾乎完成。香瓜皮與香瓜子也具有還原 MTT 的能力(香瓜皮 > 香瓜子)，但其程度較弱而且速度也較慢，需要 >45 小時才達完成，香瓜肉、洋香瓜子及哈密瓜子都不具有還原 MTT 的能力。

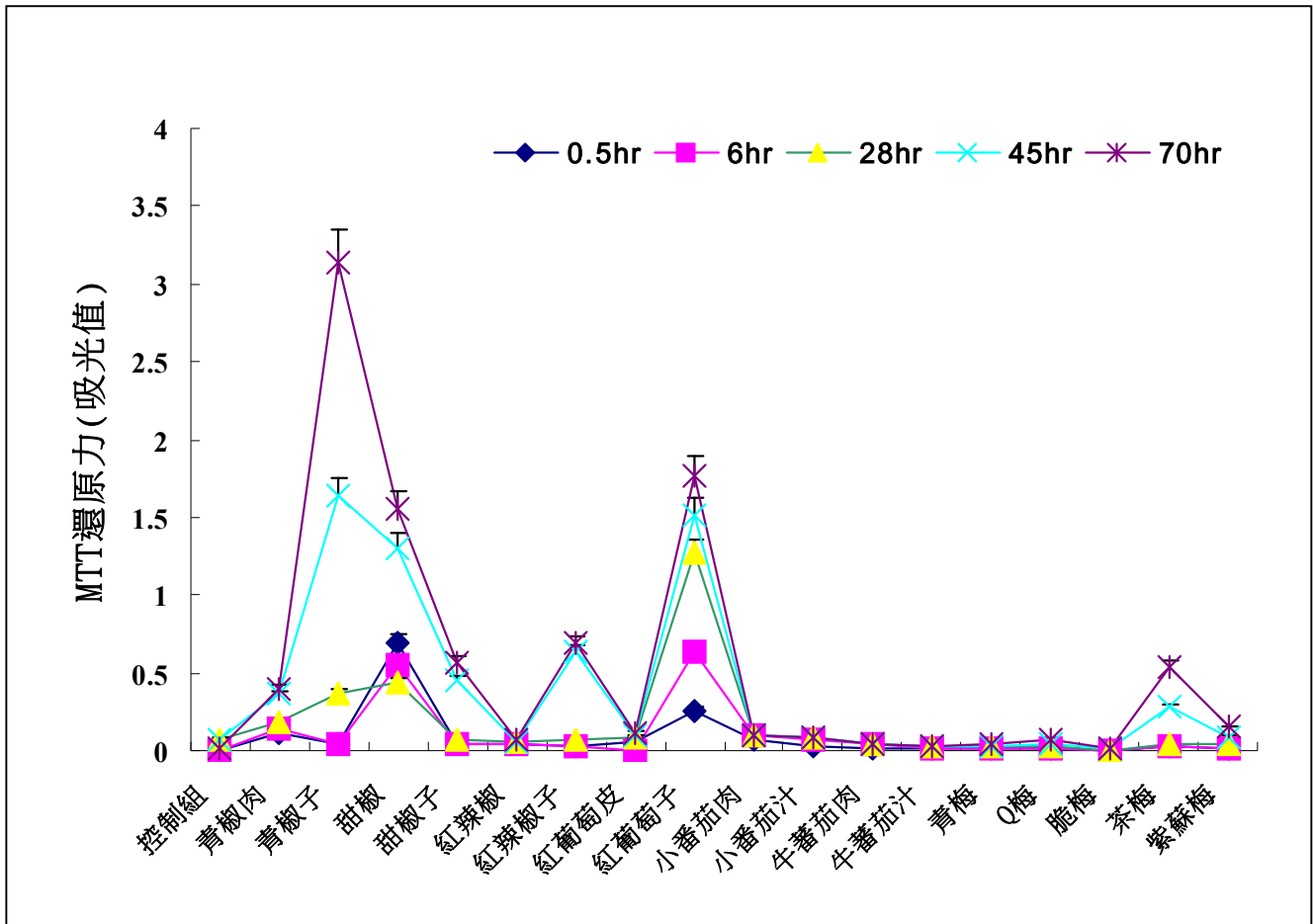


圖 5-7: 比較果類萃取物影響 MTT 還原反應與時間關係。資料以平均值 ±標準差 表示。

圖 5-7 顯示果類不同部位的 MTT 還原力具有明顯的差異，種子對 MTT 的還原力較高(例如青、甜或辣椒子)，甜椒肉也具有對 MTT 的還原力但是與維他命 C 還原 MTT 的速度相比仍舊緩慢許多，需要 2 天以上才能反應完成。



(三) 測定樣品抑制酪胺酸酶(Tyrosinase)活性: 我們以抑制酪胺酸酶活性的程度來測量瓜果萃  
取物的美白功效。

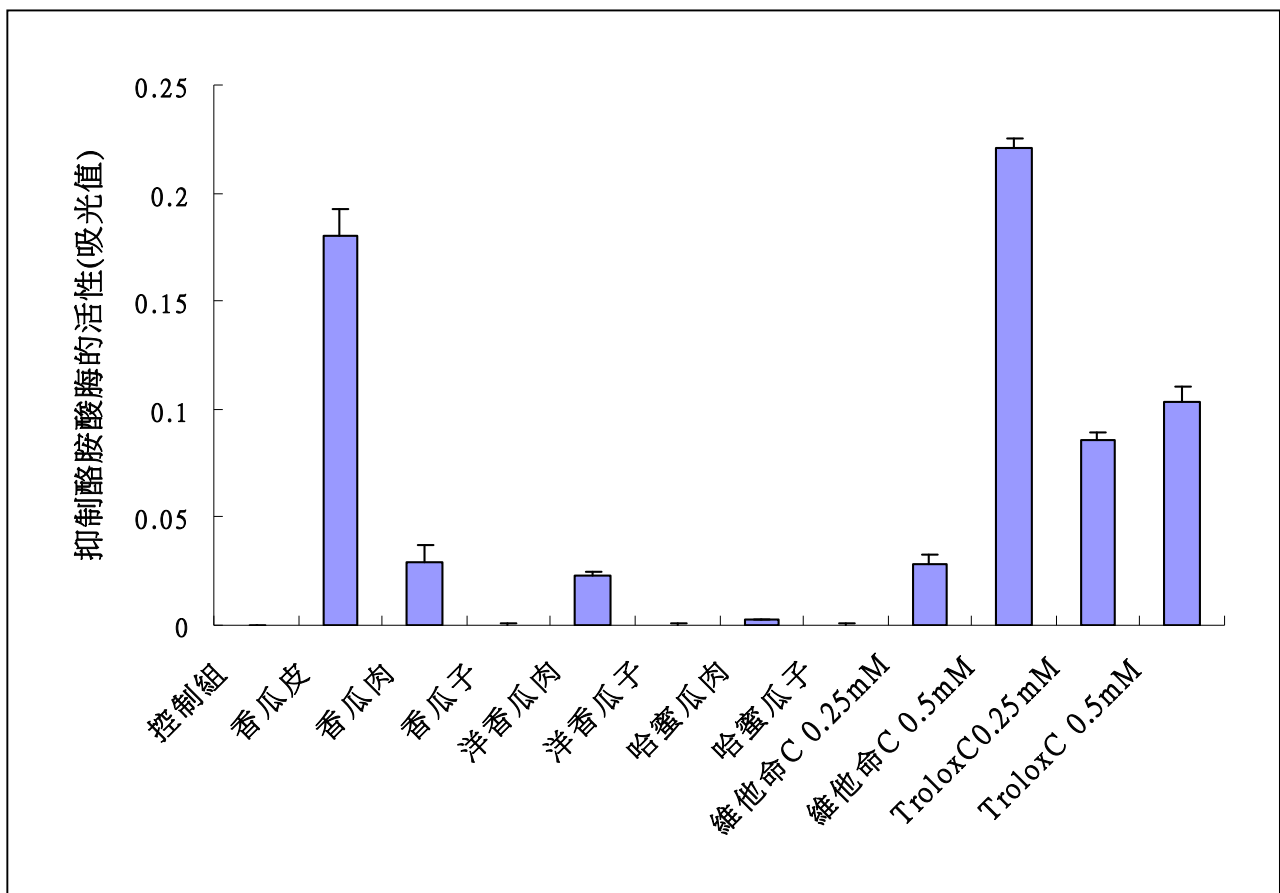


圖 5-8: 比較瓜類萃取物之抑制酪胺酸酶活性。資料以平均值  $\pm$ 標準差 表示。

圖 5-8 顯示香瓜皮或肉的水萃取物都能抑制酪胺酸酶的活性, 以香瓜皮的效果較佳, 大於 0.25 mM 維他命 C 的效果。

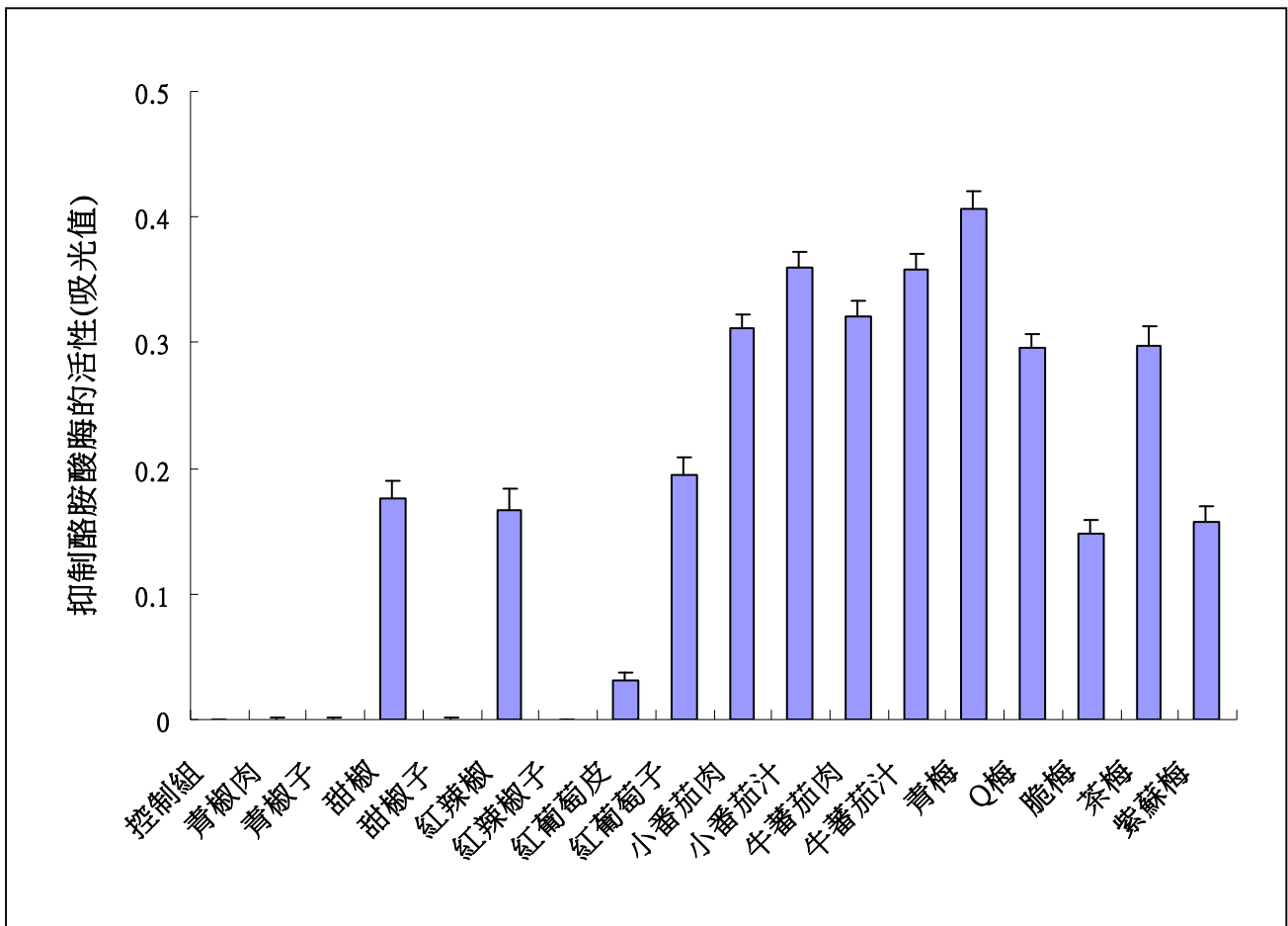


圖 5-9: 比較果類萃取物之抑制酪胺酸酶活性。資料以平均值  $\pm$  標準差 表示。

圖 5-9 顯示番茄的汁液和果肉都能有效的抑制酪胺酸酶活性，此與一般坊間的觀念與看法相吻合，其中，不論牛番茄或小番茄的汁液對酪胺酸酶活性的抑制都優於其茄肉。青梅抑制酪胺酸酶活性最佳，優於所有樣品，而醃漬梅也能抑制酪胺酸酶活性，其抑制效果與番茄的作用不相上下，以Q梅與茶梅的效果最佳。甜椒、紅辣椒及紅葡萄子都能抑制酪胺酸酶活性，其抑制效果雖低於番茄萃取物，但是仍比脆梅和紫蘇梅萃取物的抑制效果好。

(五)測定樣品的抑菌作用:

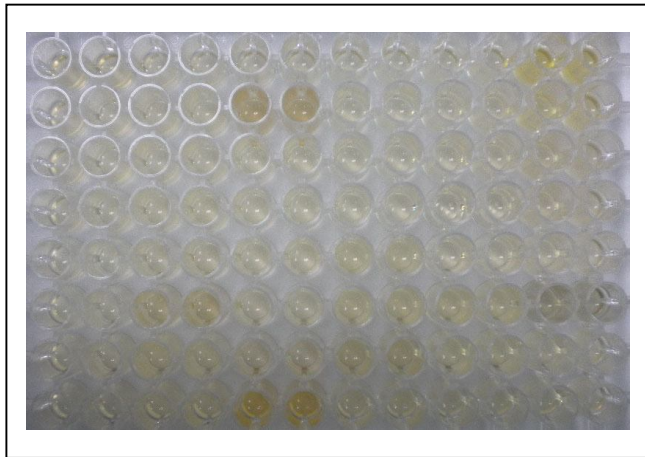


圖 5-10: 抑菌效果試驗

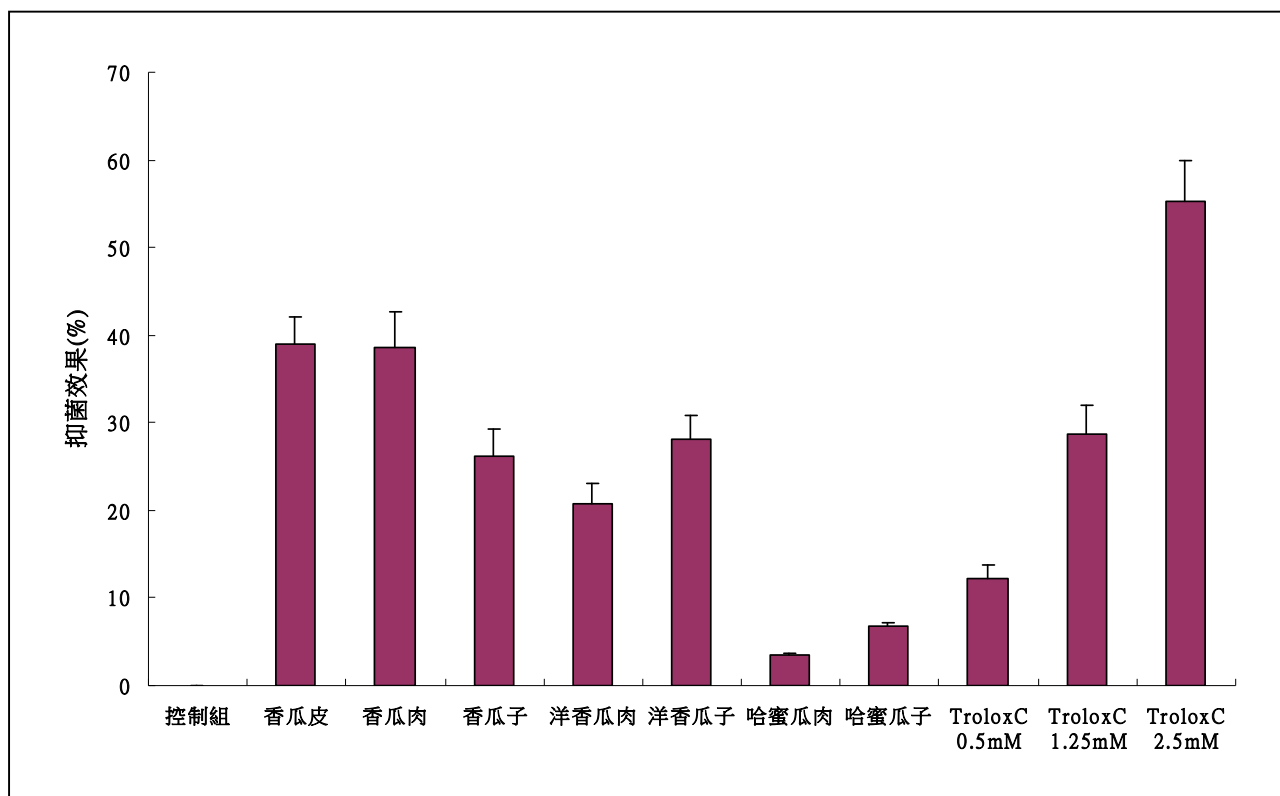


圖 5-11: 比較瓜類萃取物之抑制細菌效果。資料以平均值 ±標準差表示。

抑菌效果 (%): (控制組吸光值-樣品吸光值)/ 控制組吸光值 x100

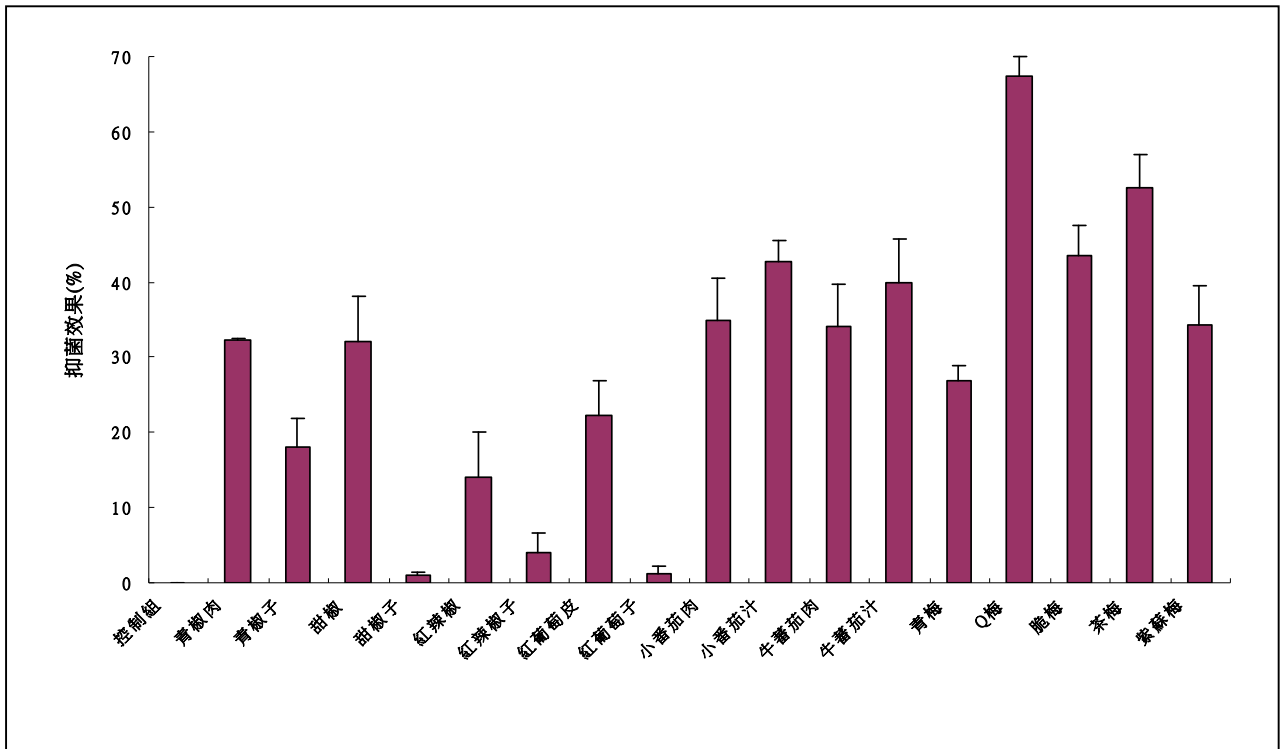


圖 5-12: 比較果類萃取物之抑制細菌效果。資料以平均值 ±標準差表示。

抑菌效果(%): (控制組吸光值-樣品吸光值)/ 控制組的吸光值 x100

我們測試樣品對埃希氏大腸桿菌 (*E. coli*) 的生長抑制效果。圖 5-10 是使用 96 孔盤並以盤式分析儀測試抑菌效果，圖 5-11 比較瓜類萃取物的抑制細菌效果，以水溶性維他命 E(trolox C) 當標準品，香瓜皮和香瓜肉的抑菌效果比香瓜子、洋香瓜子好，皆優於水溶性維他命 E (1.25mM) 的效果；而哈密瓜子最差。圖 5-12 比較果類萃取物的抑制細菌效果，以 Q 梅的抑菌效果最佳，其次是青椒肉、甜椒肉、脆梅、番茄及紫蘇梅，再次為青椒子、甜椒子、紅辣椒、紅辣椒子、紅葡萄皮、紅葡萄子。種子類以青椒子的抑菌效果(~18%) 較其餘果類種子的抑菌效果為佳。

#### (六)測定樣品的含糖量分析:

我們的醃漬梅（紫蘇梅、茶、脆或 Q 梅）水萃取物的含鹽量低但是含糖量可能比較高，因此我們使用手持式的糖度計來分析瓜果樣品的含糖量。所得結果列於表一中，所有梅子萃取物的含糖量都比較高，其中以脆梅的糖度最高(糖度 17)，次為茶梅與 Q 梅(糖度 15)，再次為紫蘇梅(糖度 13)。香瓜皮和肉的糖度約在 6~7，甜椒和小番茄的糖度是 4~5，葡萄皮的糖度是 3.5，其餘樣品的糖度 < 3。

由於所測試的樣品種類多達 24 種，又進行多種分析，為了能清楚的判讀實驗的結果，我們將所有分析結果的數據予以“+”量化，所得結果總結於表一中。

表一：瓜果水萃取物的生物活性。

樣品	糖 度	美白效果	抑菌效果	鐵釘生 鏽程度	總抗氧 化活性	MTT 還原力
控制組	0	-	-	+++++	-	-
香瓜皮	7	++++	+++++/-	-	++++/-	+++++++
香瓜肉	6	+/-	+++++/-	-	+++	+/-
香瓜子	1.5	-	+++	-	++++	++
洋香瓜肉	4	+/-	++	-	+++/-	< +/-
洋香瓜子	1	-	+++	++++	++++	< +/-
哈密瓜肉	4	< +/-	++	-	+++/-	< +/-
哈密瓜子	1.5	-	+++/-	+++	++++	< +/-
青椒肉	2.5	-	+++++/-	-	+++++/-	++
青椒子	2.3	-	++	-	+++	>+++++++
甜椒肉	4	++++	+++++/-	-	++++	+++++++
甜椒子	2	-	-	-	++++/-	+++/-
紅辣椒	2	+++++/-	+++/-	-	++++	+/-
紅辣椒子	2	-	+/-	-	+++++/-	+++
紅葡萄皮	3.5	+/-	+++/-	++	+++++/-	+/-
紅葡萄子	2.5	+++++/-	-	++	+/-	+++++++
小番茄肉	4	+++++++	++++	-	+++	+/-
小番茄汁	5	+++++++	++++	-	++++	+/-
牛番茄肉	2.5	+++++++	++++	-	++	< +/-
牛番茄汁	2.5	+++++++	+++++/-	-	+++++/-	< +/-
青梅	2.5	+++++++	+++	-	+++++/-	< +/-
Q 梅	15	+++++++/-	+++++++/-	-	+++/-	+/-
脆梅	17	+++++/-	++++	+++	++/-	-
茶梅	15	+++++++/-	++++	-	+++++/-	+++/-
紫蘇梅	13	+++++/-	++++	-	+++/-	+/-
維他命 C0.25 mM	n.d.	+/-	+++/-	++++	++/-	+++
維他命 C 0.5 mM	n.d.	++++	+++/-	n.d.	++++	++++

美白效果:抑制酪胺酸酶活性; MTT 還原力取用 70hr 反應的數值。除了抑菌效果 (以脆梅當五個“+”)以外,其餘都用維他命 C 0.5mM 的效果當基準(五個“+”)。“-“表示沒有效果,“+/-“表示 半個+, n.d.:沒有量測。

## 柒、討論

一、許多研究發現天然植物內也含多種活性物質,為了尋求具有美白及抗氧化等成份的天然物,本研究針對國產瓜果類的水萃取物,進行生物功能性之探討,包括抗氧化特性、美白效果等,並對其抑菌效果加以評估,希望能找到純天然、具有多功能性的保健聖品。首先將瓜果水萃取物進行體外抗氧化活性分析,我們發現瓜果水萃取物都具有良好的抗氧化能力。我們也針對瓜果類的水萃取物可能的美白功效(即抑制酪胺酸酶活性)來探討,因為人體膚色的控制主要來自黑色素,而黑色素的多寡與酪胺酸酶活性有密切關係。我們以盤式光譜分析法將之數據化,並以此判別瓜果成份對酪胺酸酶活性的影響,研究結果顯示,瓜果類的水萃取可以有效抑制酪胺酸酶之酵素活性。而且萃取物對酪胺酸酶抑制的機制為多功能性的,因為同時具有抗氧化能力及抑制酪胺酸酶活性,以達到減少黑色素生成。後續研究將進一步設計有效配方,並將結果應用於抗氧化或抗老化保養品及皮膚美白保養品的研發。

二、本研究所設定的實驗是以水為萃取媒介,使用以水為基質的水溶液(生理食鹽水)來萃取瓜果樣品,主要是考慮以最天然的方式進行,因為一般日常生活中用來飲食或敷裹,化學溶液都比較不適宜。本實驗所測試的樣品都是在低於室溫下萃取,因為低溫比較不會破壞水溶性的有效成份,但是低溫卻沒辦法萃取出較多的成分,一些比較油溶性或是需要在較高的溫度下才能溶解出來的成分將留在瓜果渣中。

三、有趣的發現,香瓜皮水萃取物兼具抗氧化、抑菌與美白效果,香瓜肉不僅香甜又含強抗氧化力亦具抗菌效用,所以食用香瓜時應該連皮一起服用效果較好。番茄水萃取物的抗氧化、抑菌與美白效果都強,我們的結果也印證了番茄對健康有所助益的效果。另外,瓜果不同部位的 MTT 還原力具有明顯的差異,種子對 MTT 的還原力較高,但是與維他命 C 還原 MTT 的速度相比仍舊緩慢許多,需要 2 天以上才能反應完成。此瓜果萃取液的 MTT 還原力顯然與其抗氧化效力有出入,因為物質抗氧化力,不完全來自還原力的大小,尚受其他因素的影響,如:清除自由基能力、捕捉過氧化氫能力、捕捉超氧陰離子能力等。

四、在本研究的測試樣品中以梅子（尤其是 Q 梅）的抑菌效果最佳，其次是番茄，再次為香瓜與椒類。本研究發現梅子具備抑菌作用，這與先前的許多研究結果吻合，例如在新鮮梅子與梅精的成分中都可發現 *munefural*，其對流感病毒中具有感染和蔓延作用的蛋白質「血凝素」(Hemagglutinin)和「酵素」(Enzymes)有阻止破壞的效果。另外，由於所有梅子萃取液的糖度都高(>13)，測試其抑菌作用時，可能會稍微改變測試液的滲透壓，我們在抑菌實驗所用的樣品體積小(只有 5 $\mu$ L)，估計其最終含糖量不會超過 25mM，我們也在抑菌實驗中測試添加 25mM 蔗糖並不會影響細菌的生長。有趣的發現，醃漬梅除了有強效的抑菌作用，也具備抗氧化與美白效果。

五、在本研究的測試樣品中以青梅(未加工的梅子)抑制酪胺酸酶的效果最佳，優於番茄(肉或汁)及其他樣品，然而青梅的抑菌效果卻遜於番茄、甜椒、青椒與香瓜皮，或許青梅於醃漬過程中生成了新的或較強的抑菌成分，值得將來再探討研究。

六、本研究使用生理食鹽水(phosphate-buffered saline，簡稱 PBS)來萃取所有樣品，主要因為它既是一種等張溶液(其滲透壓約 300 mOSm)又有維持酸鹼中性的緩衝效果。以 PBS 萃取的樣品比較不會影響各種生物活性測定的結果，未來，也可用此(等張)萃取液來測試其對皮膚或腸道細胞的功效，例如生長或毒性。

七、本研究找到數種天然食物皆具有抗氧化、抑菌(*E. coli*)與美白效果。本研究也證實瓜果萃取物在體外試驗中具有抗氧化、抗菌及抑制酪胺酸酶活性的能力。但是這些萃取液在體內是否仍然具備這些活性，需要進一步探討。本研究的結果可應用於保健、化妝保養品，極具發展潛力。可將此結果應用於日常生活、食品系統與臨床營養中，若常食用這幾種全方位食物不但可提高抗氧化能力，也可以預防細菌的感染或污染。

八、醃漬梅的美白效果與新鮮水果相比不遜色，多吃梅子可以養顏美容！梅子含有檸檬酸(citric acid)、蘋果酸(malic acid)和琥珀酸(succinic acid)，可促進人體新陳代謝。本研究發現醃漬酶兼具抗氧化、抑菌與美白效果，梅子既是一種天然機能性的食品，也可說是現代人的最佳養生聖品。



## 捌、結論

一、本研究的結果證實瓜果萃取物有抑制鐵釘生鏽的效果，未滴加萃取液的鐵釘比較快生鏽，顯示萃取液確實有延緩鐵釘生鏽氧化的速率，這和我們測定萃取液總抗氧化活性的強弱很有相關性。

二、瓜果萃取液還原MTT的速度緩慢，而維他命C還原MTT的速度快，在數分鐘內反應就完成。

三、除了測到番茄和葡萄的抑制酪胺酸酶能力，我們又發現香瓜皮、甜椒、青梅與醃漬梅的萃取液都有抑制酪胺酸酶活性的美白效果，其中以青梅的效果最佳，優於蕃茄。

四、有趣的發現，香瓜皮、甜椒、醃漬梅和番茄都能抑制細菌(*E. coli*)的生長。

由本研究結果可知，香瓜、甜椒、蕃茄與梅子皆為人所喜愛的食物，具有良好的抗氧化能力，對於皮膚保健與美白抑菌也有效果，經常食用，將會是一項既便宜、實用，又討人喜愛的健康食物。

## 玖、參考資料及其他

### 壹、中文部分

一、Clouatre, D. (民 90) 譯者/林榆。葡萄籽: 心血管的救星、抗氧化的奇兵。台北市: 世茂。

二、趙維企畫主編 (民 97)。吃對食物健康 100 分 (增訂版)。臺北市: 源樺。

三、鄭振鴻 (民 97)。台灣常用食物療效 180 種。臺北市: 聯經。

四、蔡文城 (民 91)。微生物學，藝軒圖書出版社, p 213 & p 383-519。

五、陳亦瑋（民91）。石蓮萃取物對洋菇酪胺酸酶活性影響之研究。靜宜大學應用化學研究所碩士論文，p10-14，未出版，台中市。

六、Zfnag (2010) 氧化不簡單(1)~鐵的燃燒與生鏽，取自：

<http://tw.myblog.yahoo.com/jw!pXwue4yIFhav2YOS.v0Afpc-/article?mid=4380>

七、什麼是自由基和活性氧？如何抗氧化？取自：

<http://www.huixiaoren.com/show/?23-674.html> (會銷園地)

八、實驗 4 質體 DNA 之基本操作技術，國立東華大學生命科學系，取自

<http://tns.ndhu.edu.tw/~life-science/exp/004.htm>

英文部分

九、Arnao, M.B., Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M.(1996) Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2'-azino-bis(3-ethylbenz thiazoline- 6-sulfonic acid) oxidation catalyzed by peroxidase: a new approach for determining total antioxidant status of foods. *Analytical Biochemistry* 236(2), 255-61.

十、Peng, L., Wang, B., Ren, P. (2005) Reduction of MTT by flavonoids in the absence of cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 45, 108 - 111

## 【評語】 040803

針對本土蔬果進行抗氧化、美白、抑菌等效能的檢測，驗證蔬果的功效，若能進一步理解其機制，將更能突顯其意義。