

# 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

030322

探討綠豆水抑制黴菌之效果與應用

學校名稱：臺北市立敦化國民中學

作者：  國二 王濰平  國二 王友雋	指導老師：  劉睿荷  李彥志
---------------------------------	-----------------------------

關鍵詞：綠豆發芽、抑制黴菌、抑黴蛋白質

## 摘要

綠豆在生長時會分泌抑制黴菌生長的物質，當溫度在 22°C~25°C 之間時，大約在開始生長後的 2~3 天就會開始分泌，在 120 mL 的水中放入 120 顆綠豆並泡 3 天的綠豆水中，而當溫度在 25°C~29°C 之間時，大約在開始生長後 2 天內就會開始分泌，在 120 mL 的水中放入 240 顆綠豆並泡 3 天的綠豆水中時抑菌效果最好。經過實驗的分析後，泡綠豆水中含有多種可抑制黴菌生長的蛋白質，其中主要的抑菌蛋白質的分子量在 30 kD~50 kD 及 50 kD~100 kD 之間。經過電泳分析後綠豆水中至少有 11 種可能的蛋白質，分子量從約 35 kD 到超過 170 kD，所以之後我們取分子量大於 10 kD 的綠豆水，並將其冷凍乾燥後，探討生活中的應用。

## 壹、研究動機

小學自然課中做過綠豆發芽的實驗，在探討綠豆發芽的過程中，我們發現綠豆在潮濕的狀況下最容易發芽！照理說，潮濕的狀況下應該也很容易長黴，但在記憶中，卻沒有任何一組觀察到長黴的現象！我們在七下的生物課時學到生物間有交互關係，引發了我們想了解綠豆和黴菌之間的關係，探討在綠豆發芽的過程中，是否會為了保護自己而抑制黴菌，甚至殺死黴菌！

## 貳、研究目的

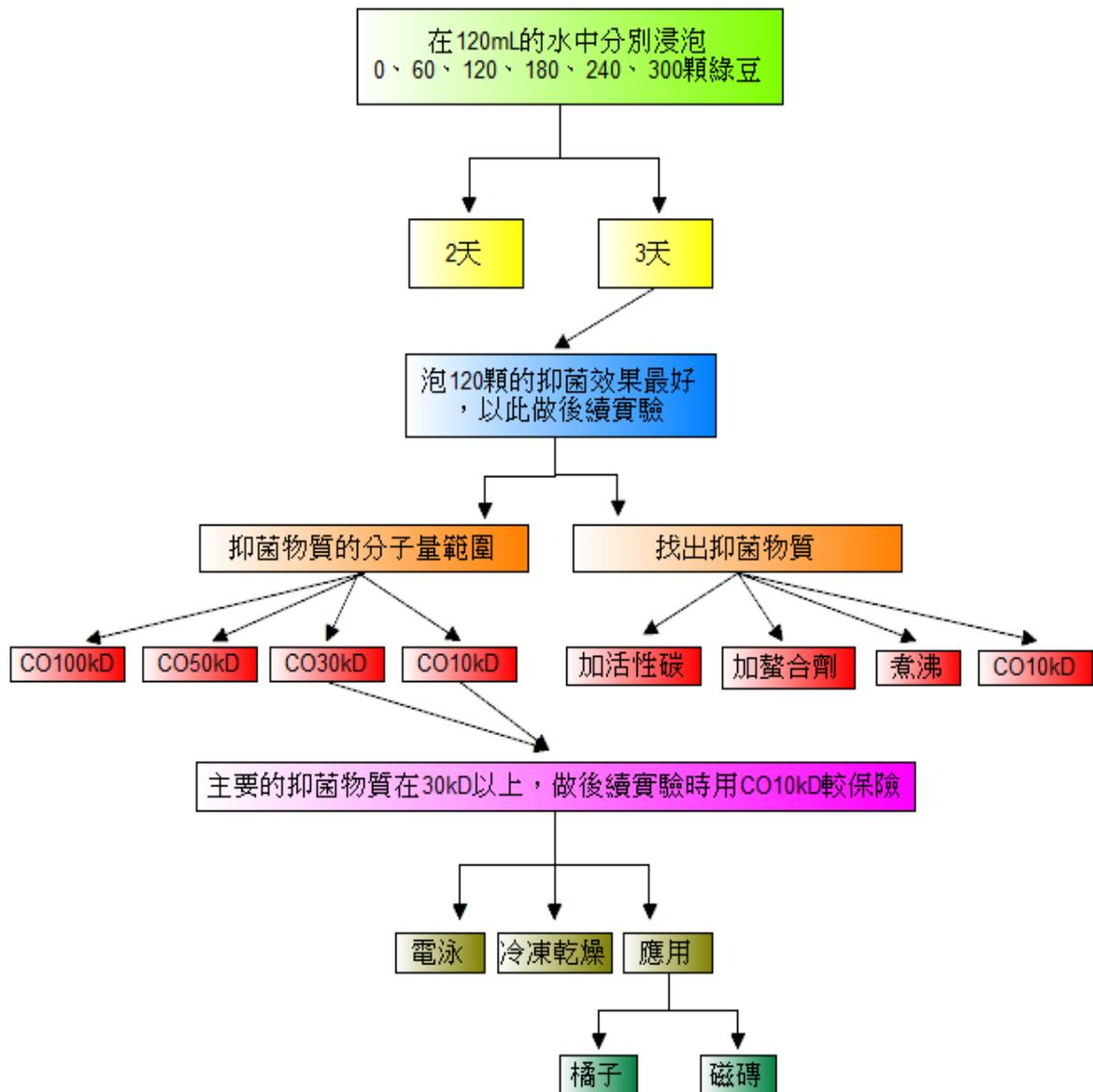
- 一、探討浸泡溫度和綠豆顆數及天數與抑制黴菌的效果關係？
- 二、想找出綠豆發芽時，抑制黴菌生長的物質為何？
- 三、想找出綠豆發芽時，抑制黴菌生長的物質的分子量範圍為何？
- 四、利用電泳找出泡綠豆水中的蛋白質分子量分布情形。
- 五、利用冷凍乾燥把泡綠豆水中的水分去除。
- 六、探討泡綠豆水利用於生活中的可能性。

## 參、研究設備及器材

				
25 mL 量筒	100 mL 量筒	500 mL 血清瓶	500 mL 錐形瓶	75%酒精
				
蛋白質濃縮管	螯合劑	活性炭	分析天平	石臘膜
				
滴管	吸量管	離心管	刮勺	微量吸量管
				
吸量管輔助器	電磁加熱攪拌器	培養皿	離心機	吐司
				
電鍋	鋁箔紙	滅菌膠帶	布丁杯	振盪器
				
高溫高壓蒸氣滅菌鍋	RO 水	電源供應器	電泳槽	冷凍乾燥機

## 肆、研究過程及方法

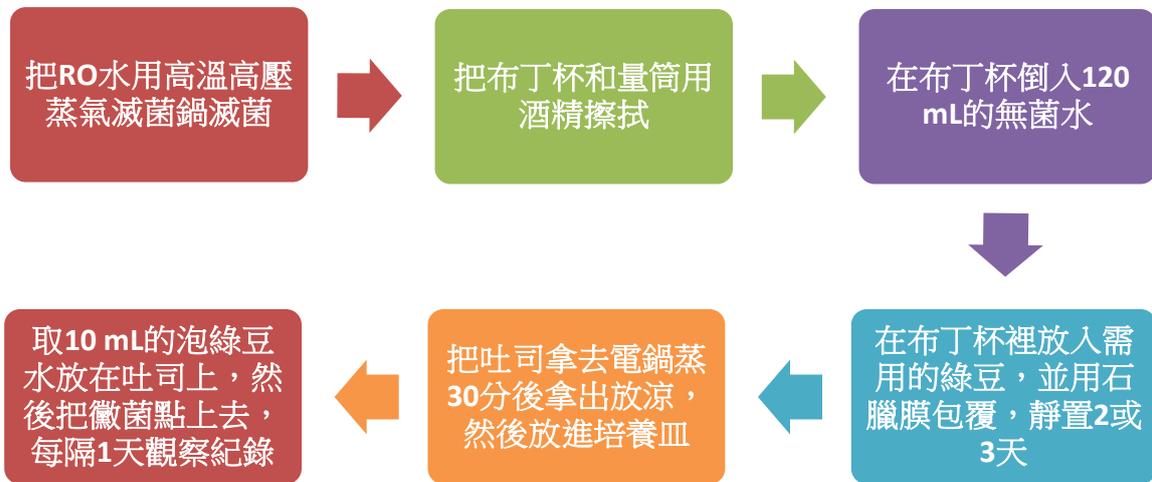
### 一、研究流程



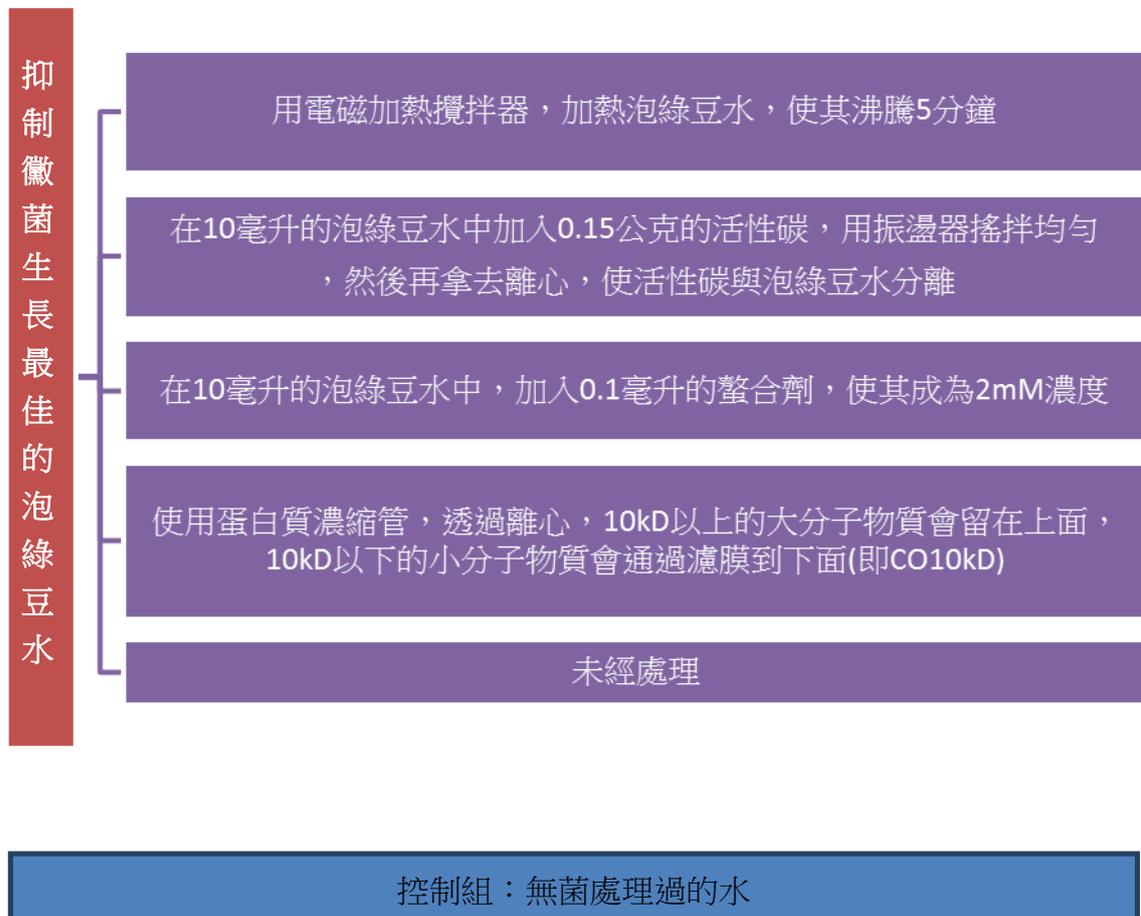
註：kD, kilodalton, 分子質量單位  
CO, cut off 的縮寫

## 二、研究方法

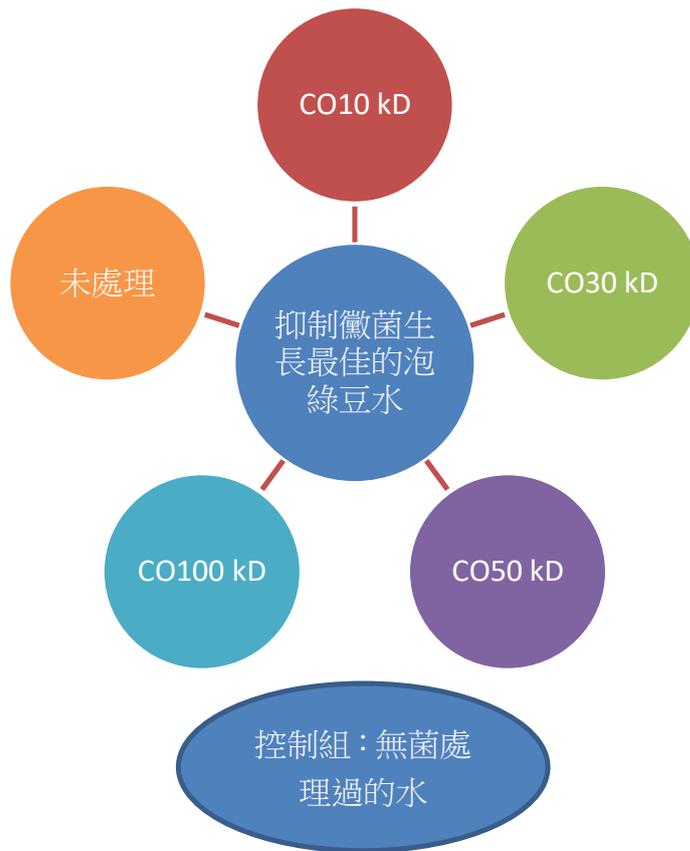
### (一) 探討浸泡溫度和綠豆顆數及天數與抑制黴菌的效果關係?



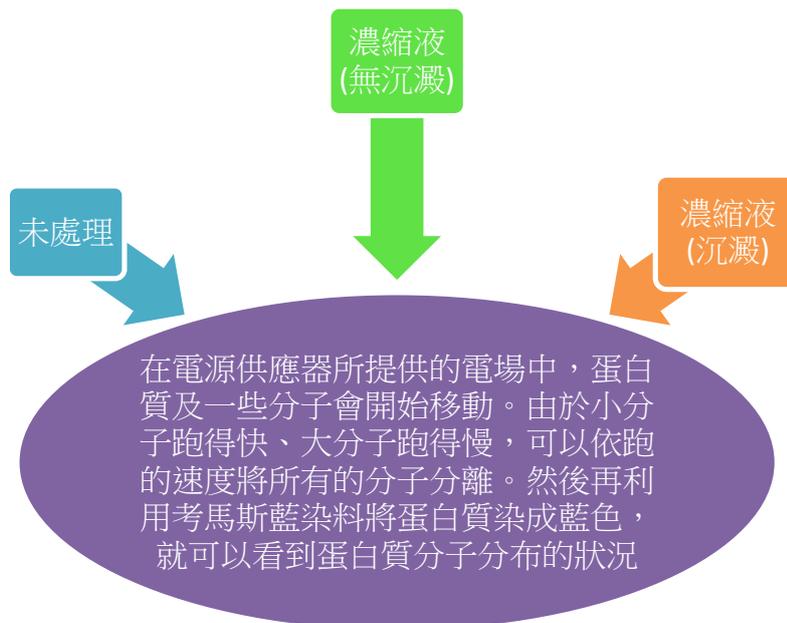
### (二) 想找出綠豆發芽時，抑制黴菌生長的物質為何?



(三) 想找出綠豆發芽時，抑制黴菌生長的物質的分子量範圍為何？



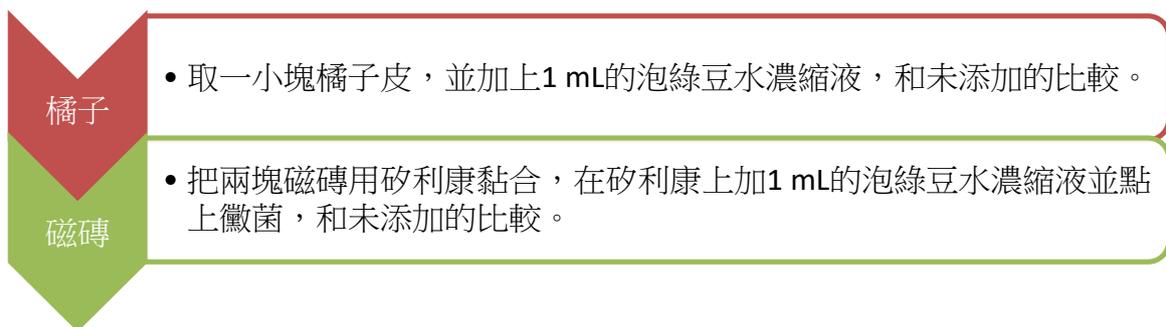
(四) 利用電泳找出泡綠豆水中的蛋白質分子量分布情形。



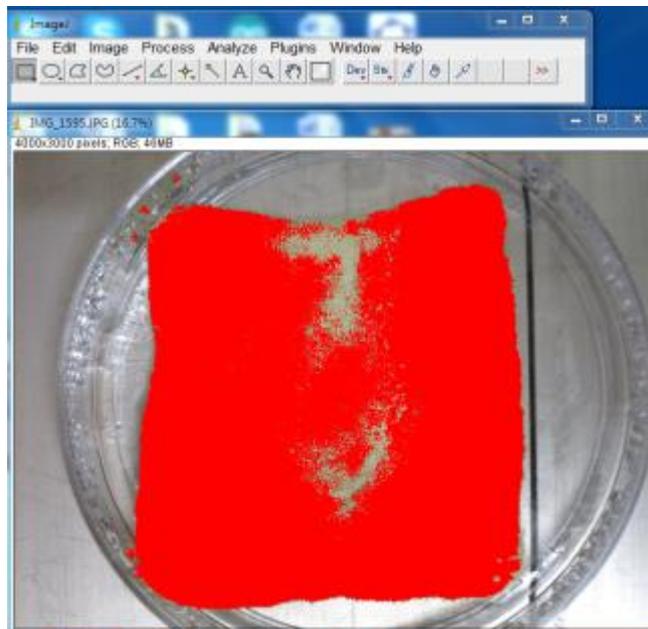
(五) 利用冷凍乾燥把泡綠豆水中的水分去除。



(六) 探討泡綠豆水利用於生活中的可能性。



(七) 用 imagej 分析覆蓋率。



## 伍、研究結果

一、探討浸泡溫度和綠豆顆數及天數與抑制黴菌的效果關係？

(一) 當溫度為 22°C~25°C 時的結果

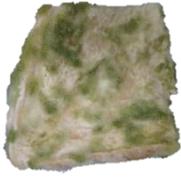
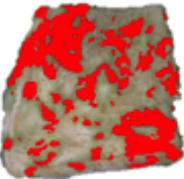
生長情形			
黴菌覆蓋 範圍			
浸泡顆數	0 顆/120 mL	60 顆/120 mL	120 顆/120 mL
覆蓋率(%)	31.05%	73.55%	96.25%
生長情形			
黴菌覆蓋 範圍			
浸泡顆數	180 顆/120 mL	240 顆/120 mL	300 顆/120 mL
覆蓋率(%)	92.28%	66.07%	爛掉

圖 1：22°C~25°C 時泡 2 天時浸泡不同顆數的綠豆水，抑制黴菌生長的情形

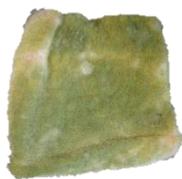
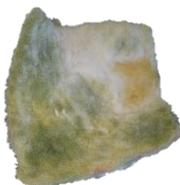
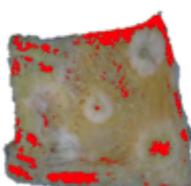
生長情形			
黴菌覆蓋 範圍			
浸泡顆數	0 顆/120 mL	60 顆/120 mL	120 顆/120 mL
覆蓋率(%)	90.98%	94.00%	76.93%
生長情形			
黴菌覆蓋 範圍			
浸泡顆數	180 顆/120 mL	240 顆/120 mL	300 顆/120 mL
覆蓋率(%)	92.28%	82.15%	爛掉

圖 2：22°C~25°C 時泡 3 天時浸泡不同顆數的綠豆水，抑制黴菌生長的情形

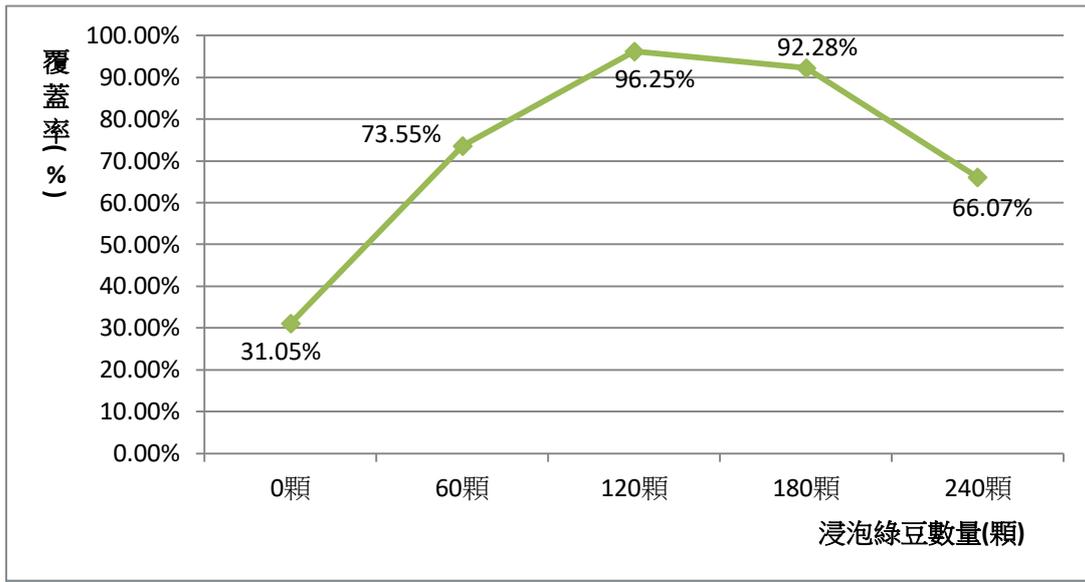


圖 3：22°C~25°C 時泡 2 天時浸泡不同顆數的綠豆水與黴菌覆蓋率的關係圖

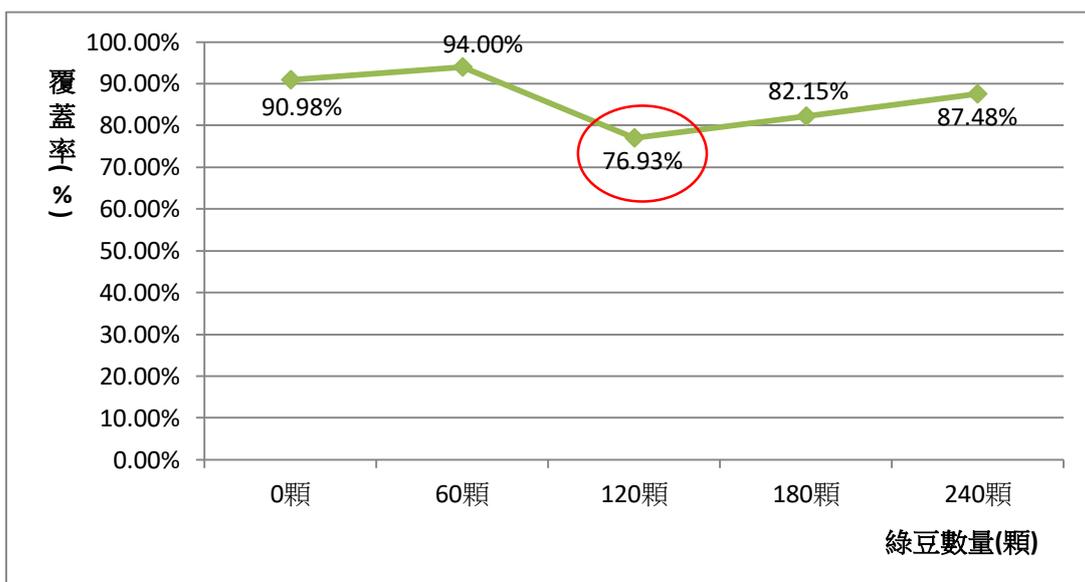


圖 4：22°C~25°C 時泡 3 天時浸泡不同顆數的綠豆水與黴菌覆蓋率的關係圖

註：泡 300 顆的吐司已腐爛因此不計算其覆蓋率

(二)當溫度為 25°C~29°C 時的結果

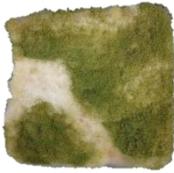
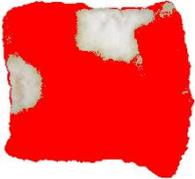
生長情形			
黴菌覆蓋情形			
浸泡顆數	0 顆/120 mL	60 顆/120 mL	120 顆/120 mL
覆蓋率(%)	93.14%	78.18%	97.22%
生長情形			
黴菌覆蓋情形			
浸泡顆數	180 顆/120 mL	240 顆/120 mL	300 顆/120 mL
覆蓋率(%)	71.18%	48.25%	48.27%

圖 5：25°C~29°C 時泡 2 天時浸泡不同顆數的綠豆水，抑制黴菌生長的情形

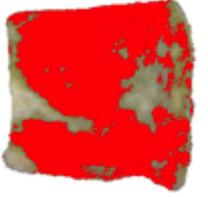
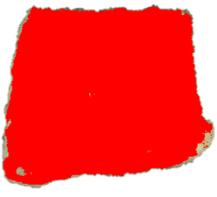
生長情形			
黴菌覆蓋情形			
浸泡顆數	0 顆/120 mL	60 顆/120 mL	120 顆/120 mL
覆蓋率(%)	93.14%	69.70%	69.79%
生長情形			
黴菌覆蓋情形			
浸泡顆數	180 顆/120 mL	240 顆/120 mL	300 顆/120 mL
覆蓋率(%)	87.11%	9.20%	84.94%

圖 6：25°C~29°C 時泡 3 天時浸泡不同顆數的綠豆水，抑制黴菌生長的情形

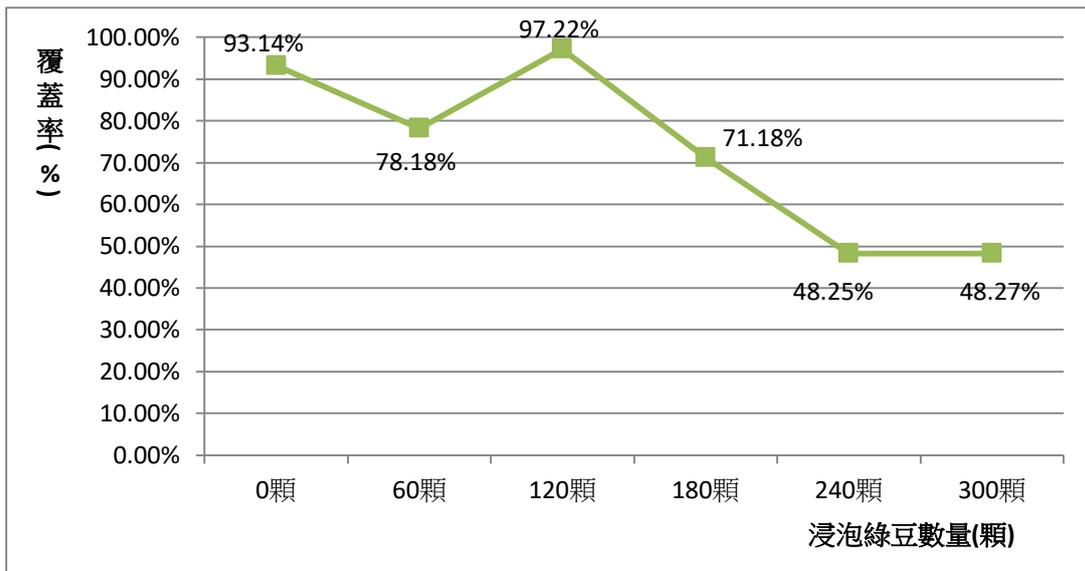


圖 7：25°C~29°C 時泡 2 天時浸泡不同顆數的綠豆水與黴菌覆蓋率的關係圖

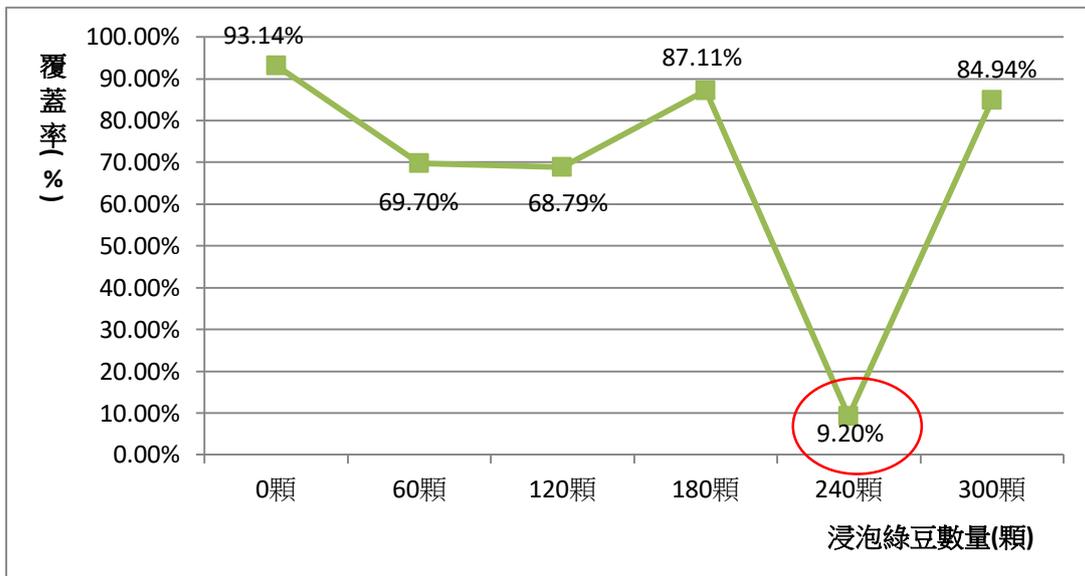


圖 8：25°C~29°C 時泡 3 天時浸泡不同顆數的綠豆水與黴菌覆蓋率的關係圖

(三) 結論：

1. 當溫度為 22°C~25°C：

- (1) 無論泡 2 天還是 3 天，浸泡過多綠豆會導致吐司腐爛。
- (2) 泡 2 天的綠豆水中，無論浸泡顆數為何，都沒有抑菌效果，反而助長黴菌。
- (3) 在泡 3 天的綠豆水中，浸泡 120、180 顆綠豆時有較明顯的抑菌效果，其中以 120 顆最佳。

2. 當溫度為 25°C~29°C：

- (1) 除了泡 2 天 120 顆的綠豆水，其餘皆有抑菌效果。
- (2) 當溫度較高時浸泡較多綠豆不會導致吐司腐爛。
- (3) 在泡 3 天的綠豆水中，浸泡 240 顆有明顯的抑菌效果。

3. 綠豆水抑制黴菌的效果會因溫度而有所異。

二、在最佳抑制黴菌生長的狀況下，是何種物質可以抑制？

(一) 結果

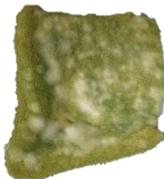
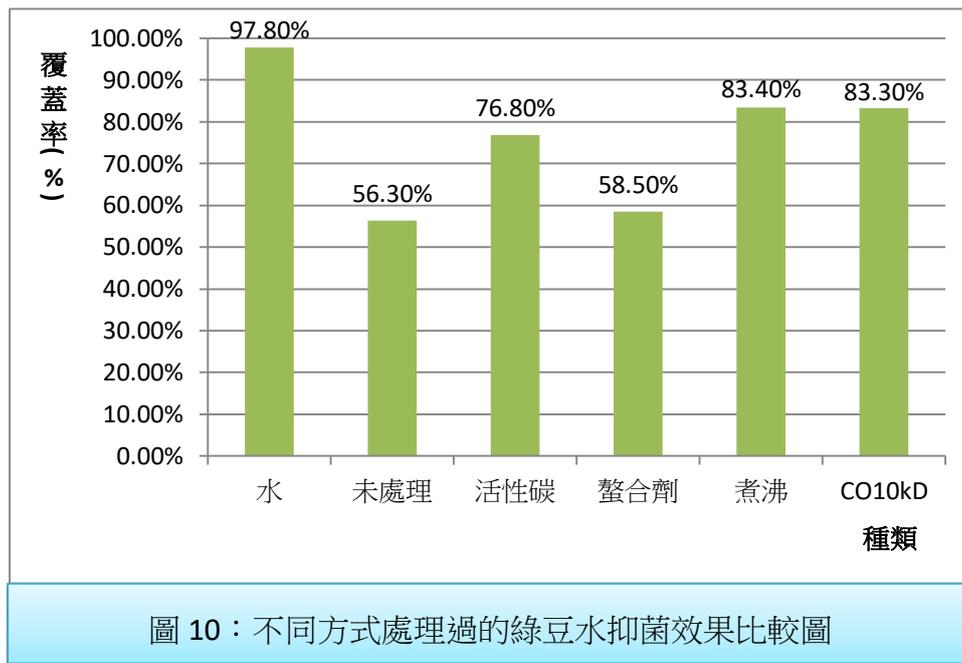
生長情形			
黴菌生長情形			
種類	滅菌水	未處理的泡綠豆水	加入螯合劑
覆蓋率(%)	97.80%	56.30%	58.50%
生長情形			
黴菌生長情形			
種類	加入活性碳	煮沸	CO10 kD
覆蓋率(%)	76.80%	83.40%	83.30%

圖 9：分別處理綠豆水後，抑制黴菌生長的情形



(二) 結論：

比較未經處理過的綠豆水和經過各種處理方式處理後的綠豆水後，我們發現加入螯合劑的綠豆水仍保有抑菌效果，加入活性炭的綠豆水抑菌效果比較差，但是煮沸和去除大分子的綠豆水失去了抑菌效果，所以我們推測在綠豆水中不只一種抑菌物質，其中大分子蛋白質為主要抑制黴菌的物質。

三、找出綠豆發芽時，抑制黴菌生長的物質的分子量範圍為何？

(一) 結果：

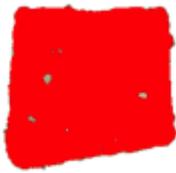
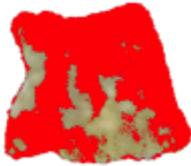
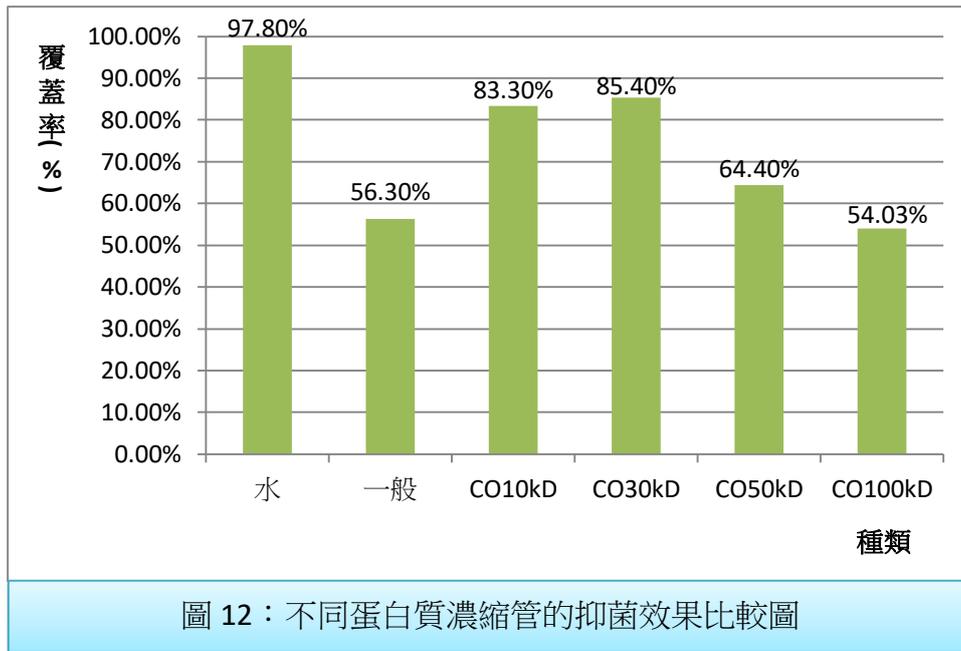
生長情形			
黴菌覆蓋範圍			
種類	滅菌水	未處理的泡綠豆水	CO10 kD
覆蓋率(%)	97.80%	56.30%	83.30%
生長情形			
黴菌覆蓋範圍			
種類	CO30 kD	CO50 kD	CO100 kD
覆蓋率(%)	85.40%	64.40%	54.03%

圖 11：使用不同的蛋白質濃縮管，抑制黴菌生長的情形



(二) 結論：

1. 可以抑制黴菌生長的蛋白質不只一種，大多數能抑菌的蛋白質的分子量大於 30 kD。
2. 主要的抑菌蛋白質的分子量在 30 kD~50 kD 之間，而其他的抑菌蛋白質有的分子量範圍在 50 kD~100 kD 之間。

#### 四、利用電泳找出泡綠豆水中的蛋白質分子量分布情形

##### (一) 結果：

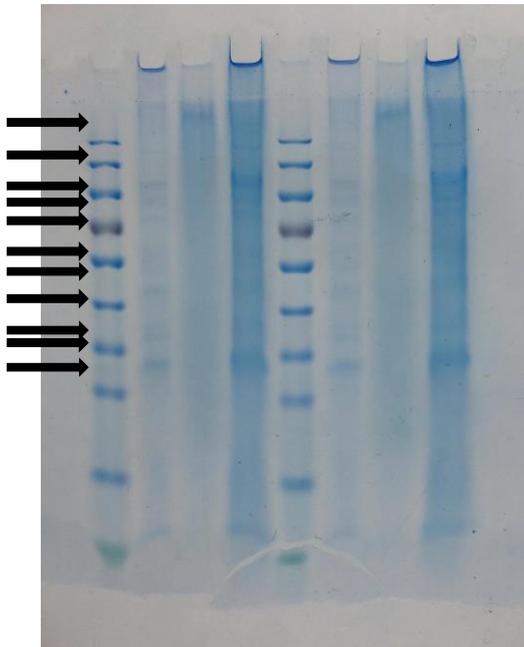


圖 13：電泳後的情形

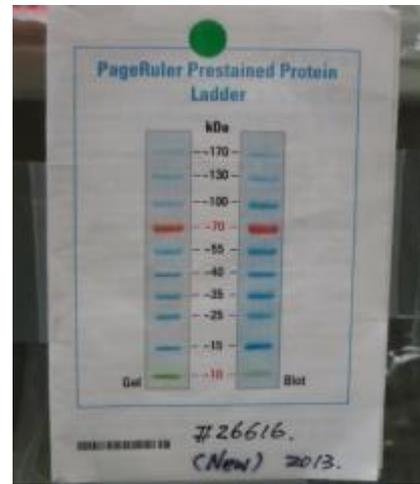


圖 14：蛋白質分子量  
分布範圍說明

##### (二) 結論：

仔細觀察後發現，在未經濃縮及經過濃縮後的綠豆水中，都可以觀察到有較明顯的 11 個蛋白質帶，廣泛分佈於不同的分子量，分子量從約 35 kD 到超過 170 kD，尤其在未濃縮的綠豆水中，可能因背景值比較低，所以更能清楚看到蛋白質帶的分佈情形。

## 五、利用冷凍乾燥把泡綠豆水中的水分去除

(一) 結果：



圖 15：冷凍乾燥後的結果

(二) 結論：

經由這次的冷凍乾燥實驗後，能成功將水移除，達到乾燥的目的。

## 六、探討泡綠豆水利用於生活中的可能性

(一) 結果：

1. 橘子

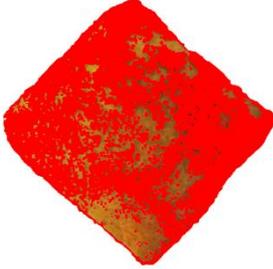
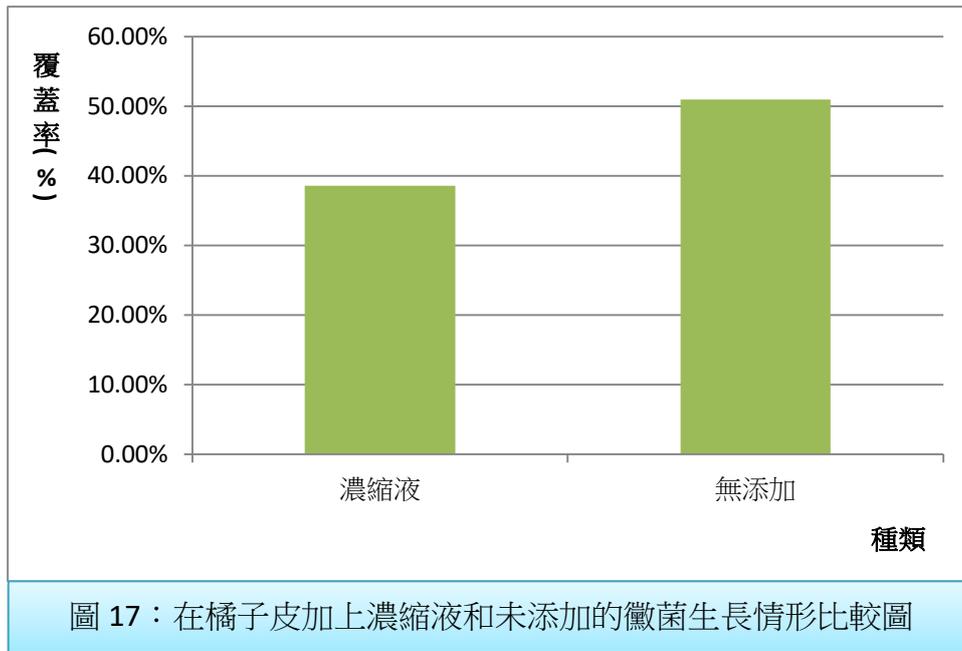
生長情形		
黴菌覆蓋情形		
種類	添加泡綠豆水濃縮液	無添加
覆蓋率(%)	38.50%	50.90%

圖 16：在橘子皮加上濃縮液和未添加的黴菌生長情形



## 2. 磁磚

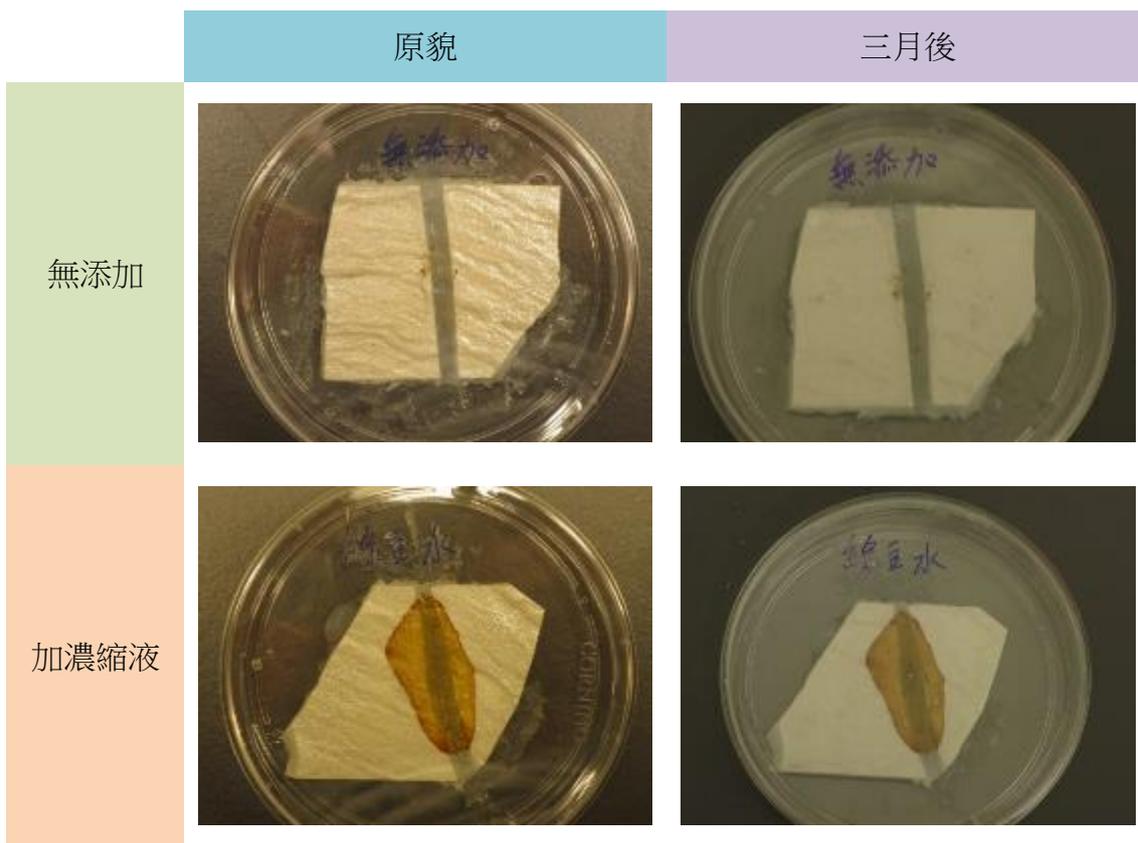


圖 18：在磁磚間的矽利康加上濃縮液和未添加的黴菌生長情形比較圖

(二) 結論：

1. 在橘子的實驗中，橘子皮的養分充足不需點上黴菌就可以順利進行實驗在橘子皮上加濃縮液的黴菌覆蓋率比無添加還要低。
2. 在磁磚的實驗中，矽利康的養分不像吐司那麼多，需要更多的時間讓黴菌生長，才能容易看出結果。由於磁磚的實驗進行的時間不夠久，黴菌只長了一點點，近距離觀察才能看清楚抑菌效果，從照片看不太容易看出。

## 陸、討論

一、為何以吐司當培養基較適合本實驗?

- (一) 衛生紙沒有養分，因此黴菌長得很慢。
- (二) 黴菌在吐司上長得比較快所以能比較抑菌效果。
- (三) 倘若使用洋菜膠培養黴菌，將無法吸收泡綠豆水，反而無法評估其抑菌效果。倘若在洋菜膠製作時，加入泡綠豆水，因為需要加熱才可以製作洋菜膠，反而會破壞泡綠豆水中的有效成分，因此使用吐司仍是較佳的選擇。

二、為何某些條件下的泡綠豆水會失去抑制黴菌的效果，甚至使吐司腐爛?

- (一) 綠豆在發芽時也會釋放出葡萄糖，浸泡顆數越多，釋放出的葡萄糖也會跟著變越多，當達到一定的程度時(我們的實驗是到浸泡 300 顆時)，會導致吐司腐爛。
- (二) 根據實驗我們可以推論出，綠豆會在發芽後的2~3天分泌抑制黴菌的物質，所以在綠豆分泌抑菌物質前，所有的泡綠豆水都不會有抑菌效果，反而會因釋放出的葡萄糖助長黴菌生長。
- (三) 若綠豆分泌抑菌物質後的泡綠豆水沒有抑菌效果，可能是泡綠豆水中的葡萄糖的造成的影響等於或大於抑菌物質造成的影響而導致。

### 三、如何推測大分子蛋白質為抑制黴菌的物質?

- (一) 加入螯合劑會抓走金屬離子，加入活性碳會抓走小分子物質，當加入螯合劑或活性碳時，抑菌效果沒有變的很多，代表失去金屬離子或是小分子物質不會影響抑制黴菌的效果。
- (二) 沸騰後會使蛋白質變性，進而失去活性，還有去掉 10 kD 以上的大分子物質，而大於 10 kD 的物質最有可能是蛋白質，這兩種處理方式中皆不會有太明顯的抑菌效果，比較使泡綠豆水經過沸騰和去除大分子物質與水的結果後，我們推測大分子的蛋白質為抑制黴菌生長的物質。

### 四、為什麼加入活性碳後抑菌效果會變差?

- (一) 活性碳能夠吸附分子量 60D~300D 的小分子，尤其是脂溶性物質，可是我們的結果顯示，具抑制黴菌效果的蛋白質分子，分子量不會那麼小。因此，我們推測活性碳作用時，可能是某些脂溶性小分子與部分抑菌的蛋白質有高度的親和力，因而隨著活性碳一起被離心移除。

### 五、是不是綠豆上殘留的農藥抑制黴菌生長?

- (一) 農藥為小分子物質，若農藥是抑制黴菌的原因的話，加入活性碳抓走小分子後就失去抑菌效果，但加入活性碳後還是有抑菌效果。
- (二) 若農藥是抑制黴菌的原因的話，經過蛋白質離心管分離後的小分子物質還是有抑菌效果，但分離後的小分子很明顯地失去抑菌效果。
- (三) 若農藥是抑制黴菌的原因的話，農藥經沸騰後，抑菌作用只會部分消失，不會完全消失，但沸騰後的泡綠豆水幾乎完全失去了抑菌效果。

### 六、誤差的可能性：

#### (一) 綠豆的大小：

原本我們認為綠豆大小會影響分泌出的物質的多寡，但經仔細觀察後，發現綠豆的大小皆差不多(如右圖)，不太會造成影響。



(二) 綠豆水的 pH 值：

下表為當溫度恆定為 25°C 時，泡綠豆水的 pH 值，可見綠豆水的 pH 值隨著顆數增加，有輕微的增加，但變化極有限，不會造成太多影響。

泡 2 天	60 顆	120 顆	180 顆	240 顆	300 顆
pH 值	5.64	5.79	5.79	5.68	5.94
泡 3 天	60 顆	120 顆	180 顆	240 顆	300 顆
pH 值	5.61	5.84	5.98	6.01	6.20

## 柒、結論

- 一、綠豆水抑制黴菌的效果因溫度而有所異。
- 二、在 22°C~25°C 時，綠豆在 2~3 天後才開始分泌抑制黴菌的物質；而在 22°C~25°C 時，綠豆在 2 天內就開始分泌。
- 三、當溫度為 22°C~25°C 時，在 120 mL 的水中浸泡 120 顆綠豆 3 天的泡綠豆水抑菌效果最佳；而若溫度變為 25°C~29°C 時，在 120 mL 的水中浸泡 240 顆綠豆 3 天的泡綠豆水抑菌效果最佳。
- 四、泡綠豆水中有多種蛋白質都會抑制黴菌生長，其中主要的抑菌物質的分子量在 30 kD~50 kD 之間，而其他可能的抑菌物質有兩個，分子量範圍分別為小於 10 kD、50 kD~100 kD。
- 五、綠豆水中至少有 11 種可能的蛋白質，分子量從約為 35 kD 到超過 170 kD。
- 六、利用濃縮後的泡綠豆水有運用之價值。
- 七、未來展望：
  - (一) 由於濃縮後的泡綠豆水使用並不方便，吸附能力不佳，造成無法均勻塗在欲防黴的物質上。因此，我們想把濃縮後的泡綠豆水冷凍乾燥，使其成為粉末或是濃稠膏狀物，進一步以「水性軟膏」予以混合，以大幅增加其吸附能力、提高其應用性。
  - (二) 不只磁磚、橘子會有長黴的情形，水泥也會。我們也想試試把濃縮後的泡綠豆水以添加物的形式混入水泥中，並比較濃縮液在各種不同的水泥中，抑制黴菌的效果是否不同。
  - (三) 由於我們在實驗時釋放於室溫下進行，溫度的範圍有點大，目前我們以找尋到可借用的恆溫箱，用更恆定的溫度探討抑制效果與溫度的關係。

## 捌、參考資料

- 一、Wang, S., Wu, J.H., Ng, T.B., Ye, X.Y., and Rao, P.F. (2004) A non-specific lipid transfer protein with antifungal and antibacterial activities from the mung bean. *Peptides* **25**, 1235–1242.
- 二、Randhir, R., Lin, Y.T., and Shetty, K. (2004) Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry* **39**, 637–646.
- 三、Wang, S., Ng, T.B., Chen, T., Lin, D., Wu, J., Rao, P., and Ye, X. (2005) First report of a novel plant lysozyme with both antifungal and antibacterial activities. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **327**, 820–827.
- 四、Ye, X. and Ng, T.B. (2005) A chitinase with antifungal activity from the mung bean. *Protein Expression and Purification* **40**, 230–236.
- 五、Wang, S., Lin, J., Ye, M., Ng, T.B., Rao, P., and Ye, X.Y. (2006) Isolation and characterization of a novel mung bean protease inhibitor with antipathogenic and anti-proliferative activities. *Peptides* **27**, 3129–3136.
- 六、Tang, D., Dong, Y., Ren, H., Li, L., and He, C. (2014) A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (*Vigna radiata*). *Chemistry Central Journal* **8**: 4.
- 七、居家發黴常見的黴菌與危害  
<http://www.heal-power.com.tw/cgi-bin/cstcnt.cgi?lang=zh-tw&cid=1535&prt=Y>

## 【評語】 030322

1. 本研究探討綠豆浸泡水含有多種抑制黴菌生長的蛋白，實驗動機由生活的平凡經驗中尋求新穎主題，設計實驗找出抑黴的化學物質，整體研究架構大致完整，符合邏輯原則。
2. 以分子生物層次的研究方法，加強論述，雖超乎國中程度，但作者表達清楚，對問題回答也相當了解，非常不容易。建議說明書中實驗步驟的細部說明，Ex：觀察黴菌生長的時間、實驗重複次數需說明清楚。