

# 中華民國第 56 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生物科

030318

**雞母珠之迷與謎**

學校名稱：桃園市立龍興國民中學

作者：  國二 黃奎毓  國二 梁海淇	指導老師：  周怡宏
---------------------------------	------------------

關鍵詞：雞母珠、種子毒素、水蚤

## 摘要

雞母珠是一種含有劇毒的豆科植物，尤其是種子的部分。我們鎖定目標探索雞母珠種子的毒理作用，並設法找出解除毒素的方法。一方面，用水和有機溶劑去萃取其毒素，測其效能。另一方面，使用鹽酸、氫氧化鈉等化學藥品、加熱、酵素、調 pH 值等方法，設法解除其毒性。並以水蚤作為生物感測器。最後我們發現使用低劑量煮沸過的雞母珠種子萃取液添加在水蚤的生長環境中，竟可使水蚤長得比對照組更好。如此兩極化的轉折，一如雞母珠種子之外觀，令人驚豔不已。再者，我們研究的對象是雞母珠種子的萃取物，屬於複合物，其表現也和其他研究者針對雞母珠種子單一成分所得到的認知大相逕庭。我們的研究將一一解開雞母珠之謎。

## 壹、研究動機

無意間，見到了這一種紅黑相襯，色澤豔麗的豆科種子，委實令人目眩神迷。不僅如此，包在種子內的成分特性更令我們好奇。於是就技癢難耐，想隨著老師探索那未知的世界，雖然我們只是一群國中生，但是，面對挑戰也要鍥而不捨地繼續往前，最吸引我們的是和隊員一起尋求真相的過程，讓我們一同揭開雞母珠的真面目。

## 貳、研究目的

雞母珠種子外觀色澤鮮豔，內在則充滿驚奇，不僅有藥理作用也有毒理作用。我們的研究聚焦於毒理作用。探究用不同的溶劑搭配不同溫度探索雞母珠釋放毒素的效能，並且尋找解除其毒性之方法。希望我們的研究能提供利用本植物種子者，可有效利用其藥效，避開其毒害。

## 參、研究對象與設備

### 一、雞母珠 *Abrus precatorius* 種子（參考資料 1 和 2）（Photo. 1）

雞母珠，是豆科相思子屬的一種有毒植物，可在台灣中南部一帶見其蹤影



( Photo.1 )雞母珠種子

## 二、生物檢測：

德國米拉水蚤 *Daphnia magna*. 與溞狀蚤 *Daphnia pulex*

水蚤，*Daphnia magna* 和 *Daphnia pulex*，屬於節肢動物，甲殼亞門，鰓足綱，枝腳目，雌雄異體，體內受精，可進行孤雌生殖，卵即使不受精，也可發育成後代。有時並佐以有性生殖。體長大概在 0.2mm 至 5mm 之間。可以生存在很多種環境當中，像是沼澤、池塘、湖泊以及河流。我們實驗的第一階段使用的水蚤是 *Daphnia magna* 後來在第二階段時，受到氣溫在 20°C 和 30°C 大幅波動間的影響 *Daphnia magna* 繁殖生長困難。我們無法得到足夠數量且品質穩定的 *Daphnia magna*，所以改用 *Daphnia pulex* 進行。（參考資料 3）

## 三、生物檢測：小白菜 *Brassica chinensis* 種子

### 四、酒精(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)

### 六、乙醚(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)

### 七、氫氧化鈉 (NaOH)

### 八、鹽酸 (HCl)

### 九、胰蛋白酶 trypsin (Sigma 製造,型號 T4799) TRYPSIN FROM PORCINE PANCREAS 取自豬的胰蛋白酶

### 十、酸鹼度計 pH meter (Rocker 製造，型號 EC-200) 精密度至小數第二位。

## 肆、研究步驟

### 一.我們的研究分兩大主軸

- (一)找出萃取毒素的最有效路徑
- (二)找出解除毒素的最佳方法

### 二、第一主軸：

- (一) 利用不同種子狀態、不同溶劑、不同處理溫度析出毒素方法分組，再以水蚤和小白菜的種子發芽生長為生物檢測指標
  1. 種子狀態：由於雞母珠種子的種皮堅硬，結構密實。為確認毒素分布的確切位置，我們將種子萃取過程的狀態區分成維持完整顆粒和打碎兩種不同狀態。
  2. 溶劑的選取，考量到水溶性萃取物和脂溶性萃取物的可能性：分別使用水、酒精、乙醚。使用水以萃取雞母珠種子中的水溶性物質，使用酒精和乙醚以萃取雞母珠種子中的脂溶性物質。為何脂溶性要動用兩種溶劑？這是因為酒精適用於較高溫的萃取，乙醚適用於較低溫的萃取。
  3. 雞母珠種子對溶劑的比例為：取雞母珠種子每 10 公克雞母珠種子，浸泡於指定溫度的 100 ml 溶劑。浸泡時間 4 小時。

4. 先測試尋找最有效水溶性萃取物的流程如下：(Fig.1)

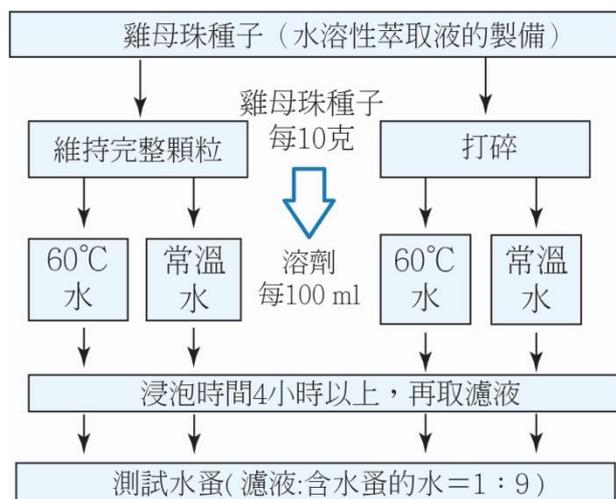


Fig.1 設計找出有效水溶性萃取物的流程。以水為溶劑，和雞母珠的用量比例為每用 100 ml 水去溶解 10 克的雞母珠種子。

5. 尋找最有效脂溶性萃取物的流程如下：(Fig.2)

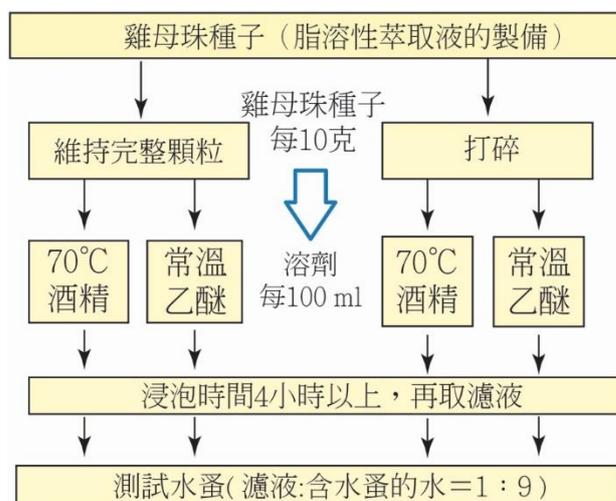


Fig. 2 設計找出有效脂溶性萃取物的流程。

6. 測試的組別計如下：(Table 1)

Table 1, 測試萃取水溶性和脂溶性的組別設計

萃取液來自，比例為每 0.1g 雞母珠種子浸泡在 1 ml 溶劑。			
組別	溶劑	雞母珠種子狀態	處理過程
1	水	維持完整顆粒	常溫，浸泡備用
2		打碎	常溫，浸泡備用

3		維持完整顆粒	60 度熱水浸泡備用
4		打碎	60 度熱水浸泡備用
5	加水對照組		
6	酒精	維持完整顆粒	隔水加熱至 70 度，浸泡備用
7		打碎	隔水加熱至 70 度，浸泡備用
8	加酒精對照組		
9	乙醚	維持完整顆粒	常溫，浸泡備用
10		打碎	常溫，浸泡備用
11	加乙醚對照組		

7. 由於酒精和乙醚易揮發，故必須回補減損部分。每一組基於三重覆的考量又分為 Repea I ,Repeat II ,Repeat III 條件相同的三小組。水蚤使用 *Daphnia magna* 測試，每杯水蚤含水蚤 35 隻含水 130ml 加入 15ml 萃取液。計時 24 小時。測試結果如下：（Table 2）

Table 2 ， 水溶性和脂溶性的萃取測試成效

組別	溶劑	種子狀態	浸泡溫度	Repeat I 水蚤存活	Repeat II 水蚤存活	Repeat III 水蚤存活	平均	標準差
1	水	完整	室溫	26	35	30	30	4.5
2	水	打碎	室溫	17	28	33	26	8.1
3	水	完整	60 度	31	34	26	30	4.0
4	水	打碎	60 度	5	7	9	7	2
5 Contral	水			35	35	35	35	0
6	酒精	完整	70 度	0	0	0	0	0
7	酒精	打碎	70 度	0	0	0	0	0
8 Contral	酒精			0	0	0	0	0
9	乙醚	完整	室溫	0	0	0	0	0
10	乙醚	打碎	室溫	0	0	0	0	0
11 Contral	乙醚			0	0	0	0	0

8. 由上可知種子打碎比種子完整更能釋出毒性物質，在水溶液顯然60°C比常溫毒性物質釋出量更多，但有比60°C更適合的溫度嗎？另酒精和乙醚的處理方式，顯然不妥，必須改弦易轍。再者，計時不同結果也會不同。有更妥適的計時基準嗎？

(二)我們想對於用不同溫度製備萃取液如何影響雞母珠的毒性效能有更具體的掌握，並修正脂溶性萃取液製備的方式，使其更合宜。再者，時間的計時截止點也必須找到合理的基準，針對上述考量。再進一步改良設計如下：

1. 以水為溶劑的流程，種子的狀態，則皆以打碎 (Fig 3)

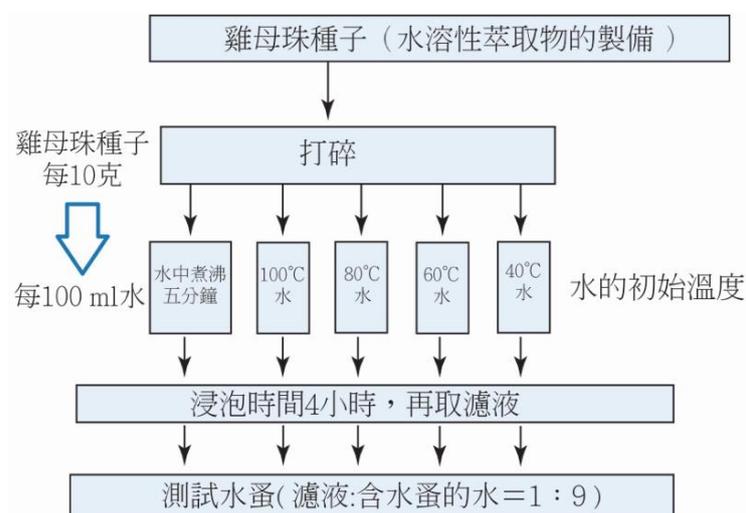


Fig.3 利用不同的初始溫度的水先浸泡，唯在浸泡期間，水溫仍會下滑，為避免下降太快，我們有用保龍盒保溫。

2. 水蚤使用 *Daphnia pulex* 測試，每杯水蚤含水蚤 20 隻含水 90ml 加入 10ml 萃取液。計時 24 小時。在此 24 小時內前段和後段每小時逐一紀錄。(Table 3)

Table 3，下列為以水為溶劑的萃取液由不同起始水溫浸泡而得。並在前 6 小時和後 6 小時期間，每小時清點水蚤存活量一次。所得結果。作為進一步研究設計的指標。

溫度	組別	0 時 水蚤 數量	1 時	2 時	3 時	4 時	5 時	6 時	7 至 17 時	18 時	19 時	20 時	21 時	22 時	23 時	24 時
對照組	1A	20	20	20	19	18	18	18		17	17	17	17	17	17	17
	1B	20	20	20	20	19	19	19		19	19	19	19	19	19	19
	1C	20	20	20	20	20	20	20		20	20	20	20	20	20	20
40	2A	20	20	20	20	20	20	19		11	10	9	9	8	8	4
	2B	20	19	19	19	19	18	17		9	5	2	1	1	1	1
	2C	20	20	20	20	18	18	18		12	12	9	8	8	8	8
60	3A	20	20	20	20	19	18	17		3	2	2	1	1	1	1
	3B	20	20	20	19	19	18	17		6	2	2	0	0	0	0
	3C	20	20	20	19	18	18	18		13	13	12	11	11	9	8
80	4A	20	20	20	20	19	18	18		18	5	5	3	2	2	2
	4B	20	20	20	20	19	19	17		3	2	2	1	1	1	1
	4C	20	19	19	19	19	19	19		15	15	12	12	12	12	6
100	5A	20	19	19	19	19	18	17		9	9	7	7	7	3	2
	5B	20	20	20	20	20	19	19		9	9	7	7	7	7	6
	5C	20	20	20	20	20	20	20		18	18	15	15	12	12	10
煮沸 5min	6A	20	20	20	20	20	19	17		12	10	9	9	7	6	5
	6B	20	20	20	20	18	18	18		14	14	11	11	11	11	8
	6C	20	20	20	20	20	20	19		3	3	2	1	1	1	1

### (三) 脂溶性萃取液的製備

1. 以酒精和乙醚為溶劑，並以水回溶。酒精濃度為 95%（體積百分濃度），乙醚濃度 99%。規畫流程如下：（Fig.4）

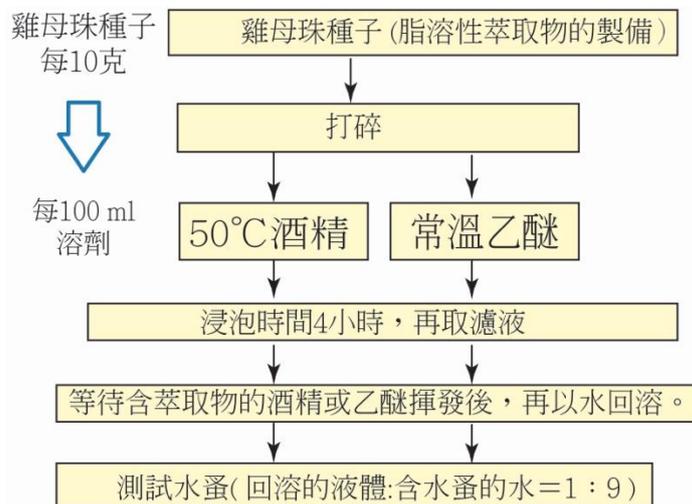


Fig. 4, 浸泡過程，為避免有機溶劑揮發太快，應在密封的容器進行。酒精或乙醚浸泡雞母珠種子所得萃取液，過濾後必須先蒸發去除溶劑，再以水回溶。

2. 水蚤使用 *Daphnia pulex* 測試，每杯水蚤含水蚤 20 隻含水 90 ml 加入 10 ml 回溶萃取液。計時 24 小時。在此 24 小時內前段和後段每小時逐一紀錄。
3. 此部分有兩種類型的對照組，其一，完全不接觸任何有機溶劑的對照組。1A、1B、1C  
其二，空燒杯加入 100 ml 酒精，等待完全揮發後，再倒入 100 ml 蒸餾水至燒杯，取用 10 ml 這樣的水，添加至 7A、7B、7C 當作是 8A、8B、8C 的對照組。同理，空燒杯加入 100ml 乙醚，等待完全揮發後，再倒入 100 ml 蒸餾水至燒杯，取用 10 ml 這樣的水，添加至 9A、9B、9C 當作是 10A、10B、10C 的對照組。  
7A、7B、7C 和 9A、9B、9C 是有機溶劑回溶處理是否可行的重指標。

4. 測試結果如下：（Table 4）

Table 4, 脂溶性萃取液的測試紀錄，部分時段每小時逐一紀錄。

有機溶劑	組別	0時 水蚤數量	1時	2時	3時	4時	5時	6時	7 至 17時	18時	19時	20時	21時	22時	23時	24時
對照組	1A	20	20	20	19	18	18	18		17	17	17	17	17	17	17
	1B	20	20	20	20	19	19	19		19	19	19	19	19	19	19
	1C	20	20	20	20	20	20	20		20	20	20	20	20	20	20
酒精對照	7A	20	20	20	20	20	20	18		14	14	14	13	13	12	12
	7B	20	20	19	19	19	19	19		19	19	18	18	18	18	18
	7C	20	20	20	20	20	20	20		20	20	20	20	19	18	18
酒精回溶實驗	8A	20	20	19	19	18	18	18		13	13	13	12	12	9	9
	8B	20	20	20	20	19	18	18		18	18	15	15	15	14	14
	8C	20	20	20	20	19	18	18		16	15	15	15	15	15	15
乙醚對照	9A	20	20	20	20	20	19	19		19	17	17	17	17	15	14
	9B	20	20	20	20	19	19	19		19	19	18	17	16	15	15
	9C	20	20	20	20	20	20	20		20	20	20	19	19	18	18
乙醚回溶實驗	10A	20	20	20	20	20	20	19		18	18	17	17	16	15	15
	10B	20	20	20	20	20	20	20		20	20	20	20	19	19	19
	10C	20	20	19	19	19	19	19		17	17	17	15	14	14	14

#### (四) 探究萃取液對植物發芽和幼苗生長影響的流程

##### 1. 接著我們也想知道雞母珠毒性是否會對植物種子的發芽或幼苗的成長

影響。選用以 50 °C 熱水 處理的雞母珠種子和豆莢萃取液（每 1ml 萃取液是來自 0.1g 的雞母珠溶出而得），加入含洋菜粉的水溶液（洋菜粉 1%）。製成實驗組的小白菜種子培養基。對照組則只有含 1% 洋菜粉水溶液培養基。每個培養基放 20 粒小白菜種子，2 個培養基共 40 粒小白菜種子為一組，並三重覆。實驗組製備流程如下 (Fig. 5)

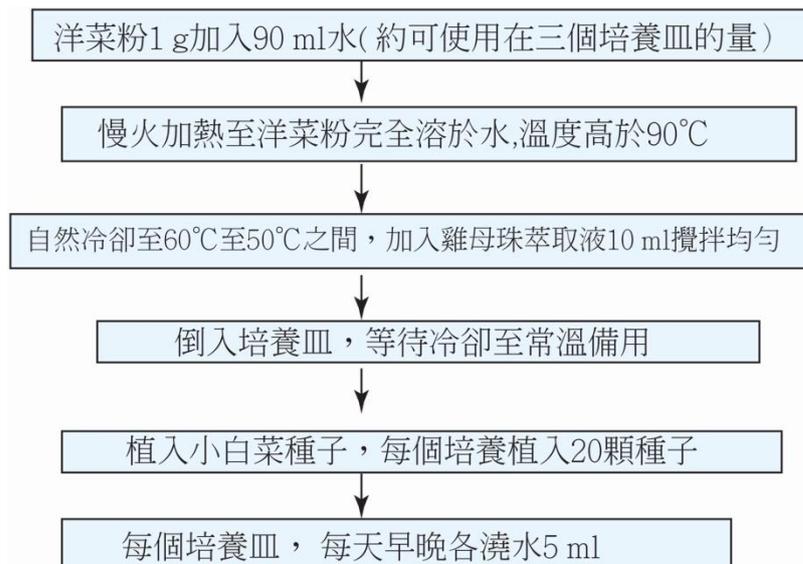


Fig.5, 倒入雞母珠萃取液時，洋菜膠的溫度最好不要比 50 °C 低，而且雞母珠萃取液也要再隔水加熱使其溫度約在 50 °C。以預防兩者加在一起時因溫度下降太多，而使洋菜膠提前凝結，不利萃取液均勻分布。

### 三、第二研究主軸

(一) 找出去毒的可能方法，規畫如下：

1. 利用酸或鹼試圖破壞雞母珠的有毒成分，再調回適當的 pH 值，測試其成效。
2. 利用酵素 (Trypsin 胰蛋白酶) 試圖破壞雞母珠的有毒成分
3. 調整萃取液 pH 值後，直接測試。並進行減量追蹤
4. 將煮沸雞母珠萃取液，並進行減量追蹤。

(二) 先說明利用酸或鹼試圖破壞雞母珠有毒成分的規畫流程

1. 從第一主軸的研究中，我們可知毒性最強的萃取液可從 60 °C 水萃液中得到，故以此為去毒的首要選項。流程如下： (Fig. 6)

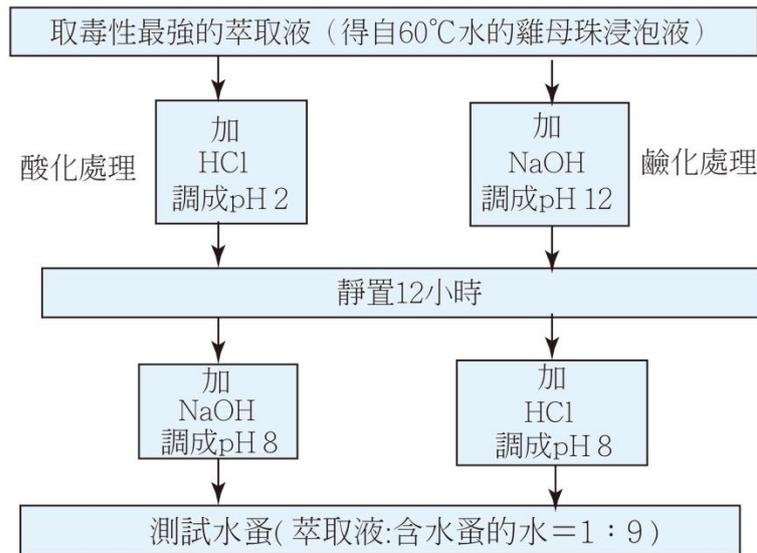


Fig.6 為何酸化處理只調成 pH 2，為何鹼化處理只調成 pH 12？而不是其它值？這是考量到接續中和時產生鹽的量，不能超越水蚤的耐受程度。為何最後要調成 pH8？這是因為在第一主軸的研究中，我們調查生長最佳的水蚤其水質的酸鹼度，分布在 pH 8.1 至 pH 8.3 居多。水蚤使用 *Daphnia pulex* 測試，每杯水蚤含水蚤 20 隻，含水 90ml 加入 10ml 萃取液。計時 16 小時。

2. 分組規畫如下，水蚤使用 *Daphnia pulex* 測試，每杯水蚤含水蚤 20 隻，含水 90ml 加入 10ml 萃取液。計時 16 小時。(Table 5)

Table 5，利用酸或鹼試圖破壞雞母的組別設計

分組設計	各組三重覆各含水蚤 20 隻			水蚤的處理方式
	Repeat I	Repeat II	Repeat III	
Contral	20	20	20	不經任何處理
60°C-10 ml	20	20	20	添加 60°C 浸液的萃取液 10 ml
60°C-10 ml-pH 2	20	20	20	添加酸化處理，再調成 pH 8 的萃取液，每組用量 10 ml
60°C-10 ml-pH 12	20	20	20	添加鹼化處理，再調成 pH 8 的萃取液，每組用量 10 ml

### (三)利用酵素 (胰蛋白酶) 設法破壞雞母珠有毒成分

1. 這個方法是針對雞母珠萃取液中，蛋白質的成分 (參考資料 4)，而設計的。

我們想知道蛋白質這個成分在萃取物中到底有多麼關鍵？流程如下 (Fig. 7)

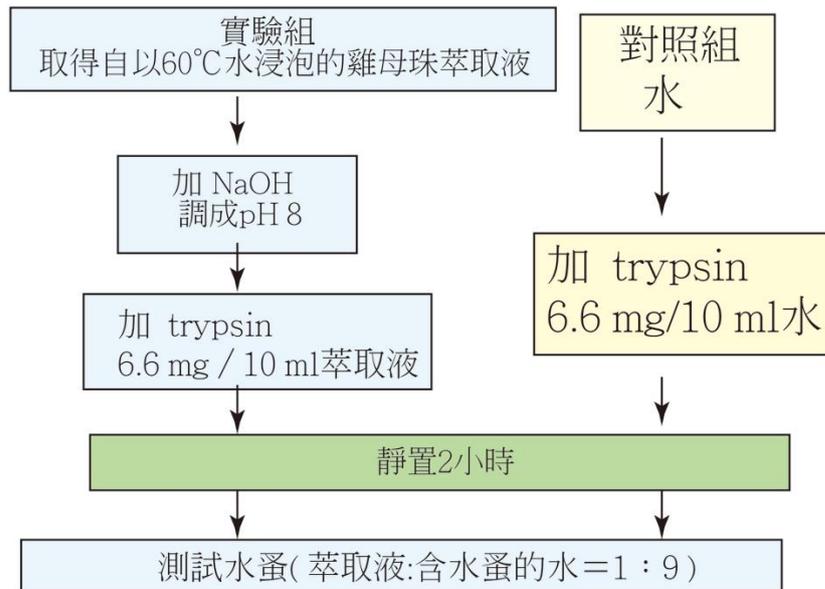


Fig.7 trypsin 的作用會受到 pH 值的影響，最佳表現約在 pH 8 附近，故應將萃取液調

成 pH8 為宜。那麼，為何要有水加 trypsin 作為對照組？這是因為要確認 trypsin 是否對水蚤有不良的影響。

水蚤使用 *Daphnia pulex* 測試，每杯水蚤含水蚤 20 隻，含水 90 ml 加入 10 ml 萃取液。計時 16 小時。

## 2. 分組規畫如下

Table 6, 酵素 trypsin, 的用量為每 10 ml 萃取液添加 6.6 mg, 先作 2 小時,再將處理過的萃取液加入水蚤中，歷時 16 小時。

分組設計	各組三重覆各含水蚤 20 隻			水蚤的處理方式
	Repeat I	Repeat II	Repeat III	
Contral	20	20	20	不經任何處理
60°C-10 ml	20	20	20	添加 60°C 浸液的萃取液，每組 10 ml
酵素-Contral	20	20	20	添加含 trypsin 的水，每組 10 ml
酵素-Experiment	20	20	20	添加含 trypsin 於含來自 60°C 浸液萃取液，每組 10 ml

(四) 調整萃取液 pH 值後，直接測試。

1. 在第一主軸的研究中，我們得知生長最佳的水蚤其水質的酸鹼度，大約分布在

pH 8.1 至 pH 8.3 居多。萃取液的酸鹼度則分布在 pH 5.5 至 pH 4.5，於是我們想

測試改變萃取液的酸鹼度是否能降低其毒性。

2. 調整流程如下 (fig. 8)

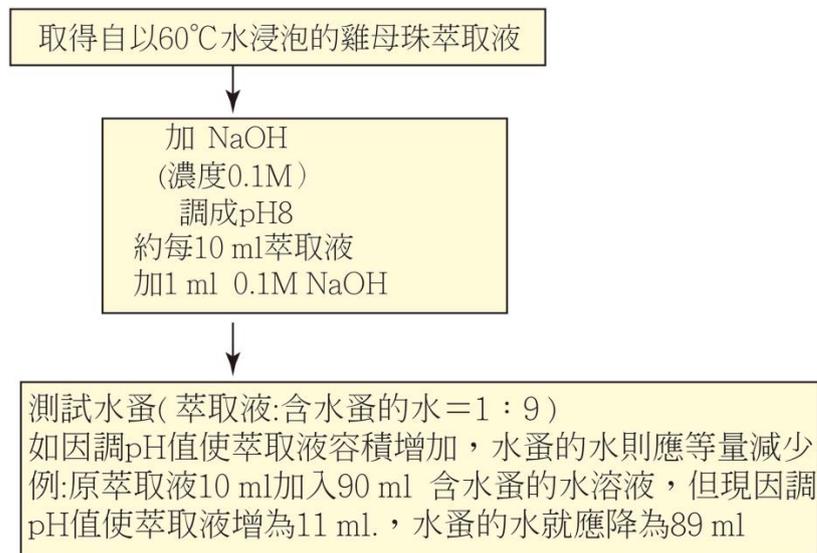


Fig. 8, 本流程和之前的酸化或鹼化處理不同之處，在於這裡只是微調萃取液的 pH

值至目標值，而且調好馬上用，不必靜置等待。

- (五) 利用煮沸雞母珠萃取液以測試其毒性。
- (六) 進行減量追蹤。
- (七) 評比各種成效

## 伍、研究結果

### 一、第一主軸的結果

- (一) 以水為溶劑，水溫室溫對比 60°C熱水。種子處理方式，完整對比打碎。可見 60°C熱水搭配打碎種子所能釋出的雞母珠毒性最強，水蚤活率最低。(Table 7) (fig.9)

Table 7, 歷時 24 小時的水蚤存活量，每組開始皆 35 隻。萃取液用量每組 10 ml。實驗結果，如下

組別	Repeat-I	Repeat-II	Repeat-III	平均
Contral	35	35	35	35 ± 0
室溫—完整	26	35	30	30.3 ± 4.5
室溫—打碎	17	28	33	26 ± 8.1
60°C—完整	31	34	26	30.3 ± 4.0
60°C—打碎	5	7	9	7 ± 2

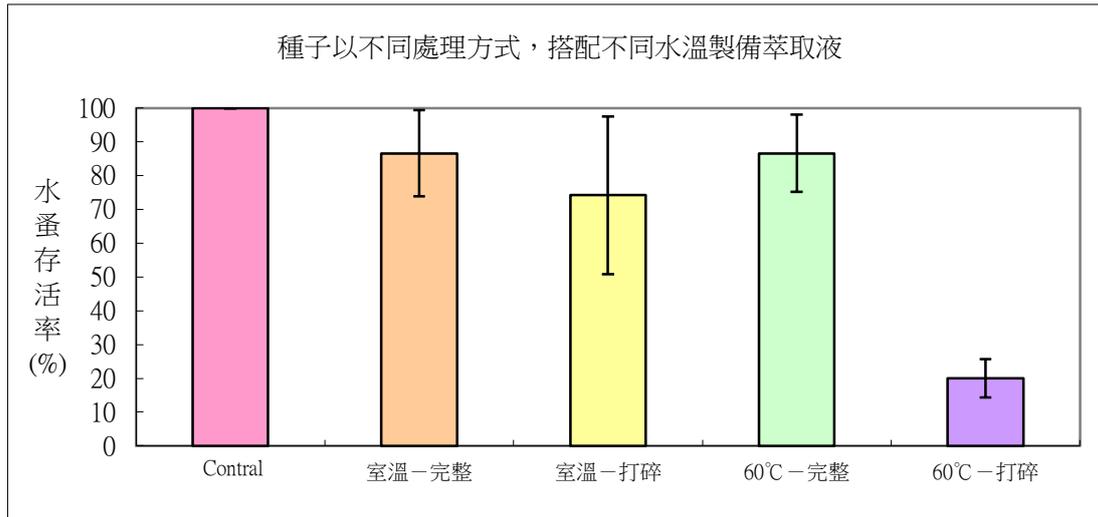


Fig.9 歷時 24 小時後，由水蚤存活率可知，同溫度時，種子打碎後釋出的毒性較強。

(二)、水為溶劑，經不同溫度處理萃取液，種子皆打碎處理。比對三個不同時間的結果如下 (Table 8) (Fig. 10, Fig. 11, Fig.12)

Table. 8, 第 0 小時，水蚤每組皆為 20 隻，在第 18 小時即可看出 60°C 熱水浸泡的萃取液效果最顯著。水蚤存活量最少。

經歷時間	第 6 小時存活量				第 18 小時存活量				第 24 小時存活量			
	I	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III	平均
<i>Repeat</i>												
<i>Control</i>	18	19	20	19 ± 1	17	19	20	18.6 ± 1.5	17	19	20	18.6 ± 1.5
<b>40°C-10 ml</b>	19	17	18	18 ± 1	11	9	12	10.6 ± 1.5	4	1	8	4.3 ± 3.5
<b>60°C-10 ml</b>	17	17	18	17.3 ± 0.57	3	6	13	7.3 ± 5.1	1	10	8	6.3 ± 4.7
<b>80°C-10 ml</b>	18	17	19	18 ± 1	18	3	15	12 ± 7.9	2	1	6	3 ± 2.6
<b>100°C-10 ml</b>	17	19	20	18.6 ± 1.5	9	9	18	12 ± 5.1	2	6	10	6 ± 4
<b>煮沸-10 ml</b>	17	18	19	18 ± 1	12	14	3	9.6 ± 5.8	5	8	1	4.6 ± 3.5

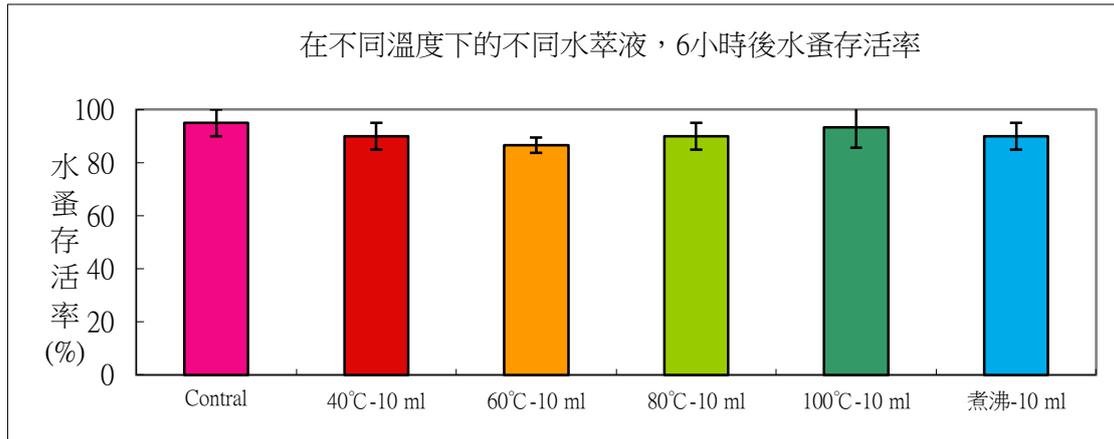


Fig. 10, 種子皆打碎，不同水溫處理的萃取液，在第 6 小時的相對存活率。

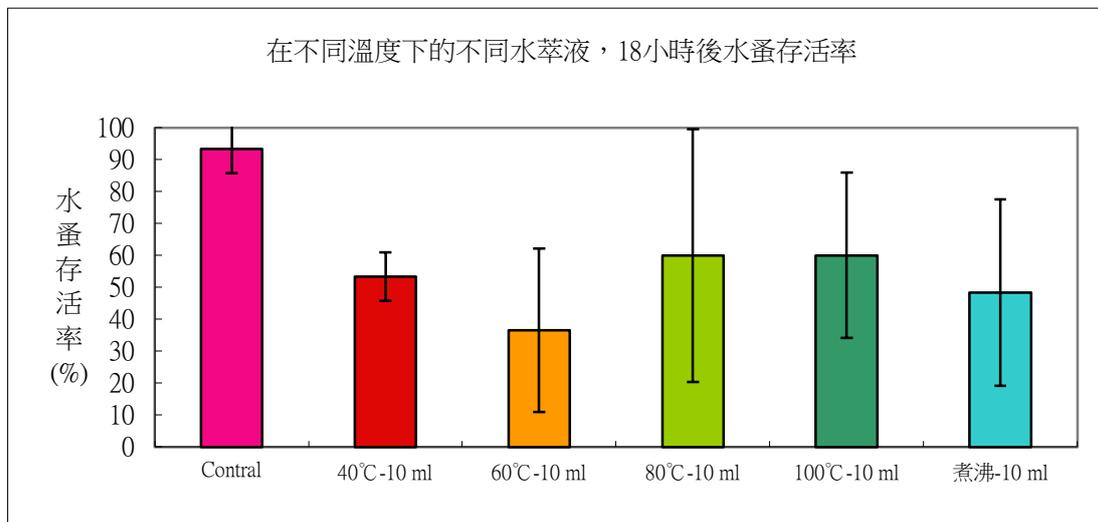


Fig. 11, 種子皆打碎，不同水溫處理的萃取液，在第 18 小時的相對存活率。  
可見 60°C 熱水浸泡的萃取液效果最顯著。水蚤存活量最少。

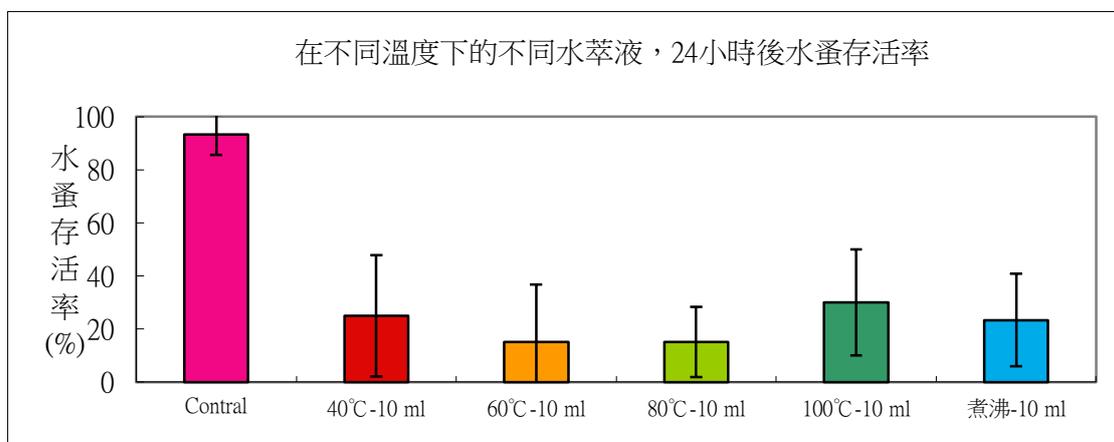


Fig. 12, 種子皆打碎，不同水溫處理的萃取液，在第 24 小時的相對存活率。  
60°C 熱水浸泡的萃取液依然效果最顯著，水蚤存活量最少。

(三) 脂溶性萃取液

1.酒精或乙醚為溶劑，經不同溫度處理萃取液，種子皆打碎處理。比對三個不同時間的結果如下 (Table 9) (Fig. 13, Fig. 14, Fig.15)

Table 9, 第 0 小時，水蚤每組皆為 20 隻，經 18 小時後，水蚤存活率依然甚高。表示脂溶性成分的毒性很弱。即使至 24 小時，平均值也皆在比水萃液的存活率高出甚多

經歷時間	第 6 小時存活量				第 18 小時存活量				第 24 小時存活量			
	I	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III	平均
<i>Repeat</i>												
<i>Contral</i>	18	19	20	19 ± 1	17	19	20	18.6 ± 1.5	17	19	20	18.6 ± 1.5
酒精- <i>Contral</i>	18	19	20	19 ± 1	14	19	20	17.6 ± 3.2	12	18	18	16 ± 3.4
酒精- <i>Experiment</i>	18	18	18	18 ± 0	13	18	16	15.6 ± 2.5	9	14	15	12.6 ± 3.2
乙醚- <i>Contral</i>	19	19	20	19.3 ± 0.57	19	19	20	19.3 ± 0.5	14	15	18	15.6 ± 2.0
乙醚- <i>Experiment</i>	19	20	19	19.3 ± 0.57	18	20	17	18.3 ± 1.5	15	19	14	16 ± 2.6

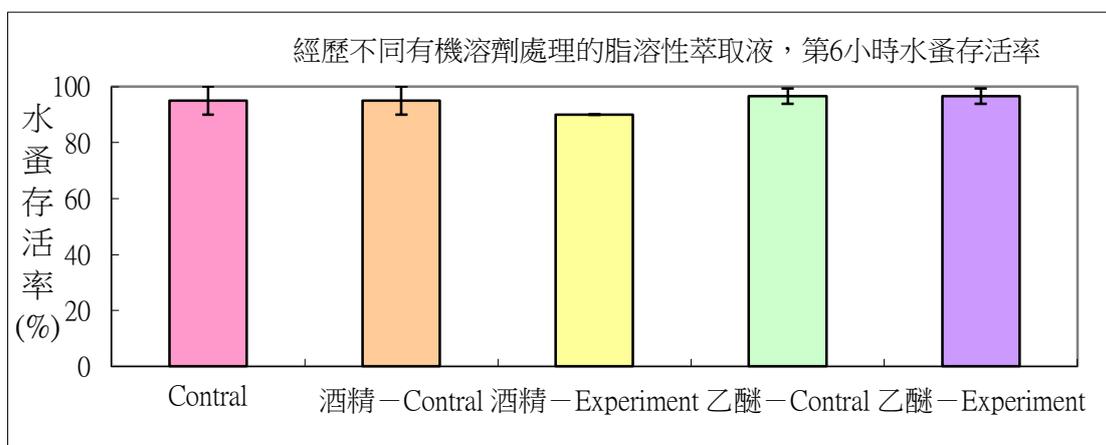


Fig. 13, 種子皆打碎，不同有機溶劑處理的萃取液，在第 6 小時的相對存活率。

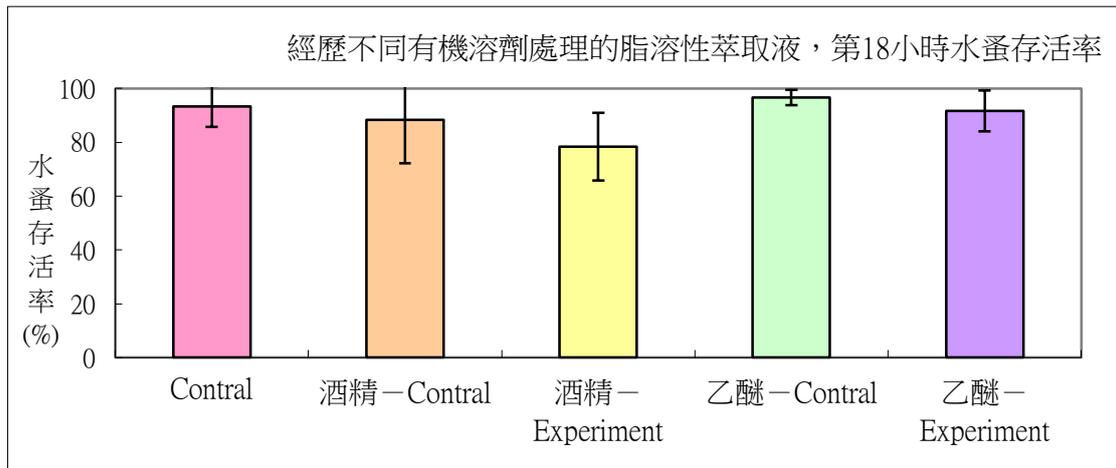


Fig. 14, 種子皆打碎，不同有機溶劑處理的萃取液，在第 18 小時的相對存活率。水蚤存活率依然甚高。表示脂溶性成分的毒性很弱。

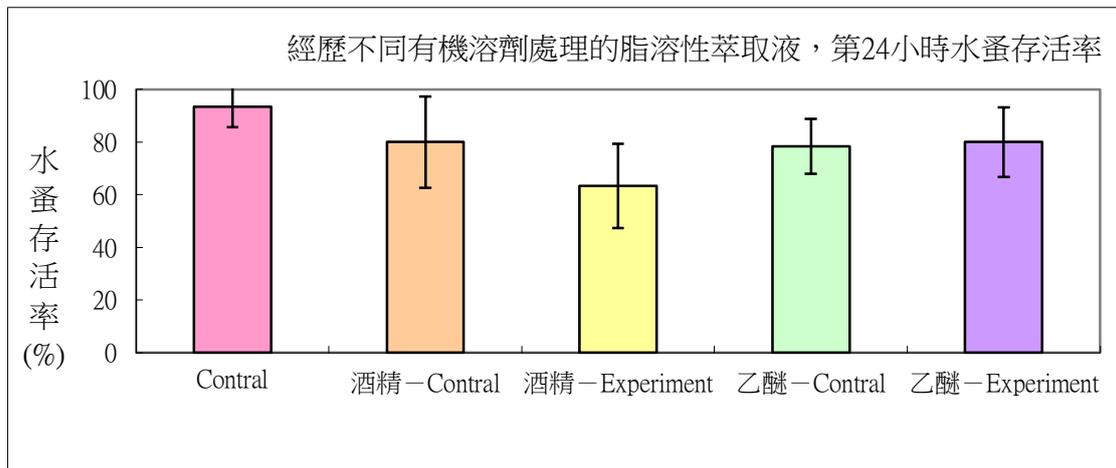


Fig. 15, 種子皆打碎，不同有機溶劑處理的萃取液，在第 24 小時的相對存活

(四)、水萃取液對小白菜種子的測試

1. 10 天後之對照組 Contral (Photo. 2)

添加雞母珠種子萃取液的實驗組 (Photo. 3)

添加雞母珠豆莢萃取液的實驗組 (Photo. 4)



Photo. 2, Contral



Photo. 3, 添加雞母珠種子萃取液的實驗組

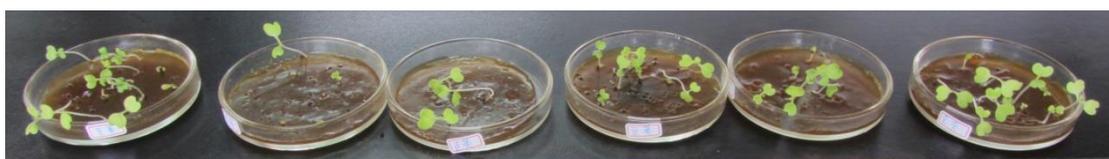


Photo. 4, 添加雞母珠豆莢萃取液的實驗組

2. 萃取液對小白菜種子發芽及幼苗生長的影响，結果如下 (Table 10)

Table 10, 小白菜種子在含雞母珠萃取液培養基播種 10 天後的發芽和幼苗生長高度

項次	Contral			雞母珠種子萃取液			雞母珠豆莢萃取液		
	Repeat - I	Repeat -II	Repeat -III	Repeat-I	Repeat-II	Repeat-III	Repeat-I	Repeat-II	Repeat - III
1	1.5	3.2	1	3	2.6	4	2.8	0.2	0.1
2	3.2	3.8	2.5	0.8	1.1	3.4	2.5	2.7	0.8
3	3.5	3.6	3.2	2.5	1	0.7	3.8	3.5	0.5
4	4.3	3	2.6	0.7	2	2	1.2	3.3	4.5
5	2.4	3.6	1.6	0.6	2	3	4.5	0.2	3
6	2.3	3.1	2.5	0.9	2.2	1.8	2.7	0.1	3.8
7	2	3.3	2.8	2	2.3	0.3	3.3	0.1	2.3
8	2.4	3.4	2.8	2.2	4.6	2.3	0.5	1.5	4.5

9	3.2	2.4	2.3	1.2	3	1.3	0.5	2.3	0.9
10	3.3	2.8	3.5	2.4	1.2	0.3	3.4	0.9	4.5
11	2	0.6	3.2	1.6	1.3	2.4	3.3	3.2	3
12	1.7	2	3.1	2	0.7	2	4.1	4.1	5.5
13	2.3	1.2	2.7	3.6	2.3	0.5	0.3	3.1	1.8
14	2.5	0.7	2.4	3.1	2.6	0.5	1	1.2	4
15	3.5	0.8	0.6	3.5	0	1.3	0.3	2.9	4
16	2	3	1.7	3.1	0	1.2	4.1	2.6	1
17	3.5	2.7	0.5	0.5	0	1	0.9	0	2.5
18	2.7	3.1	2.7	0.3	0	0.5	0.1	0	0.7
19	2.1	3.5	3.3	1.5	0	0	0.1	0	1.3
20	4	3.7	4.3	0	0	0	0	0	0.6
21	3.3	3	2.5	0	0	0	0	0	0
22	3.1	2.5	2.4	0	0	0	0	0	0
23	3	3.5	1.4	0	0	0	0	0	0
24	2.2	3.5	1.5	0	0	0	0	0	0
25	3.1	2.5	1.7	0	0	0	0	0	0
26	4.2	3.6	2.5	0	0	0	0	0	0
27	1.7	1.7	1	0	0	0	0	0	0
28	1.2	1.4	3	0	0	0	0	0	0
29	3.7	3.2	3.5	0	0	0	0	0	0
30	0	3.3	2.7	0	0	0	0	0	0
31	0	0	3.5	0	0	0	0	0	0
32	0	0	1.8	0	0	0	0	0	0
33	0	0	2.8	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
發 芽 率	72.5%	75%	82.5%	47.5%	35%	45%	47.5%	40%	50%
高 度	1.99	2.04	1.99	0.88	0.72	0.71	0.98	0.79	1.25

3. 萃取液對小白菜種子發芽的影響，資料再濃縮如下 (Table 11)  
(Fig. 16)

Table 11，萃取液歷經 10 天對小白菜種子發芽的影響，顯然豆莢水萃取液也有影響，但依然以種子水萃取液抑制效果較顯著。

項次	Contral			雞母珠種子萃取液			雞母珠豆莢萃取液		
	Repeat - I	Repeat -II	Repeat -III	Repeat- I	Repeat- II	Repeat- III	Repeat- I	Repeat- II	Repeat - III
發芽率	72.5 %	75%	82.51 %	47.5%	35%	45%	47.5%	40%	50%
平均發芽率	76.6 ± 5.2%			42.5 ± 6.6%			45.8 ± 5.2%		

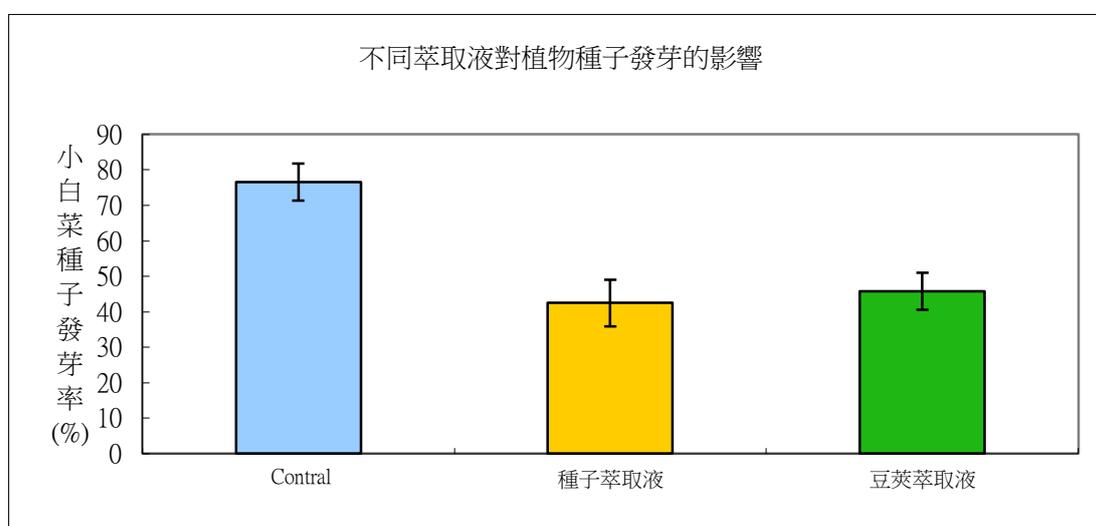


Fig. 16，萃取液歷經 10 天對小白菜種子發芽的影響，顯然豆莢水萃取液也有影響，但依然以種子水萃取液抑制效果較顯著。

4. 萃取液對小白菜幼苗成長的影響，資料再濃縮如下 (Table 12)  
(Fig. 17)

Table 12, 萃取液歷經 10 天對小白菜種子發芽的影響，顯然豆莢水萃取液也有影響，但依然以種子水萃取液抑制效果較顯著。

	Contral			雞母珠種子萃取液			雞母珠豆莢萃取液		
項次	Repeat - I	Repeat -II	Repeat -III	Repeat- I	Repeat- II	Repeat- III	Repeat- I	Repeat- II	Repeat - III
高度	1.99	2.04	1.99	0.88	0.72	0.71	0.98	0.79	1.23
平均高度	2 ± 0.02 cm			0.77 ± 0.09 cm			1 ± 0.22 cm		

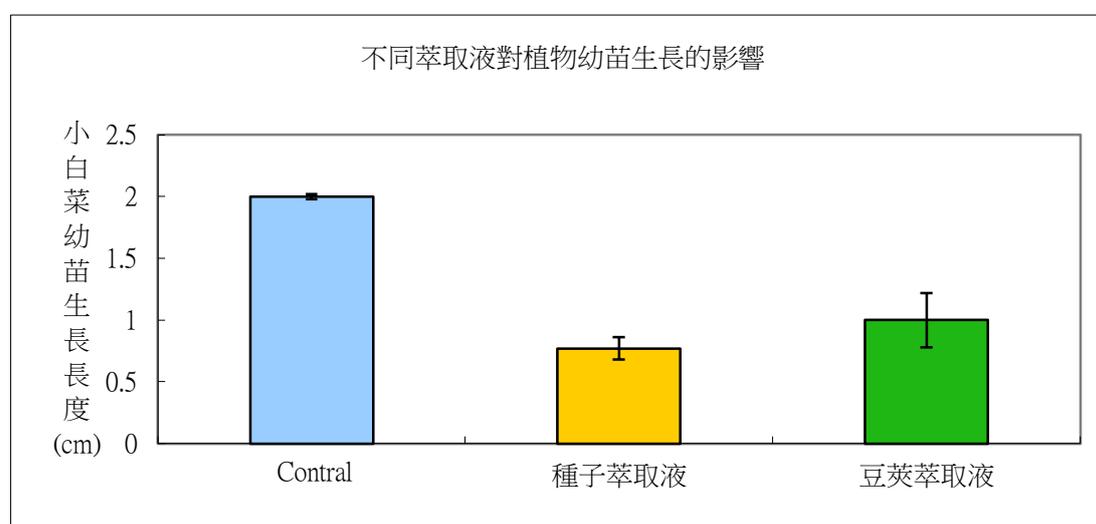


Fig. 17, 萃取液歷經 10 天對小白菜種子發芽的影響，顯然豆莢水萃取液也有影響，但依然以種子水萃取液抑制效果較顯著。

## 二、第二主軸的結果

### (一) 加酸或鹼以去毒的結果

1. 水蚤存活量愈多表示去毒成效愈好，反之，成效愈不佳。
2. 由資料顯示毒性依然存在，沒有被有效去除。(Table 13)  
(Fig.18 , Fig.19)

Table 13, 由資料顯示毒性依然存在

經歷時間	第 12 小時存活量				第 16 小時存活量			
	I	II	III	平均	I	II	III	平均
<b>Repeat</b>								
<b>Contral</b>	13	18	13	14.6 ± 2.8	12	11	8	10.3 ± 2.1
<b>60°C-10 ml</b>	7	7	5	6.3 ± 1.1	0	1	0	0.3 ± 0.5
<b>60°C-10 ml-pH 2</b>	5	5	10	6.6 ± 2.8	5	2	2	0.3 ± 1.7
<b>60°C-10 ml-pH 12</b>	4	2	2	2.6 ± 1.1	0	0	0	0 ± 0

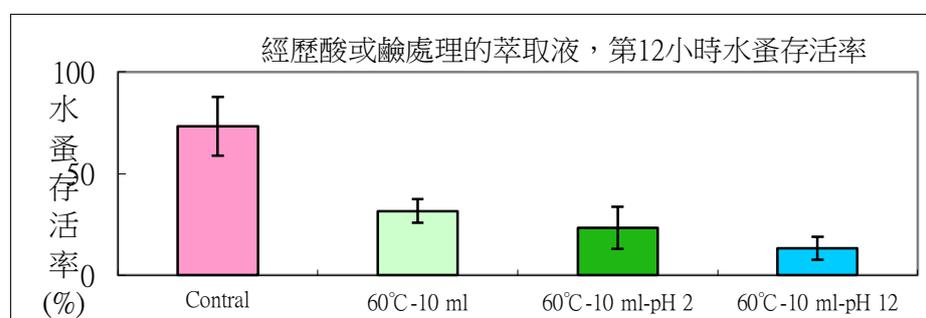


Fig. 18, 經 12 小時後結果如上。

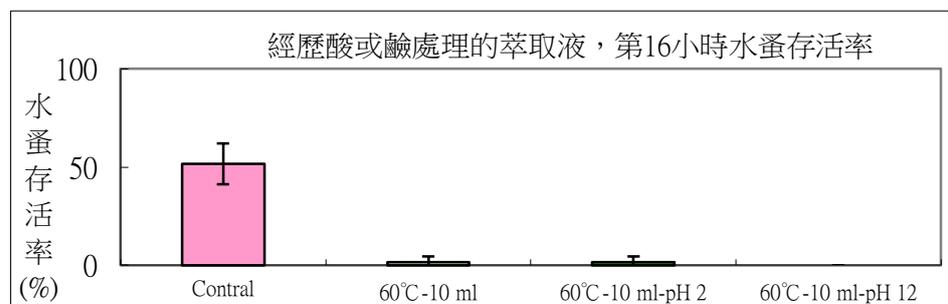


Fig. 19, 經 16 小時後結果如上,可見加酸或加鹼處理毒性依然存在。

## (二) 加酵素的去毒結果

1. 水蚤存活量愈多表示去毒成效愈好，反之，成效愈不佳。
2. 但結果顯示成效不佳

Table 14

經歷時間	第 12 小時存活量				第 16 小時存活量			
	I	II	III	平均	I	II	III	平均
Repeat								
Control	13	18	13	14.6 ± 2.8	12	11	8	10.3 ± 2.1
60°C-10 ml	7	7	5	6.3 ± 1.1	0	1	0	0.3 ± 0.5
酵素-Contral	12	15	12	13 ± 1.7	12	15	12	13 ± 1.7
60°C-10 ml-酵素	8	8	12	9.3 ± 2.3	2	5	5	4 ± 1.7

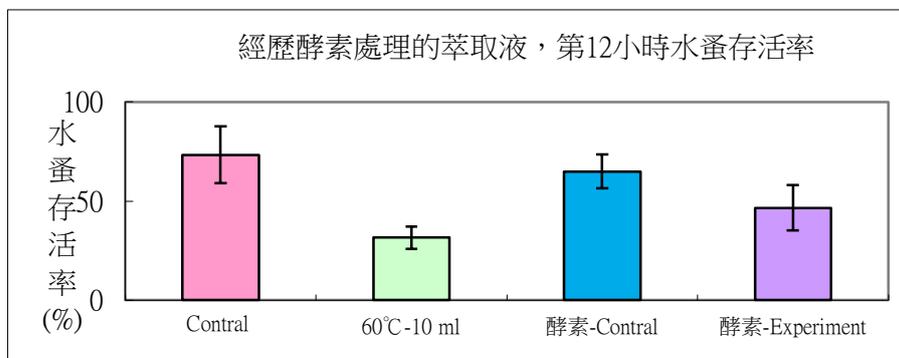


Fig. 20，經 12 小時後結果

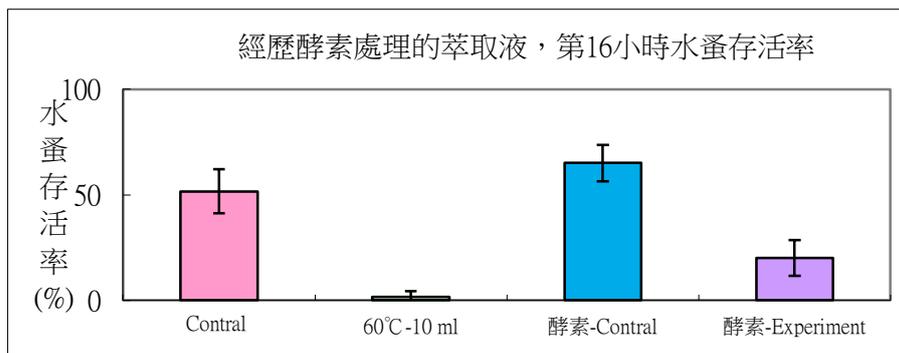


Fig. 21，經 16 小時後結果，酵素實驗組的表現，不

(三) 將萃取液直接調成 pH8，結果如下 (Table 15)

Table 15 直接調整萃取液的酸鹼值至 pH8.5，再加入含水蚤的水溶液。最後約為 pH8.1

經歷時間	第 12 小時存活量				第 16 小時存活量			
	I	II	III	平均	I	II	III	平均
<i>Repeat</i>								
<i>Contral</i>	13	18	13	14.6 ± 2.8	12	11	8	10.3 ± 2.1
<i>60°C-10 ml</i>	7	7	5	6.3 ± 1.1	0	1	0	0.3 ± 0.5
<i>60°C-10 ml-pH 8</i>	5	5	10	6.6 ± 2.8	5	2	2	3 ± 1.7

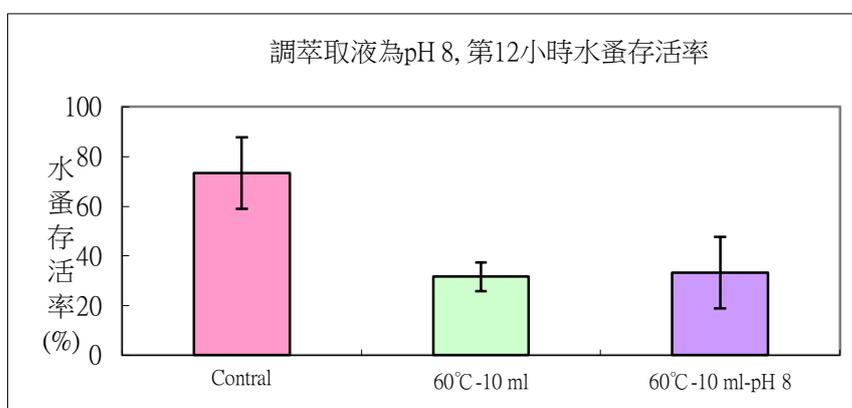


Fig. 22，經 12 小時後結果如上

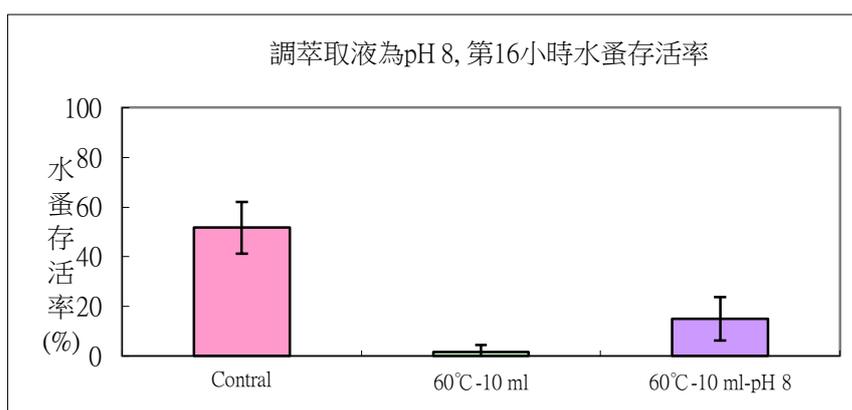


Fig. 23，經 16 小時後結果如上

(四) 為清晰呈現量化結果，我們定義生存力指數為各組和對照組 *Contral* 的相對生存率，結果如下 (Table 16)

Table 16，生存力指數，我們定義生存力指數為各組和對照組 *Contral* 的相對生存率，由結果可知酵素相對效果略佳，但仍不盡理想。

	<i>Contral</i>	60°C-10 ml	60°C-10 ml-pH 2	60°C-10 ml-pH 12	60°C-10 ml-酵素	60°C-10 ml-pH 8
存活率 (%)	51.6	1.6	1.6	0	20	15
<b>Contral</b> 的存活率 (%)	51.6	51.6	51.6	51.6	51.6	51.6
生存力指數	1	0.03	0.03	0	0.38	0.29

(四)、煮沸或調整 pH，並減量的結果。(Table 17)  
(Fig.24, Fig. 25, Fig.26)

Table 17，煮沸萃取液減量成 5c.c. 加水蚤 95c.c. 減毒成效最佳。對比取自 60°C處理的萃取液 5C.C 加水蚤 95c.c.，則依然有毒性。煮沸萃取液 10c.c. 加水蚤 90c.c.則依然有毒性。60°C處理的萃取液 5C.C 調成 PH8 加水蚤 95c.c.亦有減毒成效。

經歷時間	第 6 小時存活量				第 12 小時存活量				第 17 小時存活量			
	I	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III	平均
<i>Repeat</i>												
<i>Contral</i>	19	20	19	19 ± 0.6	12	14	13	13 ± 1	12	11	12	11.6 ± 0.6
煮沸水萃液 5 ml	20	18	20	19.3 ± 1.2	18	15	17	16.6 ± 1.5	19	14	20	17.6 ± 3.2
煮沸水萃液 10 ml	17	19	17	17.6 ± 1.2	4	5	6	5 ± 1	1	3	3	2.3 ± 1.2
60°C水萃液 10 ml	18	13	16	15.6 ± 2.5	0	0	0	0 ± 0	0	0	0	0 ± 0
60°C水萃液 5 ml + 煮沸水萃液 5 ml	12	16	15	14.3 ± 2.1	0	0	0	0 ± 0	0	0	0	0 ± 0

<b>60°C水萃液 5 ml</b>	16	16	18	16.6 ± 1.2	0	1	0	0.3 ± 0.6	0	0	0	0 ± 0
<b>60°C水萃液 5 ml 調成 pH 8</b>	18	18	15	17 ± 1.7	10	13	12	11.6 ± 1.5	5	12	12	9.7 ± 4

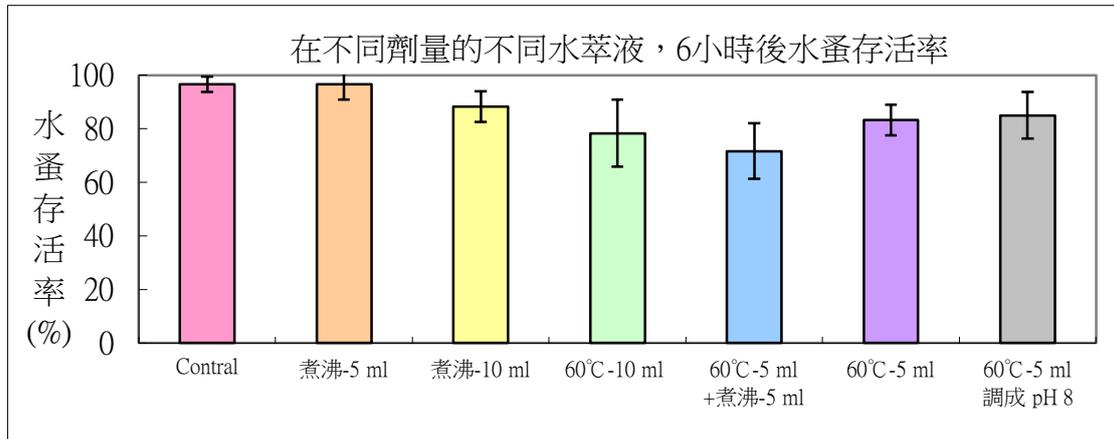


Fig.24 在 6 小時後的結果

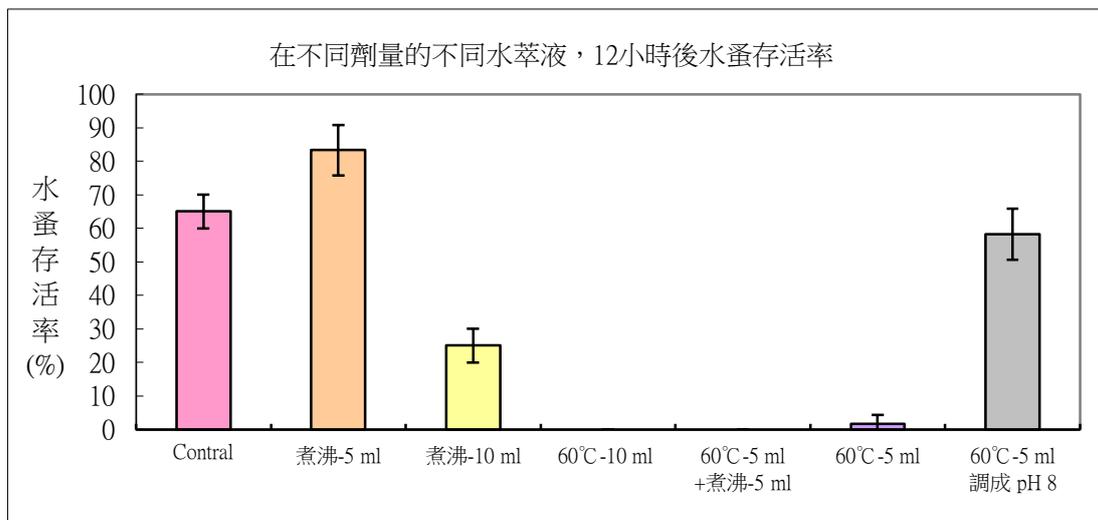


Fig.25 在 12 小時後的結果

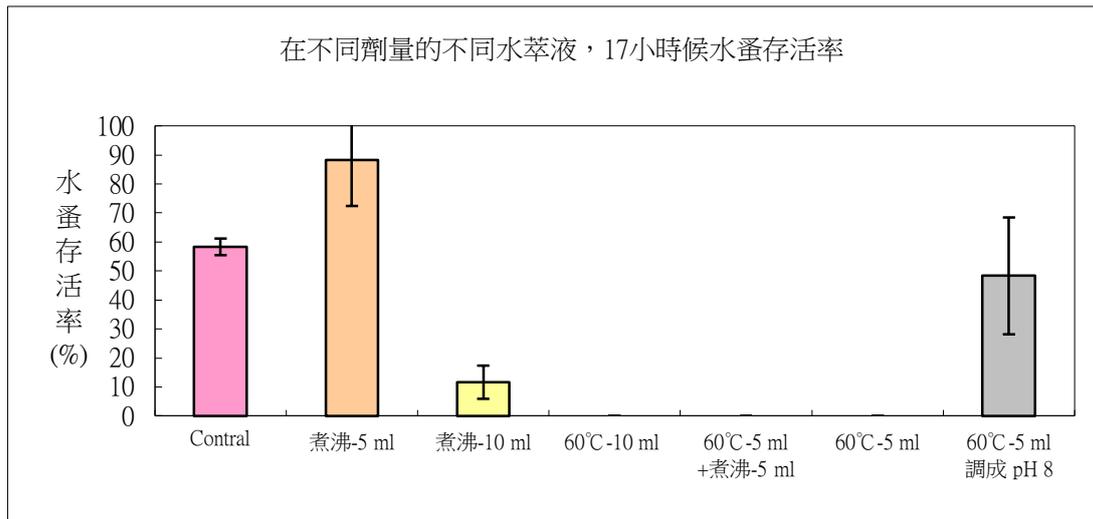


Fig.26 在 17 小時後，加入經煮沸處理的雞母珠種子水萃液 5 ml（簡稱：煮沸-5ml），水蚤的生存率明顯優於其他各組，甚至比對照組表現更好。相較之下，加入經煮沸處理的雞母珠種子水萃液 10 ml（簡稱：煮沸-10 ml）則對水蚤依然有毒性。再者，加入經 60°C 處理的雞母珠種子水萃液 5 ml（簡稱：60°C-5ml），對水蚤即足以構成極致的生存威脅。而且也會抵銷「煮沸-5ml」帶來的生存優勢（見：60°C 水萃液 5 ml + 煮沸水萃液 5 ml）但如果 60°C 處理的雞母珠種子水萃液，先調整成 pH 8.5, 再取 5 ml 加入水蚤（簡稱：60°C-5ml 調成 pH 8），卻可提高生存率。

（五）結果可知低劑量煮沸處理的萃取液效果最好。（簡稱：煮沸-5 ml）

60°C- 5 ml-pH 8：表現次之，這是低劑量，直接調至 pH 8 的那一組（Table 18）

Table 18，我們定義生存力指數為各組和對照組 *Control* 的相對生存率，由結果可知低劑量煮沸處理的萃取液效果最好。（簡稱：煮沸-5 ml）

60°C- 5 ml-pH 8：表現次之，這是低劑量，直接調至 pH 8 的那一組

	<i>Control</i>	煮沸-5 ml	煮沸-10 ml	60°C-10 ml	60°C- 5 ml + 煮沸 5 ml	60°C- 5 ml	60°C- 5 ml-pH 8
存活率 (%)	58.5	88.3	11.6	0	0	0	48.3
<i>Control</i> 的存活率 (%)	58.5	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3
生存力指數	1	1.51	0.19	0	0	0	0.82

## 陸、討論

- 一、開始的逐一計時清點，我們只計數到前 6 小時和後 6 個小時，共取得 13 個時間的數據。到了第 7 至第 17 時的時段，適逢深夜至凌晨。這已超越我們的人力配置，故此部分的資料不得不從缺。不過從這些取得的數據，已足以判定在第 18 時，對 60 °C 的萃取液而言，表現毒性最強。其三重覆的平均值顯示此時已越過半數致死量的時間點。所以我們將儘量以此為基準。以 60 °C 的萃取液為毒性萃取液的標準溶液。以 16 時或 17 時為計時基準。
- 二、在本研究中以水蚤作為生物指標，方便易用。數量的計算，逐一清點。精準度高，容易維護。但水蚤的最適合生長溫度為 25°C，在目前氣溫常上升至 30°C 或以上的情況。水蚤生長或生存難免會受影響，對實驗的順利進行帶來很大的挑戰，這也是後來我們必須轉移至 *Daphnia pulex* 的原因。但我們仍會密切注意實驗生物的一致性。
- 三、雞母珠種子打碎後，毒性才能明顯表現，種皮明顯有阻隔的的效應。而透過敲碎種皮溶出的成分其實是複雜的。所以我們研究評估的對象，其實是複合物的綜合成效。
- 四、水溶性萃取液在 40°C、60°C、80°C、100°C、煮沸等處理方式，添加量為萃取液：水蚤液=1：9 時皆呈現毒性。只是相較之下 60°C 最顯著。我們因此考量有必要進一步在稍後進行減量的設計即 萃取液：水蚤液=1：19
- 五、經過改善有機溶劑的回溶程序，脂溶性的萃取成分，顯示較不具毒性。但問題是回溶的溶劑是水，仍無法排除水無法有效帶出脂溶性的成分，以致造成誤判的可能性。但不管是酒精或乙醚都不適合直接加入水蚤。我們的最初的測試就已印證這一點了。看來水的回溶也是不得不然的選擇。
- 六、鹽的滲透作用，也是我們必須時時留意的重點。因為使用酸或鹼處理萃取液的前置作業完成後，必須再調回合適的 pH 值，才能加入水蚤。但酸鹼中和的同時也會產生鹽。故其量的變化。也是我們關注的焦點。
- 七、對於減毒的程序，朝加熱、加酸、加鹼、加酵素、直接調整酸鹼值等方式進行。再配何部分毒性物質減量測試。
- 八、加熱煮沸處理後的萃取液，在高劑量（萃取液：水蚤液=1：9）雖然減毒

成效不若預期，但在低劑量（萃取液：水蚤液=1：19）卻有不一樣轉折。

九、為評估我們一系列減毒的成效如何，於是以對照組的 16 至 17 小時存活率為基準，定義各組的相對存活率為生存力指數，對照組的生存力指數訂為 1。從生存力指數可方便知道各組所用萃取液對水蚤生存影響的成效大小。

十、雞母珠萃取液無論來雞母珠種子或雞母珠豆莢對小白菜的發育皆有影響，尤其是雞母珠種子萃取液對小白菜發芽率及幼苗的生長發育的影響更大。

## 柒、結論

一、雞母珠的毒性成分，在水溶性的部分，即會對受測生物，造成明顯傷害。至於脂溶性的部分。利用酒精和乙醚溶解，再利用水回溶，所得萃取液毒性不明顯。可見有毒成分主要是水溶性物質。

二、種子釋出有毒萃取物最大效能所對應的溫度，約在 60 °C。以 1 ml 溶劑溶解 0.1 克雞母珠之比例所得萃取液。再以 1:9 的比例加入水蚤水溶液，去測試生物（水蚤），則半數致死時會小於 18 小時。這是對照組水蚤處於最佳狀態時所得的結果。這也是一個重要參考指標，但如果水蚤生存狀態偏弱（可由對照組的生存狀態），則各組相同時間點死亡率會偏高，存活率會更低。於是我們發展出生存力指數的概念指標，以方便評比。

三、煮沸處理的萃取液以 1 ml 溶劑溶解 0.1 克雞母珠所得萃取液。再以 1:9 的比例加入水蚤水溶液，對 *Daphnia pulex* 仍有毒性，但如降低添加比例為 1:19，則毒性明顯大幅下降。甚至使水蚤的存活率優於對照組。這個結果顯示低濃度的煮沸處理萃取液可能有藥理作用的價值。相較之下，低濃度的 60 °C 萃取液也依然有毒。由此可知煮沸的雞母珠種子對水蚤而言是藥或是毒有一個微妙的分界點或分界區域。這個分界區域或分界點就在煮沸萃取液濃度 10 ml 和 5 ml 之間（換算粗估濃度約在 0.01 g/ml 至 0.005/ml 之間）。放大來看，雞母珠種子是藥或是毒，對每一種不同的生物應各自有不同的分界點或分界區域。我們的研究明確顯示此一事實。也為想利用此藥理作用的人提供非常重要的指引。

四、胰蛋白酶對高濃度的 60 °C 萃取液（1:9），去毒成效仍不夠理想。這也意味著動物如不慎誤食雞母珠種子，對消化酵素的解毒，尤其是分解蛋白質的酵素，無法寄以厚望。不過有文獻資料指出毒性關鍵是蛋白質（參考

資料4)但我們的研究指出，加熱不能完全去毒，顯示另有影響因子協同運作。可見複合物的萃取物效果不等同單一成分的推理。我們的研究明白的確認

五、調整高濃度 60 °C 萃取液的 pH 值（生存力指數 0.29），雖略見成效，但仍不及胰蛋白酶的效果（生存力指數 0.38），進一步追蹤調整低濃度 60 °C 萃取液的 pH 值，降低毒性的表現則見成長（生存力指數 0.82）。可見 pH 值在毒性的表現上，扮演一部分角色。在毒性濃度不超標時，調整 pH 值，對解毒有一定的成效（生存力從 0.29 上升至 0.82）。從另一角度來看，水蚤有生存的最適宜酸鹼度，調整 pH 值可能有助於水蚤對毒性的容受度。

六、酸化或鹼化的處理，對去毒完全沒有成效。不過在酸化或鹼化的過程中，欲達目標的 pH 值，所用的酸或鹼的劑量往往和預期不同。這可能是萃取液中蛋白質成分的緩衝作用所致。

七、雞母珠的毒性成分無論對動物或植物的生長皆有影響。

八、我們認為如將水蚤添加低濃度的煮沸過的萃取液，長期培養，可能可提高水蚤對雞母珠毒性的耐受程度。不過這有待進一步確認。

九、未來也許可以用海拉細胞(HeLa Cells)為雞母珠的研究標的

## 捌、參考資料

1. 黃士元，臺灣的有毒植物，自然保育季刊，2001.3 第 33 期 P.20-31
2. 維基百科 <https://zh.wikipedia.org/wiki/雞母珠>
3. 環保署環境檢驗所，生物急毒性檢驗方法—水蚤靜水式法，  
<http://www.niea.gov.tw/niea/pdf/LIVE/B90114B.pdf>
4. Kirsten J. Dickers, Sally M. Bradberry, Paul Rice, Gareth D. Griffiths and J. Allister Vale1，Abrin Poisoning . Toxicol Rev 2003; 22 (3): 137-142

## 【評語】 030318

1. 此作品主要欲探討雞母珠種子的水溶性及脂溶性萃取物對水蚤的毒理作用，其結果發現低劑量煮沸過的雞母珠萃取液反而有助於水蚤的存活率。
2. 研究的立意之一是提供資訊避開其毒害，但也須注意是否會因該處理而導致其藥效降低。
3. 單一成分與粗萃取物之間，本來就存在著作用機制上的差異；而對某些藥物，低濃度與高濃度化合物的功能是有可能相反的。因此建議要單純化所使用的材料。此外，也要注意，所使用的細胞類型不同，化合物的作用結果也可能不同。