

中華民國第 53 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高中組 生物（生命科學）科

040704

山粉圓種子的“膜”衣秀

學校名稱：臺北市立大直高級中學

作者： 高二 陳亭臻 高二 陳筠佳 高二 韋怡婷	指導老師： 陳志郎
---	------------------

關鍵詞：山粉圓、種子外膜、多醣類分子

中華民國第 53 屆中小學科學展覽會作品說明書內容

作品名稱：山粉圓種子的“膜”衣秀

摘要

山粉圓種子表面有許多小凹陷結構，泡水時，纖維狀物從種子表面慢慢長出。能吸自身重量 23 倍的水量，保濕性長達 26 小時以上，在高或低溫乾燥後，仍具復水率 70% 以上。可附著在多種材質上，對土壤顆粒及細小貝殼有固著作用。

種子外膜在一般酸鹼溶液中保持穩定，遇強鹼會被溶解，和酸、醇溶液作用不明顯。可被果膠酶分解，和木瓜酵素有相互作用。主要由高分子多醣類組成，具許多分支，也含胺基酸、蛋白質、脂質及植物激素的先驅物。

正常環境下，去膜有助發芽，有膜延緩發芽，此與其對抗不適發芽的環境是否有關，尚待研究。種子外膜吸附性佳，會和多種色素及懸浮顆粒作用，未來有潛力應用於吸附汙染物、毒物，或利用其保濕性，發展面膜或藥布等醫藥產品。

壹、研究動機

- 一、在酷熱的夏天，為了消暑，家裡準備了一些山粉圓及檸檬水，在幫忙家人調製山粉圓時，觀察到將種子泡水後，它的四周會很快出現一層接近於白色的黏膜。到底這層黏膜是什麼東西呢？真的可以吃下去嗎？會不會黏在身體裡？令人忍不住想探索。
- 二、在高一基礎生物第六章裡我們學到生物與環境的關係，因此想到山粉圓種子有這層黏膜的目的會不會和它萌發的環境有關？它對種子本身可能有什麼功用？沒了它，山粉圓種子會怎樣？會一命嗚呼嗎？我們可以來觀察看看。
- 三、在高二選修生物第四章裡我們學到植物的生殖、生長與發育，對種子的萌發有進一步的認識，希望可藉著研究驗證一下。
- 四、山粉圓種子除了食用，還可能會有什麼其他用途？很值得我們去發掘看看。

貳、研究目的

- 一、瞭解山粉圓種子外膜的構造與性質，包括：外觀、吸水能力、保濕能力、復水能力、延展能力、黏著力、對不同溶液的反應、對不同酵素的反應及其組成分析。
- 二、觀察山粉圓種子外膜對種子發芽的影響，探討外膜可能扮演的角色。
- 三、探究山粉圓種子外膜的吸附能力，思考食用之外可能的應用方向。

參、研究設備及器材

- 一、設備：
解剖顯微鏡 (Nikon YS 2-H)、電子天秤、pH 計、試管震盪機 (Vortex)、離心機 (Hitach)、烘箱、冷凍乾燥機、無菌操作台、恆溫培養箱、全波長微量光譜儀 (P class, Implen)、振盪機 (Shaker)、串聯式質譜儀 (超高效液相層析系統 Mltimate 3000 RSLC, Dionex；電噴灑離子化來源之四極桿飛行時間質譜系統 ESI-TOF MS，maXis HMR-QToF system, Bruker Daltonics)、均質機 (bullet blender, Nextadvance)
- 二、器材：
秤量紙、秤量匙、微量吸管、各式吸嘴、離心管 (50ml、15ml、1.5ml)、離心管架、試管架、培養皿、棉花球、吸水濾紙 (3M)、拭淨紙、鑷子、比色管、各種材質物料 (如玻璃、布、紙、塑膠、棉花、鋁箔、保鮮膜等)、土壤、細小貝殼
- 三、生物材料：
山粉圓 (*Hyptis suaveolens* L.Poit)

四、藥品：

去離子水、HCl 溶液 (6N、1N、0.1N)、NaOH 溶液 (6N、1N、0.1N)、甲醇、乙醇、10% 十二烷基硫酸鈉鹽 (Sodium dodecyl sulfate, SDS)、1.8% 果膠酶 (pectinase)、10% 木瓜酵素 (papain)、2 mg/ml 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、蛋白質定量試劑 (Protein Assay Dye Reagent Concentrate, Bio-Rad)、黃色 4 號、紅色 6 號。

肆、研究過程或方法

一、山粉圓種子外膜外觀的研究

- (一) 用肉眼及解剖顯微鏡觀察山粉圓種子外膜吸水前及吸水後的型態。
- (二) 用衛生紙擦拭種子外膜，看是否容易去除乾淨。

二、測量山粉圓種子外膜的吸水能力

- (一) 選取 20 顆大小相似的種子為一組，共五組，分別秤重。
- (二) 將 10 支 15 ml 離心管分別秤重，記錄各支的空重。
- (三) 把 5 組種子分別放入 5 支離心管內再秤一次重，記錄各支的總重。
- (四) 每支離心管分別加入 3 ml 去離子水，用試管震盪機震盪 1 小時，讓每顆種子都能充分吸飽水分。
- (五) 以 2,300 rpm 離心 10 分鐘。
- (六) 用微量吸管將沉澱種子上層多餘的水分吸出，分別放入剩餘的 5 支空離心管內量測體積。
- (七) 將殘留種子的離心管再個別秤重，記錄下來。
- (八) 由總重差，計算平均每顆種子的吸水量，換算成吸水增重百分比，代表種子的吸水能力。
- (九) 重複以上實驗 3 次。

三、測量山粉圓種子外膜的保濕能力

- (一) 選取 20 顆大小相似的山粉圓在投影片上分開排列。
- (二) 各滴 200 μ l 水使外膜充分吸水 (必要時翻動一下種子使吸水均勻)。
- (三) 對照組：200 μ l 水 (3 重複)。
- (四) 記錄開始的時間。
- (五) 記錄乾燥後的時間。
- (六) 計算乾燥所需的時間。

四、測量山粉圓種子外膜的復水能力

- (一) 以 20 顆種子為一組，置入離心管內飽吸水分後，置入培養皿中，於無菌操作台裡進行剝膜處理：用鑷子輕輕把種子周圍的外膜刮取下來，再將剝下的外膜置入離心管中備用。

- (二) 將含有外膜的離心管稍作離心，趕走氣泡，以減少誤差。
- (三) 用鑷子從離心管中取出 0.5 ml 外膜，置入 1.5 ml 離心管中秤重。
- (四) 依上述方法共準備 10 支裝有 0.5 ml 外膜的 1.5 ml 離心管。
- (五) 將上述離心管分為 A、B 兩組，每組各 5 支。
- (六) 將 A 組的 5 支離心管放入烘箱，以 50°C 烘乾處理 2 天，然後取出秤重。
- (七) 將 B 組的 5 支離心管放入 -20°C 冰櫃約 21 小時，待其完全結凍，接著在真空度 100、溫度 -40°C 下進行冷凍乾燥處理約 19 小時，待其完全乾燥，然後取出秤重。
- (八) 用微量吸管吸取去離子水滴入每支離心管中，直至溶液體積至 0.5 ml 為止。
- (九) 用吸嘴輕輕把外膜和水攪勻，以利外膜充分吸到水。
- (十) 稍微離心後將多餘水分吸出，秤重，即得復水後的總重。
- (十一) 將復水後的總重減掉烘乾或冷凍乾燥後的總重，即得到不同乾燥方式下，外膜復水能吸收的水量。
- (十二) 另外準備 5 支離心管各置入 20 顆飽吸水的剝膜種子，作為 C 組。將 C 組重複上述 A 組烘乾再吸水的過程，測量復水的吸水量。

五、測量山粉圓種子外膜的延展能力

- (一) 將飽吸水分的山粉圓種子，分別用鑷子夾住，在乾淨的拭淨紙上拖拉，直到膜被完全拭淨。
- (二) 然後量測其路徑長度，取平均值。

六、測量山粉圓種子外膜對各種材質的黏著力：

- (一) 將飽吸水分的山粉圓種子瀝乾多餘的水分。
- (二) 把種子平放在不同材質的物料上。
- (三) 把物料垂掛，觀察山粉圓種子是否滑落。

七、測量山粉圓種子外膜對土壤及細小貝殼的黏著力：

- (一) 將飽吸水分的山粉圓種子分別放入裝有土壤或細小貝殼的培養皿中。
- (二) 觀察山粉圓種子外膜黏著土壤或細小貝殼的情形。

八、觀察山粉圓外膜對不同化學溶液的反應：

- (一) 測量山粉圓外膜的 pH 值。
- (二) 準備數支 1.5 ml 離心管，每支皆放入飽吸水分的山粉圓種子或剝下的 0.1 ml 膜備用。
- (三) 準備不同成分或濃度的化學溶液，如 HCl 溶液 (6N、1N、0.1N)、NaOH 溶液 (6N、1N、0.1N)、甲醇、乙醇、10% 十二烷基硫酸鈉鹽 (Sodium dodecyl sulfate, SDS)。
- (四) 在每支離心管中，加入一種化學溶液，震盪混勻，觀察膜在不同化學溶液中的變化。

九、觀察山粉圓外膜對不同酵素的反應：

- (一) 準備數支 1.5 ml 離心管，每支皆放入飽吸水分的山粉圓種子或剝下的 0.1 ml 膜備用。
- (二) 準備不同酵素溶液，如 1.8% 果膠酶 (pH=4.0)、10% 木瓜酵素。
- (三) 在每支離心管中，加入一種酵素溶液，震盪混勻，觀察膜在不同酵素溶液中的變化。

十、山粉圓外膜的組成分析

(一) 蛋白質定量分析

1. 將飽吸水的山粉圓種子之外膜小心用鑷子剝下，分裝成每管 0.1 ml 膜備用。
2. 取 1 管加入 0.1 ml 去離子水混勻，另 1 管加入 0.1 ml 乙醇混勻。
3. 以均質機打碎 (轉速：8，時間：6 分鐘)
4. 以 13,000 rpm 離心，取上清液備用。
5. 將蛋白質定量試劑稀釋 5 倍，過濾備用。
6. 以 2 mg/ml BSA 配製 5 支不同濃度的蛋白質標準液 (500 $\mu\text{g/ml}$ 、250 $\mu\text{g/ml}$ 、125 $\mu\text{g/ml}$ 、62.5 $\mu\text{g/ml}$)。
7. 從 5 支標準液及 2 支持測液中各吸取 30 μl ，分別加入不同的乾淨離心管內，每個樣本三重複。
8. 在每個樣本內分別加入 10 μl 0.1N NaOH 及 800 μl 蛋白質定量試劑稀釋液。
9. 將樣本混勻，在室溫反應 20 分鐘。
10. 以光譜儀測定波長 595 nm 的吸光值。
11. 以蛋白質標準溶液的濃度為橫軸 (單位： $\mu\text{g/ml}$)，吸光值為縱軸，作出標準直線圖，並計算出標準直線的方程式及相關係數 R 平方值。
12. 將待測液的吸光值代入上述標準直線方程式中求出蛋白質濃度。

(二) 質譜分析

1. 樣品製備：
 - (1) 取 0.1 ml 山粉圓外膜加入 400 μl 1.8% 果膠酶 (pH=4.0) 作用 1 小時。
 - (2) 取 100 μl 經或未經果膠酶處理的膜溶液，各加入 300 μl 100% 甲醇混勻，連續震盪 5 分鐘。
 - (3) 以 14,000 rpm 離心 10 分鐘，吸取上清液 300 μl 進行真空乾燥。
 - (4) 乾燥後的樣品回溶於 50 μl 超純水，持續震盪 5 分鐘。
 - (5) 以 14,000 rpm 離心 10 分鐘，吸取 10 μl 上清液上機。
2. 上機條件：
 - (1) 溫度 4°C。
 - (2) 管柱 HSS T3 (C18) column (2.1 x 100 mm, Walters)。
 - (3) 管柱平衡：1% B (0.1% formic acid in ACN) 4 分鐘
 - (4) 流析液：開始時以 99% 移動相 A (0.1% formic acid in ultrapure water) 和

1% 移動相 B (0.1% formic acid in ACN)，以此條件維持 0.5 分鐘後，提高到 60% B 進行 6 分鐘，接著在 90% B 進行 0.5 分鐘，維持在 90% B 進行 1.5 分鐘，最後降到 1% B 進行 0.5 分鐘。

- (5) 流速：0.4 ml/min
- (6) 注入樣品體積：10 μ l
- (7) 電壓：正離子 4500 V
- (8) 乾溫：190 $^{\circ}$ C
- (9) 乾氣體流：8 L/min
- (10) 霧化器：1.4 bar
- (11) 荷質比範圍：100-1000 m/l

3. 數據分析

使用原廠提供的分析軟體 TargetAnalysis and DataAnalysis software (Bruker Daltonics)。

- (1) 將每個訊號的面積進行積分。
- (2) 依據荷質比與已知的化合物資料庫比對，標出每個訊號所代表的化合物名稱。

十一、觀察山粉圓外膜對種子萌發率及幼苗生長的影響

(一) 種子去膜處理對萌發率及幼苗生長的影響

1. 設置種子萌發管：取 30 支 50ml 離心管，依序自管底置入一顆棉球、一片 3cm \times 3cm 的脫脂棉及覆蓋一張 2.5cm \times 2.5cm 的濾紙，最後加入 4ml 的去離子水。
2. 以 12ml 去離子水浸泡 30 顆山粉圓種子 15 分鐘。
3. 取其中 15 顆種子去膜。
4. 將萌發管分為 2 組，每組 15 支
5. 第一組為將 15 顆正常的山粉圓種子分別放入 15 支佈置好的萌發管內。
6. 第二組為將 15 顆去膜的山粉圓種子分別放入 15 支佈置好的萌發管內。
7. 蓋上蓋子後(蓋子旋鬆不緊閉)，放入恆溫 30 $^{\circ}$ C 的黑暗生長箱中。
8. 觀察紀錄種子萌發率及幼苗生長狀況。

(二) 種子增膜處理對萌發率的影響

1. 設置種子萌發管：取 20 支 50ml 離心管，依序自管底置入一顆棉球、一片 3cm \times 3cm 的脫脂棉及覆蓋一張 2.5cm \times 2.5cm 的濾紙，最後加入 4ml 的去離子水。
2. 以 12ml 去離子水浸泡 35 顆山粉圓種子 15 分鐘。
3. 取其中 15 顆山粉圓種子剝膜，並分成一顆種子的膜量 5 份，兩顆種子的膜量 5 份。
4. 再取其中 5 顆種子去膜。
5. 將萌發管分為 4 組，每組 5 支。

6. 第一組為將 5 顆去膜的山粉圓種子分別放入 5 支佈置好的萌發管內。
7. 第二組為將 5 顆正常的山粉圓種子分別放入 5 支佈置好的萌發管內。
8. 第三組為將 5 顆正常的山粉圓種子分別放入 5 支佈置好的萌發管內，並加入事先剝好的一顆種子的膜量（共二倍膜量）。
9. 第四組為將 5 顆正常的山粉圓種子分別放入 5 支佈置好的萌發管內，並加入事先剝好的兩顆種子的膜量（共三倍膜量）。
10. 蓋上蓋子後(蓋子旋鬆不緊閉)，放入恆溫 30°C 的黑暗生長箱中。
11. 觀察紀錄種子萌發率。

十二、探究山粉圓外膜的吸附能力

(一) 對有色溶液或果汁、飲料的吸附能力

1. 準備數支 1.5 ml 離心管，每支皆放入飽吸水分的山粉圓種子或剝下的 0.1ml 膜備用。
2. 準備數種有色溶液，如黃色 4 號、紅色 6 號、新鮮果汁、有色飲料等。
3. 在每支離心管中，加入一種有色溶液，震盪混勻，觀察膜在不同的有色溶液中的變化。
4. 取出山粉圓種子，放入培養皿中，加入去離子水清洗，觀察褪色的情形。
5. 使用光譜儀偵測種子或膜吸附前後，有色溶液的吸收光譜之變化。
6. 將膜加入木瓜酵素溶液作用，比較作用前後的上清液之吸收光譜。
7. 將經過木瓜酵素溶液作用後的膜加入有色溶液，比較吸收光譜之變化。

(二) 對固態粉末粉筆灰及粉筆灰懸浮液之吸附能力

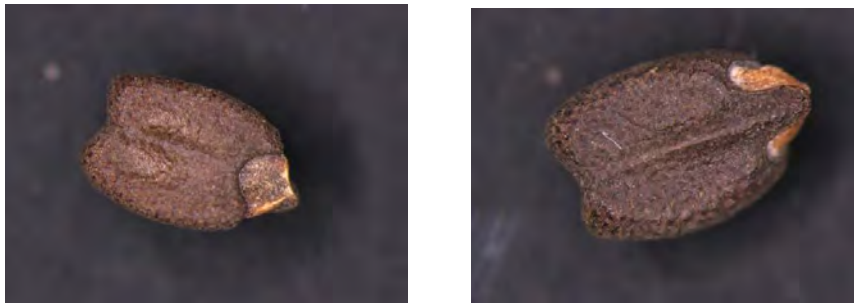
1. 取 10 支 50 ml 離心管分別秤重，編號 1 到 10。
2. 以研鉢製作白、紅、黃、藍、棕五種不同顏色的粉筆灰，每 0.1g 為一份，每種顏色準備 2 份，依序倒入離心管中。
3. 取山粉圓種子 10 顆為 1 包，共 10 包，皆秤重。每支離心管倒入 1 包。
4. 搖晃混勻，每管各取出 1 顆種子，觀察乾的種子是否會吸附粉筆灰，然後放回。
5. 每支離心管各加入 1ml 蒸餾水，震盪混勻。
6. 將離心管秤重。
7. 取出 10 顆種子，觀察其變化。
8. 將離心管秤重。
9. 取 10 個培養皿分別秤重，編號 1 到 10。
10. 將離心管中的溶液依編號倒入培養皿內，並將之攤平，置烘箱以 30°C 烘 15 小時，讓培養皿中的水分乾掉。
11. 取出培養皿秤重，計算沒有被吸附的粉筆灰重量，回推被吸附的粉筆灰重量及吸附增重百分率。

伍、研究結果

一、山粉圓種子外膜外觀的研究

(一) 用肉眼及解剖顯微鏡觀察山粉圓種子外膜吸水前及吸水後的型態：

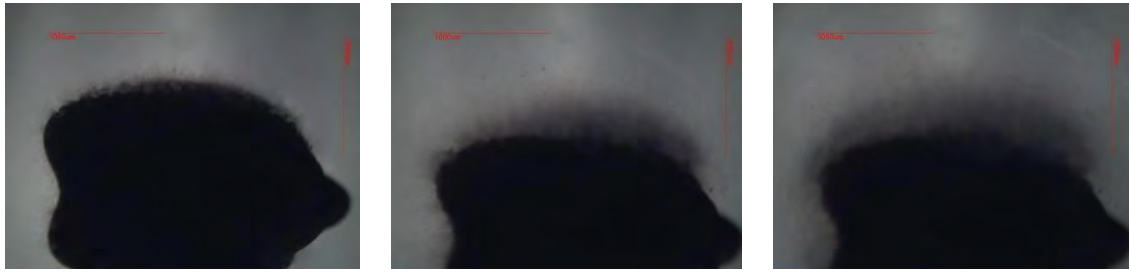
1. 山粉圓種子外膜吸水前用肉眼看不出膜，放在顯微鏡下觀察，也看不出膜，但觀察到種子表面有許多小凹陷結構（圖一）。
2. 泡水時，肉眼可見種子表面慢慢出現白色膜狀物，而且具黏性。在光線下隱約看到呈現網狀的細長纖維隨水撥動而漂動，不過，在種子尖尖的部分不會有黏膜（圖二）。
3. 在複式顯微鏡下連續觀察，發現纖維狀物從種子表面慢慢長出，越來越多（圖三 A）。並紀錄泡水後不同時間點的外膜發展狀態（圖三 B）。
4. 萌發時就從種子無膜的尖尖部分裂開，像是設計好的（圖四）。



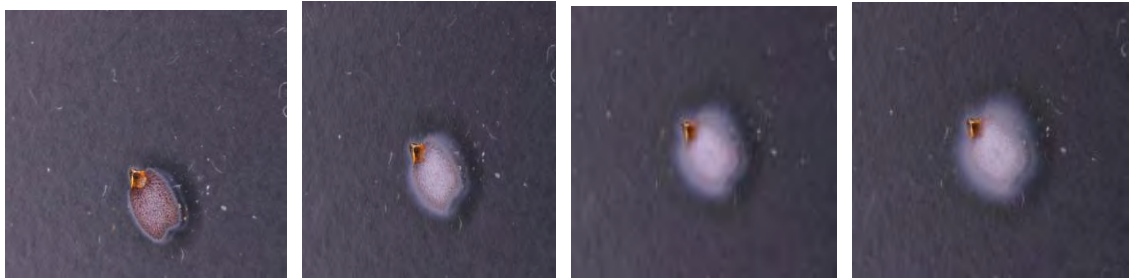
圖一 山粉圓種子泡水前的顯微照片



圖二 山粉圓種子泡水後的普通相機照片



圖三 A 山粉圓種子泡水後的複式顯微鏡照片

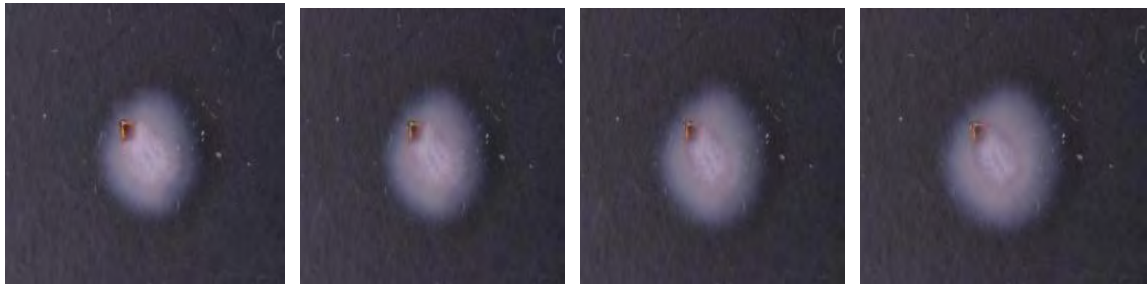


5 秒鐘

10 秒鐘

30 秒鐘

1 分鐘



2 分鐘

3 分鐘

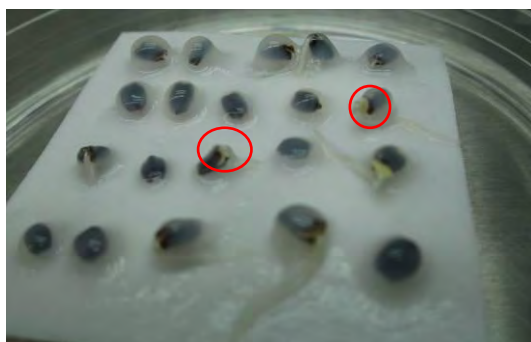
5 分鐘

8 分鐘



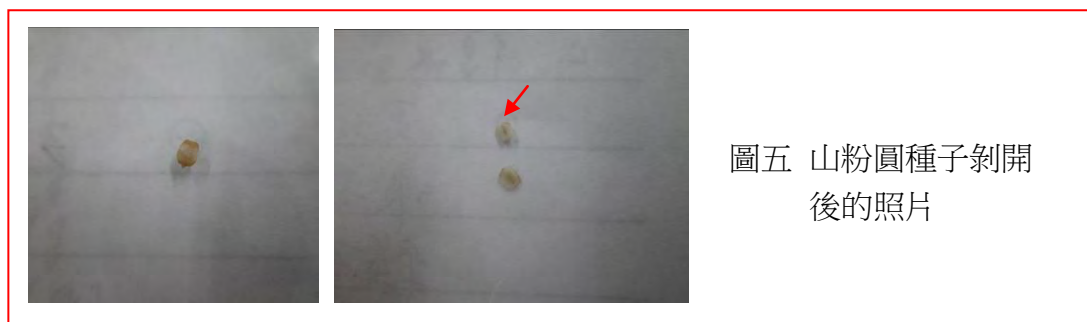
2.5 小時

圖三 B 山粉圓種子泡水後外膜發展狀態的顯微照片



圖四 山粉圓種子萌發時，先從無膜的尖尖部分裂開，然後伸出胚根。

(二) 用衛生紙擦拭種子外膜，可以去除掉絕大部分，接著用鑷子把種皮剝開，看到典型雙子葉植物的種仁構造，再將兩片子葉剝開，露出完整的胚（圖五）。



圖五 山粉圓種子剝開後的照片

二、山粉圓種子外膜的吸水能力

將盛有飽吸水種子的離心管總重，減掉盛有未吸水種子的離心管總重，然後除以 20 顆乾種子重，得到每顆乾種子的吸水能力（表一）。實驗結果顯示種子的飽吸水量差異不大，平均為 0.106 ml，而吸水後平均每顆種子的增重百分比可達 2292%，也就是 23 倍，足見山粉圓種子外膜的吸水能力很強。

表一 山粉圓種子的吸水能力

編號	空瓶重 g	未吸水總重 (乾種子重 +瓶重) g	20 顆乾種子 重 g	20 顆乾種子 吸水量 ml	飽吸水總重 (濕種子重 +瓶重) g	每顆種子 吸水量 ml
A-1	6.2152	6.3164	0.1012	2.200	8.4025	0.110
A-2	6.2345	6.3159	0.0814	1.800	8.1958	0.090
A-3	6.2137	6.3015	0.0878	1.800	8.2366	0.090
A-4	6.2344	6.3096	0.0752	2.185	8.2786	0.109
A-5	6.2435	6.3367	0.0932	1.800	8.4214	0.090
B-1	6.2333	6.3229	0.0896	2.135	8.5365	0.107
B-2	6.2081	6.2887	0.0806	2.270	8.3713	0.114
B-3	6.2534	6.3396	0.0862	1.960	8.3717	0.098
B-4	6.2588	6.3628	0.1040	2.400	8.6400	0.120
B-5	6.2201	6.3285	0.1084	2.100	8.1987	0.105
C-1	6.2550	6.3443	0.0893	2.200	8.4066	0.110
C-2	6.2496	6.3489	0.0993	2.370	8.6460	0.119
C-3	6.2452	6.3345	0.0893	2.295	8.2892	0.115
C-4	6.2564	6.3365	0.0801	1.900	8.3043	0.095
C-5	6.2410	6.3234	0.0824	2.400	8.5327	0.120
總平均	6.2375	6.3281	0.0899	2.121	8.3888	0.106
增重百分比	$100\% \times (8.3888 - 6.3281) \div 0.0899 = 2292\%$					

三、山粉圓種子外膜的保濕能力

將 20 顆大小相似且飽吸水分的山粉圓種子放在投影片上排開，置室溫自然風乾，觀察發現純水滴風乾時間是 24 小時，而山粉圓種子飽吸水的外膜則平均約需經過 26 小時以上才會幾乎乾掉。每顆種子外膜的乾燥程度，會因為種子的形狀或大小，而稍有差異。

四、山粉圓種子外膜的復水能力

將 A、B 組各 5 支離心管分別烘乾 (見表二) 及冷凍乾燥 (見表三) 後稱重，經復水並吸出多餘的水分再稱重，得到復水後所能吸收的水量，發現烘乾後能吸收的水分明顯比冷凍乾燥的少 (74.5695% : 94.9352%)，但是飽吸水的 C 組不剝膜種子烘乾處理後的復水能力介於其間 (84.2458%) (見表四)。

表二 0.5ml 山粉圓外膜烘乾處理後的復水能力

編號	空瓶重 g	膜+空瓶重 g	膜淨重 g	烘乾後總重 g	原來吸水量 g	復水後重量 g	復水吸水量 g	復水率 (%)
A-1	1.0072	1.5017	0.4945	1.0121	0.4896	1.3504	0.3383	69.0972
A-2	1.0022	1.4813	0.4791	1.0076	0.4737	1.3600	0.3524	74.3931
A-3	1.0700	1.5319	0.4619	1.0742	0.4577	1.4680	0.3938	86.0389
A-4	1.0006	1.4870	0.4864	1.0048	0.4822	1.3513	0.3465	71.8582
A-5	0.9792	1.4873	0.5081	0.9852	0.5021	1.3440	0.3588	71.4599
平均	1.0118	1.4978	0.4860	1.0168	0.4811	1.3747	0.3580	74.5695

表三 0.5ml 山粉圓外膜冷凍乾燥處理後的復水能力

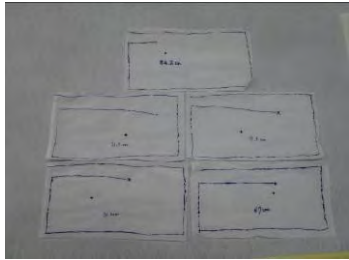
編號	空瓶重 g	膜+空瓶重 g	膜淨重 g	冷凍乾燥後總重 g	原來吸水量 g	復水後重量 g	復水吸水量 g	復水率 (%)
B-1	0.9816	1.4930	0.5114	0.9869	0.5061	1.4656	0.4787	94.5861
B-2	1.0070	1.5199	0.5129	1.0111	0.5088	1.4986	0.4875	95.8137
B-3	0.9973	1.5313	0.5340	1.0026	0.5287	1.5082	0.5056	95.6308
B-4	1.0031	1.5299	0.5268	1.0081	0.5218	1.5086	0.5005	95.9180
B-5	0.9835	1.5295	0.5460	0.9905	0.5390	1.4903	0.4998	92.7273
平均	0.9945	1.5207	0.5262	0.9998	0.5209	1.4943	0.4944	94.9352

表四 20 顆飽吸水的剝膜種子烘乾處理後的復水能力

編號	空瓶重 g	(乾種子+空瓶)重 g	(飽吸水種子+空瓶)重 g	烘乾後總重 g	原來吸水量 g	復水後總重 g	復水吸水量 g	復水率 (%)
C-1	6.2152	6.3164	8.4025	6.3109	2.0861	8.1208	1.8099	86.7600
C-2	6.2345	6.3159	8.1958	6.3098	1.8799	7.9958	1.6860	89.6856
C-3	6.2137	6.3015	8.2366	6.2959	1.9351	7.8324	1.5365	79.4016
C-4	6.2344	6.3096	8.2786	6.3052	1.9690	7.8932	1.5880	80.6500
C-5	6.2435	6.3367	8.4214	6.3298	2.0847	7.9955	1.6657	79.9011
平均	6.2283	6.3160	8.2831	6.3103	1.9671	7.9675	1.6572	84.2458

五、山粉圓種子外膜的延展能力

在乾淨的拭淨紙上分別拖拉 5 顆，膜都可被延展，量測其路徑長度，分別是 72.3 cm、84.2 cm、67.0 cm、72.3 cm、70.3 cm，平均值為 73.22 cm。（圖六）



圖六 山粉圓種子外膜的延展能力

六、山粉圓種子外膜對各種材質的黏著力：

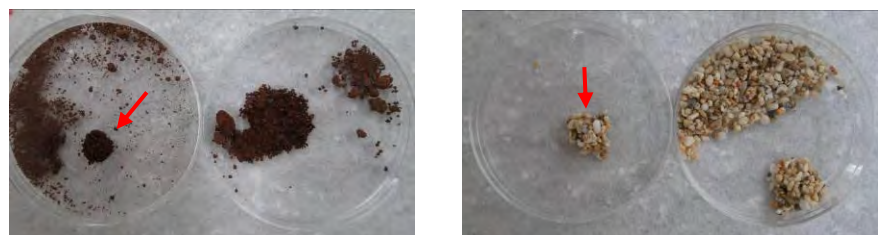
瀝乾多餘的水分後，山粉圓種子外膜可以和多種材質的物料黏著，即使把物料垂掛，也不會滑落。這些材質包括：鋁箔、紙盤、棉花棒、玻璃、眼鏡布、棉布、塑膠等（圖七）。



圖七 山粉圓種子外膜對各種材質的黏著力

七、山粉圓種子外膜對土壤及細小貝殼的黏著力：

山粉圓種子外膜對土壤及細小貝殼也有很好的黏著力，可以沾黏成一球，數天都不會掉下來，所以有固著土壤或細小貝殼的功能（圖八）。


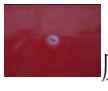
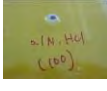
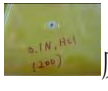


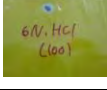
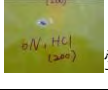
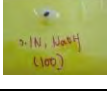


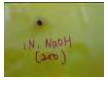



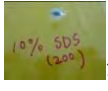


圖八 山粉圓種子外膜對土壤及細小貝殼有固著的功能

八、山粉圓外膜對不同化學溶液的反應：

山粉圓外膜的 pH 值為 7.6。與對照組比較，種子外膜除了在 6N NaOH、1N NaOH 溶液中有明顯變化，在 6N HCl、10% SDS 及醇溶液中有一點變化外，在其他各種處理中無差別(見表五)。這表示山粉圓種子外膜除了怕高濃度 NaOH 外，在一般程度的酸鹼溶液中，皆能保持穩定。有嘗試使用中和反應來測試是否能恢復強酸強鹼溶液所造成的變化，結果顯示是不可逆的，表示外膜的結構已被瓦解。

表五 山粉圓外膜在各種溶液中發生的變化

溶液種類	溶液 pH 值	溶液體積	
		100 ul	200 ul
去離子水	7.0	 原雲霧狀	 原雲霧狀
HCl(0.1N)	0.7	 原雲霧狀	 原雲霧狀
HCl(1N)	0.2	 原雲霧狀	 原雲霧狀
HCl(6N)	—	 雲霧狀略微減少	 雲霧狀略微減少
NaOH(0.1N)	12.9	 原雲霧狀	 原雲霧狀
NaOH(1N)	13.4	 外膜部分溶解	 外膜部分溶解
NaOH(6N)	13.5	 外膜幾乎完全溶解 溶液變黃，種子往下沈	 外膜完全溶解 溶液變黃種子下沈
SDS(10%)	8.2	 原雲霧狀	 雲霧狀略微減少
甲醇	8.2	原雲霧狀	雲霧狀略微減少
乙醇	9.4	原雲霧狀	雲霧狀略微減少 且比在甲醇中減少較多

九、山粉圓外膜對不同酵素的反應：

以 0.1 ml 1.8% 果膠酶 (pH=4.0) 處理山粉圓外膜，觀察到果膠酶會把膜分解掉大部分，但還是會剩下一些無法被分解。增加果膠酶使用量到 0.4 ml 可以促進分解，剩下的部分看起來像一層薄膜貼在管壁上。以 0.1 ml 10% 木瓜酵素處理山粉圓外膜，觀察到膜和木瓜酵素的吸收光譜都有下降的現象，暗示兩者可能有交互作用。

十、山粉圓外膜的組成分析

(一) 蛋白質定量分析

由於木瓜酵素和膜可能有交互作用，想了解膜上是否有蛋白質分子存在，於是將膜用均質機打碎，分別用去離子水和乙醇萃取，定量蛋白質含量（表六）。去離子水萃取的蛋白質含量為 13.000 µg/ml，乙醇萃取的蛋白質含量為 43.433µg/ml。

表六 分別用去離子水和乙醇萃取膜所得到的蛋白質含量

編號 \ A ₅₉₅ \ µg/ml	BSA					種子外膜	
	0	62.5	125	250	500	水萃取	乙醇萃取
重複 1	0.366	0.423	0.550	0.698	0.984	0.358	0.428
重複 2	0.391	0.435	0.550	0.745	0.995	0.402	0.439
重複 3	0.386	0.453	0.549	0.764	0.983	0.401	0.451
平均	0.381	0.437	0.550	0.736	0.987	0.387	0.439
重複 1 濃度						-	34.300
重複 2 濃度						13.400	43.200
重複 3 濃度						12.600	52.800
平均濃度						13.000	43.433
標準溶液趨勢線方程式 $y = 0.0012x + 0.3854$ $R^2 = 0.9886$							

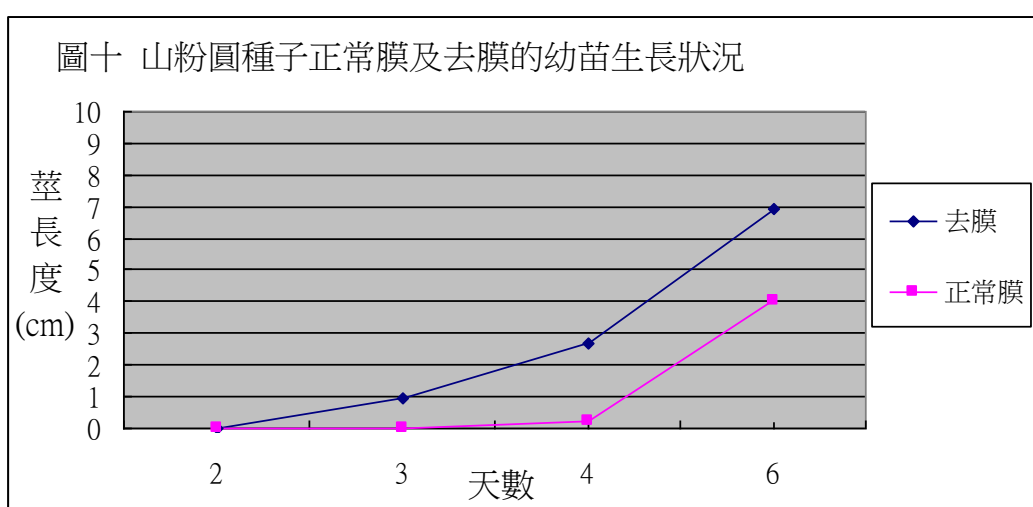
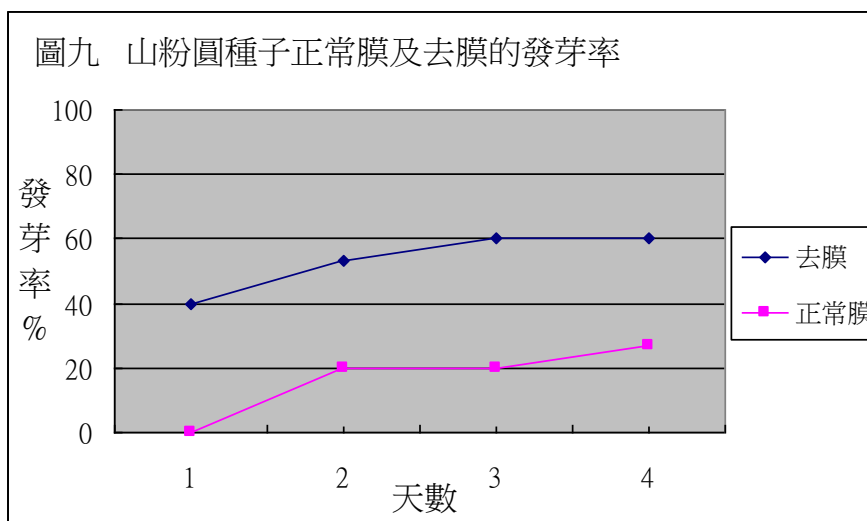
(二) 質譜分析

由於果膠酶會把膜分解掉大部分，推測膜應含有多醣類的分子。因此分別把未經果膠酶處理過及經果膠酶處理過的膜溶液送去做質譜分析。發現經果膠酶處理過的膜溶液含有許多由一個半乳糖和一個葡萄糖連接成的雙醣分子 (melibiose)，也含有許多游離的胺基酸如苯丙胺酸 (phenylalanine)、酪胺酸 (tyrosine)、色胺酸 (tryptophan)、白胺酸 (leucine) 等等。不論是否經過果膠酶處理，膜溶液中可以偵測到許多吉貝素的先驅物 (Gibberellin A₁₂ aldehyde) 及脂質的成分如神經鞘氨醇衍生物 (sphinganine 及 4-hydroxysphinganine)。

十一、山粉圓外膜對種子發芽率及幼苗生長的影響

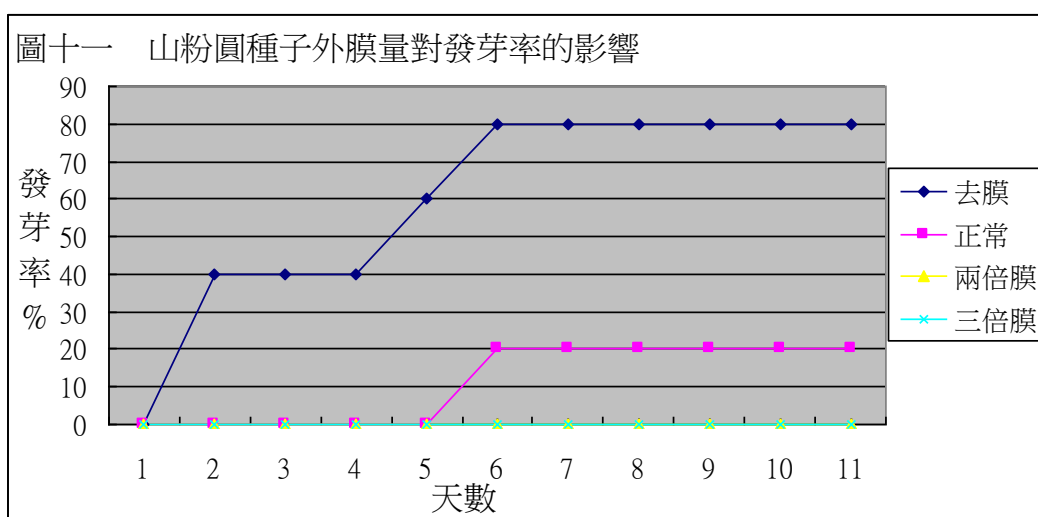
(一) 種子去膜處理對萌發率及幼苗生長的影響

將種子分為正常膜及去膜處理，進行發芽率檢測，結果見圖九。發現無論有無去膜，隨著天數增加，種子發芽率皆會增加。但有去膜的種子經過 1 天即先發芽，同天數比較也維持比無去膜種子有較高的發芽率，顯示去膜有助於種子萌發。同時觀測幼苗的生長狀況，結果見圖十。幼苗皆表現在黑暗中的莖徒長現象，去膜組先萌發，因此隨著天數幼苗莖長度較長。且若從圖中曲線比較發芽後的每日生長速率，則兩者差異不大，顯示膜的存在與否似乎對幼苗的生常並無顯著的影響。



(二) 種子增膜處理對萌發率的影響

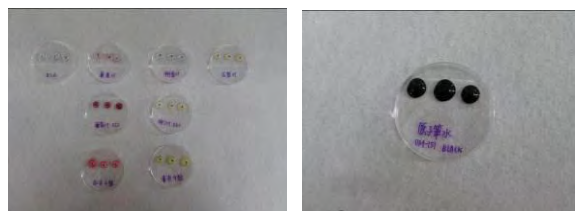
將種子分為去膜、正常膜、二倍膜及三倍膜處理，進行發芽率檢測，結果見圖十一。發現組別是兩倍膜以上的種子發芽率是 0，再次顯示膜的存在有延遲或抑制種子萌發的影響。6 天之後發芽率無法提升，應是萌發管裝置保水性的限制。



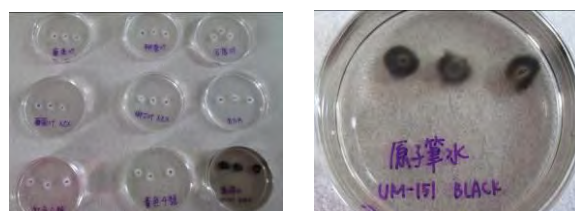
十二、探究山粉圓外膜的吸附能力

(一) 對有色溶液 或果汁、飲料的吸附能力

將山粉圓外膜以有色溶液處理，發現外膜都會被染色，可見山粉圓外膜對色素分子有很強的吸附能力。有色溶液包括黃色 4 號、紅色 6 號、新鮮葡萄果汁、新鮮柳橙果汁、新鮮百香果汁、市售葡萄果汁、市售柳橙果汁、黑原子筆水等。取出以有色溶液處理過的山粉圓種子，放入培養皿中，可觀察到吸附的情形（圖十二）。加入去離子水清洗，可觀察到褪色的情形，吸附越多需要越久的清洗，除了黑原子筆水很難移除之外，其他都可再清洗掉（圖十三）。使用光譜儀偵測種子吸附前後，有色溶液的吸收光譜之變化，觀察到除了新鮮百香果汁是上升外，其他果汁都是下降，表示大部分有色分子被種子的膜吸附了。使用光譜儀偵測膜吸附前後，有色溶液的吸收光譜之變化，則觀察到上升的情形。將膜加入木瓜酵素溶液作用，比較作用前後的上清液之吸收光譜，觀察到下降的情形。將經過木瓜酵素溶液作用後的膜加入有色溶液，比較吸收光譜之變化，觀察到下降的情形。



圖十二 觀察有色溶液處理過的山粉圓種子吸附的情形



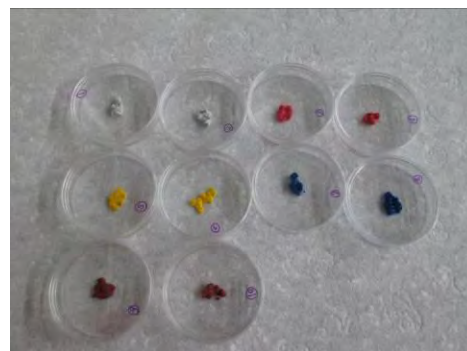
圖十三 觀察有色溶液處理過的山粉圓種子清洗的情形

(二) 對固態粉末粉筆灰及粉筆灰懸浮液之吸附能力

乾的山粉圓種子外膜對乾的粉筆灰有一點吸附能力，但對不同顏色的粉筆灰之吸附能力不同，以紅色的吸附能力較高（圖十四）。若再加水形成懸浮液，可提高吸附能力，並聚集在一起（圖十五）。計算其吸附增重百分率，得知對白、藍、棕色的吸附能力較高，對紅、黃色的吸附能力較低（表八）。



圖十四 乾的山粉圓種子外膜對不同顏色的乾粉筆灰之吸附能力



圖十五 山粉圓種子外膜對不同顏色的粉筆灰懸浮液之吸附能力

表八 山粉圓種子對不同顏色的粉筆灰懸浮液之吸附能力 (單位: g)

編號	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
顏色	白	白	紅	紅	黃	黃	藍	藍	棕	棕
空管重	1.0011	1.0005	0.9996	0.9816	0.9846	0.9828	1.0002	0.9979	1.0737	1.0084
10 粒重	0.0463	0.0457	0.0461	0.0424	0.0289	0.0328	0.0504	0.0556	0.0414	0.0445
粉筆灰重	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000
空皿重	4.6981	4.5939	4.6378	4.6007	4.6960	4.6289	4.7081	4.6180	4.7065	4.6090
(餘灰+皿)之乾重	4.7318	4.6524	4.7071	4.6839	4.7787	4.7111	4.7639	4.6670	4.7530	4.6625
餘灰重	0.0337	0.0585	0.0693*	0.0832	0.0827	0.0822	0.0558	0.0490	0.0465	0.0535
吸附量	0.0663	0.0415	0.0307*	0.0168	0.0173	0.0178	0.0442	0.0510	0.0535	0.0465
吸附增重%	143%	91%	67%*	40%	60%	54%	88%	92%	129%	104%

註:*代表實驗中有濺出少許。

陸、討論

一、山粉圓的名稱：山粉圓其實是唇形科山香植物的種子。山香學名為 *Hyptis suaveolens* Poit.，一年生草本，生長在嚴旱少雨區，需充足的陽光及排水良好的肥沃土壤，種子在低溫或高溫都不容易發芽，最適當的發芽溫度是 25~30℃，1.5~2天就會開始發芽。葉子具甜甜清香，夏秋開花，秋冬結果。全草及種子都可入藥，是中國民間的藥草，具有疏風散瘀、解毒定痛的功效。

二、外膜的構造與性質

(一) 吸水能力

1. 山粉圓外膜很喜歡互相黏在一起，使得我們必須加以攪拌，讓每顆山粉圓可以分別吸飽水分，如果一次就加入 3 ml 去離子水，而且沒有充分攪拌，山粉圓很容易吸水不均，如果分幾次加入 3 ml 去離子水，山粉圓可以慢慢吸水，充分膨潤。用試管震盪機震盪 1 小時，可以使山粉圓充分吸水。
2. 整體而言，大小相似的種子每顆所能吸收的水量差異不大。驚人的是其吸水量可達到其種子重量的 23 倍，實在有極優異的吸水能力。

(二) 保濕能力及復水能力

1. 山粉圓外膜在空氣中至少要 26 小時以上才會被風乾，變回原來的透明面貌，但再泡水時，它又會再度膨脹起來，而且竟然能重複復水好幾次，也不會發霉。
2. 冷凍乾燥後的種子比乾燥後的種子復水能力還要好，可能是因為高溫的環境會使膜的結構受到破壞，使烘過的種子的吸水能力稍微變差。但整體而言，皆有極佳的復水能力（70%~90%）。

(三) 延展性與黏性

1. 山粉圓外膜的延展性極佳，可以拉很長，從顯微照片所看到的網狀結構及長纖維分子，彼此間應該具有很強的作用力。
2. 剝下的外膜，其延展性會不會因為機械操作而破壞或改變？雖然我們把膜四分五裂剝下來，它們只要一靠近，又可以黏在一起，像一團鼻涕。
3. 以不同化學藥品處理後，其延展性會不會發生改變？用高濃度的鹼液顯然可以破壞外膜的完整性，也不再那麼黏。
4. 山粉圓外膜的黏性可以固著土壤，有助它從土壤吸收水分及養分，也有助它在乾旱的環境下彼此聚在一起保持更多的水分。

(四) 對不同溶液的反應

1. 山粉圓外膜遇到鹼會比遇到酸或醇類的變化明顯，也許是膜的成分或結構含有不耐強鹼的成分，例如脂質。但顯然對濃鹽酸及稀鹼液有極佳的耐受性，似乎表示山粉圓外膜可抵抗動物的胃酸或腸液作用，以便排出時仍可以發芽。
2. 果膠酶的受質為聚半乳糖醛酸鹽（polygalacturonate），外膜可被果膠酶分解，可見含有這種結構。
3. 木瓜酵素是一種會分解蛋白質的酵素，它可能會和外膜上的蛋白質作用。

(五) 組成份

1. 山粉圓外膜的組成份相當複雜，除了醣類（尤其是多醣類），還包括脂質、蛋白質和一些植物激素的先驅物，這些物質對種子的萌發與後續的生長發育是否有影響值得進一步研究。
2. 山粉圓種子萌發後，外膜並不會馬上分解，甚至存在很久，而且萌發的位置在種子尖尖的部位，那部分卻是沒有膜的，實在是巧思。
3. 我們食用後是否可以分解這些組成份？下次食用時應該要多注意一下排泄物中的山粉圓是什麼面貌。

(六) 發芽率及幼苗生長

1. 不管有無剝膜，山粉圓皆能發芽。但有剝膜的山粉圓發芽率是比較佳的，且膜量增加時，更不利於種子萌發。文獻也記載山粉圓剝膜的種子在攝氏 20 度黑暗下會發芽，但是不剝膜的種子卻不會發芽。是否因為原生環境的需要，讓

膜表現延遲發芽的效果，有待進一步的探討。巧合的是有研究指出柳丁種子也是去膜的發芽快。

2. 實驗結果顯示膜的存在似乎對幼苗的生長並無幫助。實驗裝置的萌發環境具備較乾淨及初期較保濕等條件，或許與原生環境存有差異，有待進一步的研究。

(七)、抗霉性：

從文獻得知山粉圓葉子萃取的精油具有抗菌、抗霉作用，直接將曬乾的葉子磨成粉末可當作驅蟲劑。做實驗時發現山粉圓種子也非常不容易發霉，剝下的膜也可以放很久。如果把乾淨的水換成自來水、雨水或池塘水來做發芽試驗會如何呢？可以進一步實驗看看。

(八)、吸附能力及其應用

山粉圓種子外膜除了能吸水、吸有色溶液中的色素，還能吸不同顏色的粉筆灰。有文獻指出它對砷或其他金屬離子也具有相當的吸附力。山粉圓的外膜主要是由高分子的多醣類組成，具有許多分支，使其接觸面積極大。讓我們聯想到將來也許可以利用山粉圓來當作色素或營養分子或毒物的吸附劑。另外山粉圓外膜呈現優異的吸水與吸附能力，若能分析其結構特性，也能開啟仿生學的研究，希望能提供更多的發展與應用。

柒、結論

- 一、種子表面有許多小凹陷結構，泡水時，表面出現白色膜狀物，具黏性。網狀的細長纖維會隨水撥動而漂動。纖維狀物是從種子邊緣慢慢長出，越來越多。在種子尖尖的部分不會有黏膜，萌發時就從這裡裂開。
- 二、大小相似的種子每顆所能吸收的水量差異不大。驚人的是其吸水量可達到其種子重量的 23 倍，實在有極優異的吸水能力。
- 三、每顆種子外膜的乾燥時間，會因為種子的形狀或大小，而稍有差異，至少需經過 26 小時以上，外膜才會接近乾掉。烘乾後能吸收的水分明顯比冷凍乾燥的少，但是平均復水率都有 70% 以上。
- 四、山粉圓種子外膜延展能力可達 70 公分左右，且可附著在多種材質的物料上，即使垂掛也不會掉下。對土壤顆粒及細小貝殼有固著作用。

- 五、山粉圓種子外膜除了怕高濃度 NaOH 外，在一般程度的酸鹼溶液中，皆能保持穩定。顯示山粉圓外膜有能力抵抗動物的胃酸作用，有助於種子被排出後再度傳播。
- 六、山粉圓的外膜大部分可被果膠酶分解，所以含有聚半乳糖醛酸鹽的結構，山粉圓的外膜也和木瓜酵素有相互作用。主要是由高分子的多醣類組成，具有許多分支，也含有胺基酸、蛋白質、脂質及植物激素的先驅物。
- 七、無論有無剝膜都會發芽，隨著天數增加，發芽率增加。但有剝膜的山粉圓會先發芽，且膜量增加反而降低發芽率，顯示去膜有助於種子萌發，其機制尚待研究。另外膜的存在似乎也對幼苗的生長並無幫助，更待深入探討。
- 八、山粉圓外膜對有色溶液或粉筆灰中的色素分子有強的吸附能力，但對不同顏色或來源的色素分子會有差異。剝下的膜與連在種子上的膜所表現的吸附能力不一致，尚待進一步探究原因。木瓜酵素處理過的膜會提高吸附能力。
- 九、利用山粉圓外膜的吸附能力及保濕能力，未來有潛力開發食用以外的去毒或除污用途，或發展面膜、藥布等醫藥產品。

捌、參考資料及其他

一、書籍類

1. 鍾錠全 (2003)。青草世界彩色圖鑑 (一) P.454。台北市：自行出版。

二、期刊論文類

1. Mandal SM, Mondal KC, Dey S, Pati BR. (2007). Antimicrobial activity of the leaf extracts of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. *Indian J Pharm Sci*, 69, 568-9.
2. Gerald O. Aspinall, Peter Capek, Roshan C. Carpenter, D. Channe Gowdat, and Janusz Szafrank. (1991). A novel L-fuco-4-O-methyl-D-glucurono-D-xylan from *Hyptis suaveolens*. *Carbohydrate Research*, 214, 107-113.
3. Mandal SM, Mondal KC, Dey S, Pati BR. (2007). Arsenic biosorption by mucilaginous seeds of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 66 (7), 577-581.

4. Renata Wulff and Ernesto Medina. (1971). Germination of seeds in *Hyptis suaveolens* Poit. *Plant & Cell Physiol*, 12 (4), 567-579.

三、網路資料

1. 台和園藝（2012）。山粉圓—山香。花寶愛花園網站，取自：
http://web.igarden.com.tw/magazine/show_one.php?serial_s=1884&serial_m=3
2. 維基百科（2012）。*Hyptis suaveolens*。取自：
http://en.wikipedia.org/wiki/Hyptis_suaveolens
3. 陳政文、趙薇婷、許百琳、陳昭芬、陳瑄玟、歐陽博文（2008）。揭開柳丁種子黏膜的祕密（中華民國第四十八屆中小學科展參展作品）。取自：
<http://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/48/elementary/081543.pdf>

【評語】 040704

材料生活化，著重於生理現象之描述，宜針對可能之成份進行分析和機制探討。