

中華民國第 61 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 植物學科

052108

UV 照射對黴菌生長及幾丁聚醣含量之影響探討

學校名稱：新北市立永平高級中學

作者： 高一 陳彥儒 高一 翁雅歆 高一 陳品寧	指導老師： 陳梅珍
---	------------------

關鍵詞：幾丁聚醣、黴菌、UV

摘要

本篇研究主要在探討 UV 照射黴菌所導致的幾丁質含量變化。本組以家庭中常見的青黴菌複合體作為材料，證實黴菌經 UVB 照射 30 秒後可促進生長及增加養分的累積，並且也能得到稍多的幾丁質及幾丁聚醣。我們從文獻分析黴菌和蝦蟹外殼的幾丁質結構，發現其結構上有所差異，再比較由實驗萃取幾丁聚醣的成本和市面上大多是經蝦蟹外殼萃取產品的售價，發現兩者價格差異不多。

壹、研究動機

在學過高中生物第一章和第三章後，讓我們對於多醣類的特性和真菌界有了基本的認識，並引發我們對於黴菌細胞壁成分的好奇心。

查資料時發現，黴菌屬於真菌，真菌細胞和植物細胞一樣具有細胞壁，但是和植物細胞細胞壁以纖維素為主要成份不一樣，主要由幾丁質構成。幾丁質和衍生物幾丁聚醣是用途廣泛的天然高分子化合物，可以從蝦、蟹、甲殼類動物、真菌中萃取。幾丁聚醣為可吸收性高分子材料，對多種細菌及真菌的生長有抑制效應，並且高分子結構的特性可作為醫療材料且能吸附重金屬，處理廢棄物及水中污染物，作水質淨化，對人體或環境皆具有重要的貢獻。依照文獻指出，生物受到逆境刺激後，往往可以獲得更大收益。於是我們想，作為人類除之後快的黴菌，通過這樣的刺激，是否可以成為提供大量幾丁質的來源呢？所以本組設計此實驗，希望能對人類未來資源開發盡一份心力。

貳、研究目的

本次實驗，我們以生活中捕捉黴菌進行培養測試進行研究：

- 一、實驗一：黴菌在不同時間 UV 照射下生長差異
- 二、實驗二：黴菌在不同時間 UV 照射下蛋白質含量差異
- 三、實驗三：UV 照射對黴菌幾丁質含量差異
- 四、實驗四：UV 照射對黴菌幾丁聚醣含量差異。

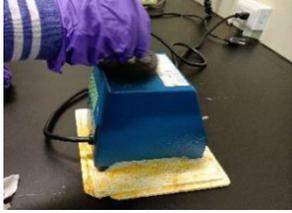
參、研究設備及器材

一、實驗材料與藥品

			
馬鈴薯	瓊脂	葡萄糖	鹽酸
			
氫氧化鈉	醋酸	布拉德福試劑	牛血清蛋白

二、實驗器材與儀器

			
UV 燈(A、B、C)	電子天平	高溫高壓滅菌爐	磁石攪拌加熱器

			
分光光度計	試管震盪器	酒精燈	解剖刀、鑷子
			
生長箱	UV 照度計	微量離心管	菜刀與砧板
			
鑽孔器	抗 UV 護目鏡	3D 迴轉式震盪器	漏斗
			
微量離心機	高速離心機	微量分注器	濾紙
			
移液管和電動吸球	離心管	棉花棒	純水

肆、研究過程或方法

一、研究流程

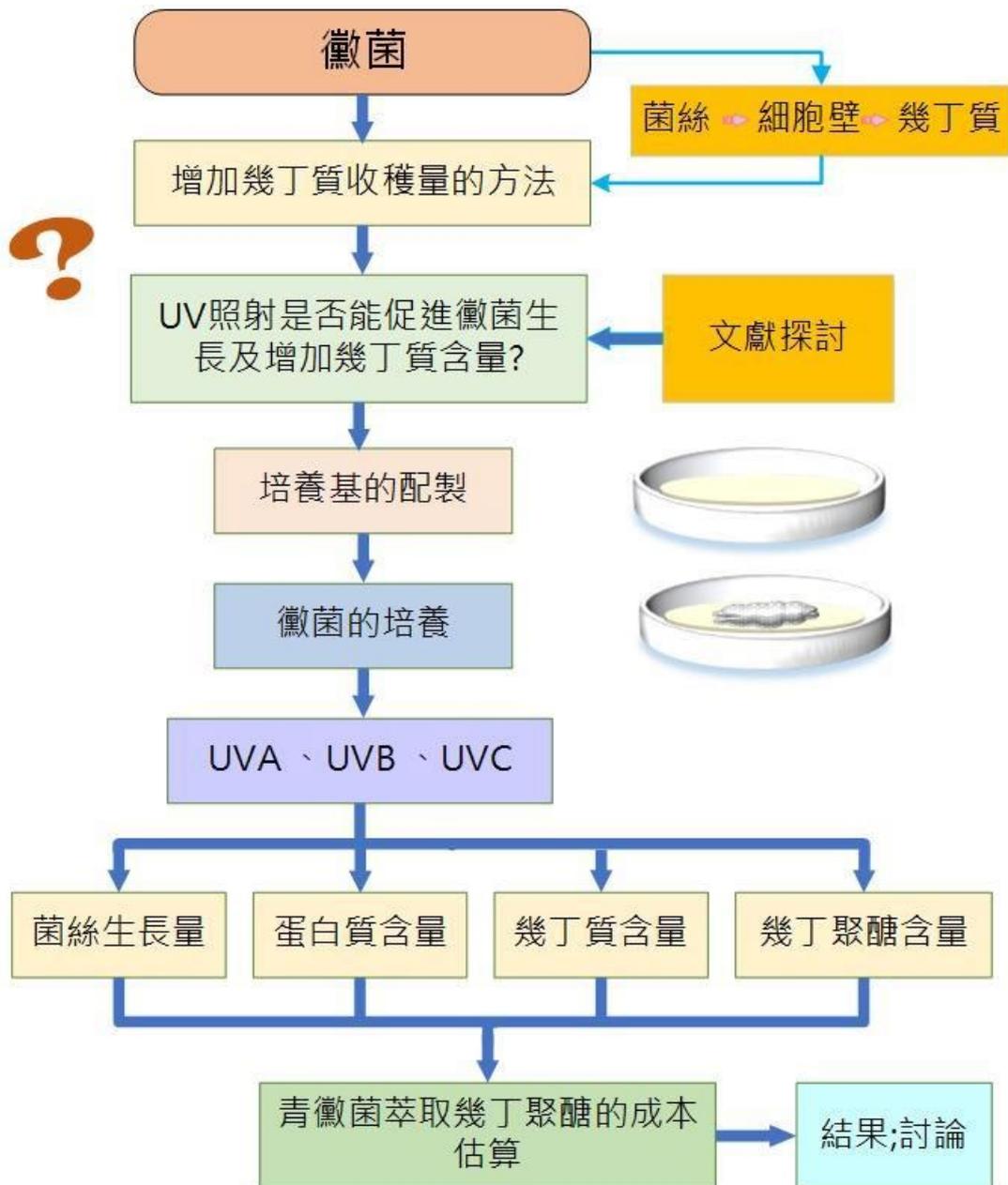


圖 1 研究流程圖

二、文獻探討

(一) 黴菌：

黴菌 (mold) 屬於真菌 (fungus) 的一種，在生物學上屬於真核生物，它們像植物一樣有細胞壁，但不能行光合作用，靠著分解其他有機物維生。目前已知的黴菌有 6~8 萬種，和一般真菌相比，黴菌不會產生大型子實體，菌絲呈長管分枝狀，無橫隔壁，

具多個細胞核，並匯聚成菌絲體 (mycelium) (車振明，2011)。黴菌的顏色是由孢子或孢子囊決定。由於黴菌具有分解有機物的能力，對食物及建築會造成損害。在醫學方面，黴菌本身會成為過敏原、分泌毒素、對免疫功能不全的病人，甚至會造成器官的感染 (黃柏諺，2012)。但是黴菌是食物鏈中的清除者，對於生態環境有淨化作用，並且在醫藥研發及發酵食品的製造都有不少正面的效益，如青黴菌可以產生抗生素盤尼西林，就是很好的例子 (廖芳陞，2007)。

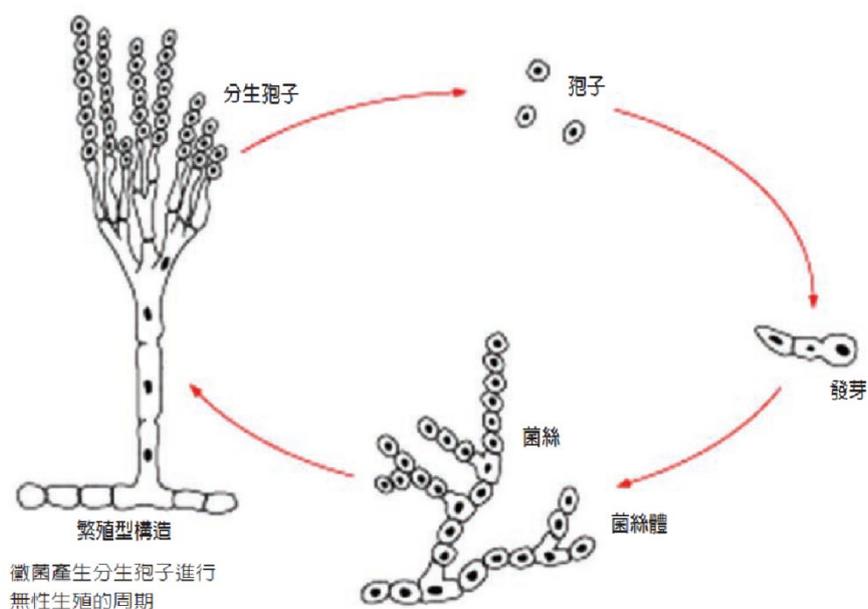


圖 2 黴菌生活史

(二) 紫外線 (Ultraviolet, UV) :

來自太陽的光

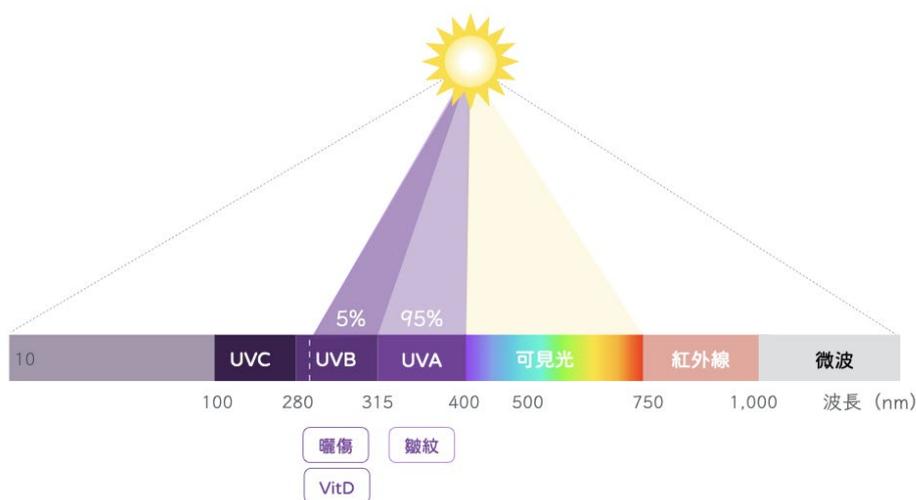


圖 3 太陽光光譜

紫外線(Ultraviolet, UV)是指波長在 10nm 至 400nm 之間的電磁波，波長比可見光短，但比 X 射線長。自然界中的紫外線來自太陽光，在太陽光波長範圍內的紫外線依照波長可分為 UVA、UVB、UVC，依照波長分為三種（消費者文教基金會，2020）：

1. UVA：波長介於 320~400 nm，可穿透大氣層及玻璃進入室內。UVA 又可分為 UVA-(320~340nm)與 UVA-1(340~400nm)，因為 UVA 波長較長能量較小，傷害力較輕微，生活中應用於驗鈔、鑑識、補蚊燈等。
2. UVB：波長介於 280~320nm，穿過大氣層時會被臭氧層所吸收，少數可到達地表，可應用於化學及醫學方面。
3. UVC：波長介於 100~280nm，無法到達地表，因此 UVC 可穿越大氣層的波長介於 200~280nm，波長短、能量高，但由於可被臭氧層所阻隔，所以只有少量可到達地球表面。

紫外線含有高能量，細胞照射紫外線後，通常有自我修復的能力；但是若照射過量的紫外線，細胞中的 DNA 修復能力會受到破壞，而造成細胞老化、病變或死亡。在植物則會造成細胞分裂變異及基因表現停滯的情況（江奕賢，2020）。

（三）幾丁質和幾丁聚醣

1. 幾丁質：

幾丁質 (Chitin) 分子結構為「 $(C_8H_{13}O_5N)_n$ 」，是真菌的細胞壁以及節肢動物的外骨骼的主要組成部分，屬於自然界的一種含氮多醣類生物性高分子，是由 N-乙醯葡萄糖胺及葡萄糖胺以 β -1,4 鍵結而成，構造類似纖維素的直鏈狀醣類聚合物，纖維素在 C-2 位置上所接的是羥基，幾丁質在 C-2 位置上所接的則是乙醯胺基或胺基。

一般生產幾丁質，是把甲殼類動物外殼粉碎後，在 100 °C 以 8 % 的氫氧化鈉溶液加熱處理去除蛋白質，洗滌後以鹽酸浸漬去除礦物質，再經過洗滌及乾燥，就可得到幾丁質。也可以使用蛋白酶或金屬螯合劑去除蛋白質及礦物質，效果較不及熱鹼和酸處理，但對環境污染的程度較少。幾丁質再經過去乙醯基反應後，就可得到幾丁聚醣 (吳彰哲、黃瀚寧，2010)。

2. 幾丁聚醣

幾丁聚糖(chitosan)是幾丁質脫去乙醯基後生成的水溶性產物，差別是去乙醯基

的程度不同。通常幾丁質去乙醯基的程度達 70% 以上，就成為可溶於稀酸溶液的幾丁聚醣。幾丁聚醣去乙醯基的程度越高，表現的生理活性越明顯，如抗菌活性等。所以去乙醯基程度是幾丁聚醣品質檢定的重要指標（吳彰哲、黃瀚寧，2010）。幾丁聚醣脫去乙醯基後而裸露的胺基 (-NH₂)，是使幾丁聚醣具有活性的重要官能基，幾丁聚醣的親水性、重金屬吸附性以及抑菌性等等特質皆優於幾丁質，因此在應用上，取得幾丁質後常被反應成幾丁聚醣，使之適用於各個領域上（張煜欣，2008）。

幾丁聚醣化學穩定性好，不溶於水，可溶於弱酸水溶液。具有天然抗菌能力，並且本身無毒性，具生物活性且分子結構可以聚合變大，目前在生醫方面大量利用，可促進傷口凝血癒合，作為手術縫合線及傷口敷料等等用途（林怡伶，2004）。

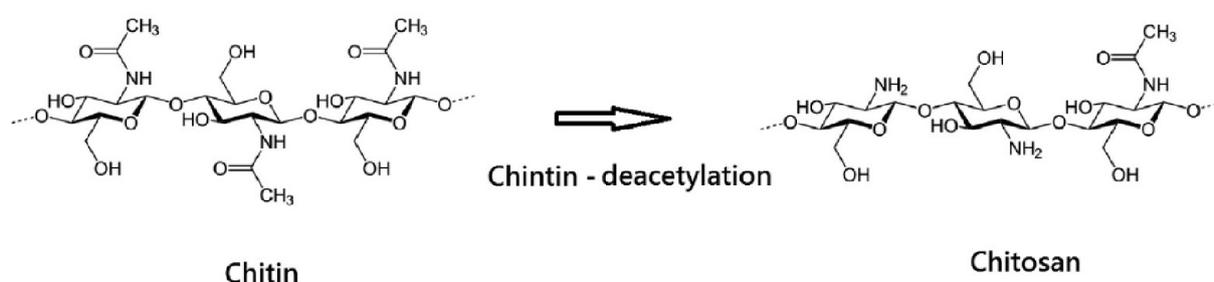


圖 4 幾丁質經去去乙醯基過程轉變為幾丁聚醣

3. 生物中幾丁質/幾丁聚醣的結構差異

甲殼類、昆蟲類、軟體動物軟骨以及真菌類細胞壁皆含有豐富幾丁質(見附表)，其中立體結構並不完全相同。幾丁質的立體結構經 X 射線繞射分析，依照其雙螺旋對稱軸分子排列方向，分為 α 、 β 、及 γ 三種類型（顏名聰，2005）：

- (1) α 型： α 型幾丁質為斜方晶系，兩股雙螺旋結構反向平行排列，構形為三種結構中最緊密的一種，所以質地也為堅硬，是自然界最普遍的一種，多數昆蟲或蝦、蟹等動物甲殼的幾丁質屬此類。
- (2) β 型： β 型幾丁質為單斜晶系，兩股雙螺旋結構平行排列，所以構型組成較鬆散，容易被幾丁質酵素分解，烏賊等動物的軟骨屬於此類。
- (3) γ 型： γ 型幾丁質為 α 型和 β 型交錯排列，藻類和真菌類所含的幾丁質皆屬於此類。

表 1 甲殼類、昆蟲類、軟體動物軟骨以及真菌類細胞壁幾丁質含量

Type	chitin content (%)	Type	chitin content (%)
Crustacea		Insects (continued)	
Cancer (crab)	72.1 ^c	May beetle	1.6 ^b
Carcinus (crab)	0.4~3.3 ^a	Diptera (true fly)	54.8 ^c
	8.29 ^b	Pieris(sulfur butterfly)	
	64.2 ^c	Grasshopper	2-4 ^c
			20 ^c
Parralithodes (King crab)	35 ^b	Bombyx (silkworm)	44.2 ^c
Callinectes (blue crab)	14 ^a	Calleria (wax worm)	33.7 ^c
Pleuroncodes (red crab)	1.3~1.8 ^b	Molluscan organs	
Crangon (shrimp)	5.8 ^b	Clam shell	6.1
	69.1 ^c	Oyster shell	3.6
Alaskan shrimp	28 ^d	Squid, skeletaltpn	41.0
Nephrops (lobster)	69.8 ^c	Krill, deproteinized shell	40.2±5.2
	6.7 ^b		
Homarus (lobster)	60.8~77.0 ^c	Fungi	
Lepas(barnacles)	58.3 ^c	<i>Aspergillus niger</i>	42.0 ^e
Insects		<i>Penicillium notatum</i>	18.5 ^e
Peripaneta (cockroach)	2.0 ^c	<i>Penicillium chrysogenum</i>	20.1 ^e
		Saccharomyces cerevisiae	2.9 ^e
Blatella (cockroach)	18.4 ^c	(bakers yeast)	
	10 ^b	<i>Mucor rouxii</i>	44.5
	35 ^c	<i>Lactarius vellereus</i>	19.0
Colcoptera (beetle)	5~15 ^b	(mushroom)	
	27~35 ^c		
Tenebrio (beetle)	2.1 ^a		
	4.9 ^b		
	33.3 ^c		

a. Wet body weight; b. Dry body weight; c. Organic weight of cuticle; d. Total dry weight of cuticle; e. Dry weight of the cell wall dry body weight.

4. 幾丁聚醣的應用：

目前已知幾丁聚醣的應用十分廣泛，我們分成下列幾項探討：

(1) 農業方面的應用（葉文彬，2010）：

- a. 植物抗菌素誘發劑：以幾丁聚醣對植物進行處理，可以誘發植物啟動以酵素為主的防禦機制，產生如幾丁酵素、葡萄聚醣酵素、豌豆酵素、幾丁聚醣酵素、蛋白酵素等，並且產生酚類化合物、合成類木質素物質，形成植物殺菌素。幾丁聚醣誘導植物產生這些抗菌物質，可增加植物的抗病性以及生長能力。
- b. 種子包覆劑：以幾丁聚醣做成薄膜包覆種子，可以抑制種子發芽期間病原菌的生長，促進發芽率及出苗率，並且也能促進種子生根，增加對土壤養分的吸收利用。
- c. 農產品保護劑：在農產品外以幾丁聚醣形成半透膜，可改變水分與氣體的交換速率，減緩農產品腐壞速度，加強細胞壁膠層的鍵結，維持果實硬度；並可降低果膠分解酵素，延長果實貯存時間。
- d. 土壤改良劑：幾丁聚醣可促進土壤中放射線菌的生長，抑制有害的絲狀菌，並且可以產生凝集作用，增加土壤團粒作用，提高土壤肥力。

(2) 醫學方面的應用（顏名聰，2005）：

- a. 保健食品的應用：近年已有陸續研究報告指出，幾丁質以幾丁聚醣可以有效降低膽固醇，另外也有研究指出幾丁聚醣可以促進免疫系統活化、抑制癌細胞增殖。
- b. 外科傷口敷料：因為幾丁聚醣類似纖維結構排列的特性，並且具有良好抑菌及促進細胞增生的效果，近年來也有大量廠商開發以幾丁聚醣為主要成分的敷料或外科縫線。

(3) 其他方面：（張煜欣，2008；顏名聰，2005；謝國鎔等，2011）

- a. 工業用途：幾丁聚醣具有很好的吸附重金屬離子能力，所以可用於工業廢水的淨化處理，另外也可作為透析膜的材料。
- b. 食品工業用途：可作為食品中的去酸劑、增稠劑、腸衣之用途。

三、實驗準備

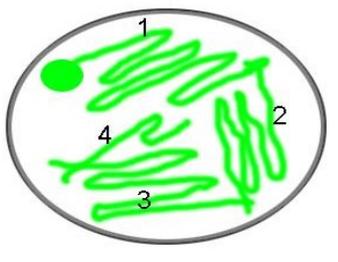
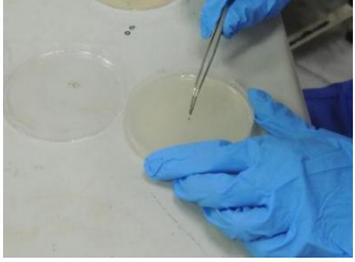
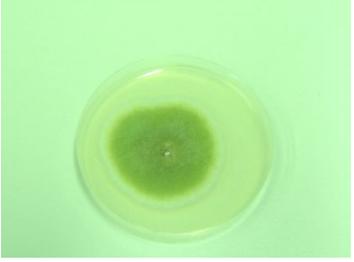
(一) 培養基的配製

1. 本次實驗以常見於真菌培養的馬鈴薯葡萄糖培養基 (Potato Dextrose Agar, PDA) 培養黴菌。
2. 先將 200.0 g 馬鈴薯切成丁狀後，以沸水滾煮一小時。
3. 將煮好的馬鈴薯汁液過濾掉殘渣後，加入 20.0 g 葡萄糖，攪拌溶解後補水至 1.0 升。
4. 固態培養基每升加入 20.0g 瓊脂粉末，攪拌均勻後以高溫高壓滅菌爐滅菌，液態培養基直接滅菌。
5. 滅菌完成，待滅菌爐壓力指示計歸零後，取出配製好的培養基冷卻，液態培養基移至冰箱冷藏備用，固態培養基等到降溫至約 70-60 °C，在無菌環境下分裝到無菌培養皿中，等待瓊脂完全凝固，同樣移至冰箱冷藏備用。



(二) 黴菌的培養

1. 將培養基開蓋置於陰暗潮濕處，曝露在空氣中讓黴菌孢子自由散落，保持濕度培養一周。
2. 我們以分區畫線法純化培養出的黴菌（高茂傑，2016）。以無菌棉花棒沾取培養出的黴菌菌落，分區勾畫於固態培養基上，每畫完一區後更換棉花棒，從前一區勾畫繼續塗抹稀釋，將塗抹完菌種的培養基置於 28°C 生長箱培養至隔天，挑選單一菌落進行培養。以方式確定培養出的菌種為單一菌種，可確立實驗進行的穩定性。
3. 以酒精燈燒烤滅菌的解剖刀及鑷子，選取培養出的單一菌落，移置新的培養基培養，黴菌最適培養溫度為 25~30 °C，所以我們選用 28 °C 為培養溫度，置於培養箱培養一周。

		
<p>圖一 讓空氣中黴菌自然散落</p>	<p>圖二 以棉花棒稀釋得到菌落</p>	<p>圖三 分區畫線法示意圖</p>
		
<p>圖四 經稀釋過的菌落</p>	<p>圖五 將單一菌落移置新的 培養基</p>	<p>圖六 一周後形成完整菌絲體</p>

四、實驗一：黴菌在不同時間 UV 照射下生長差異

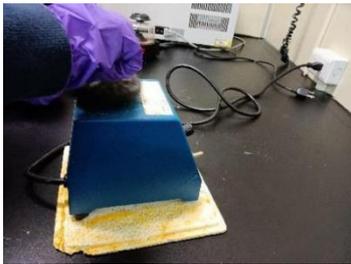
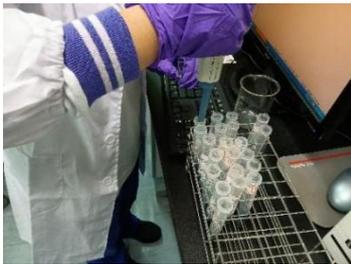
- (一) 本次實驗以 UVA、UVB、UVC 三種不同波長燈管照射作為刺激黴菌生長的逆境來源，UVA 會穿透皮膚真皮層，導致皮膚老化、皺紋生成，誘發皮膚癌與眼睛白內障病變，UVB 會造成皮膚曬傷，UVC 具有強烈殺菌能力，會造成皮膚病變及眼角膜灼傷，所以進行相關實驗時，需佩戴遮光眼鏡（輻射防護眼鏡），穿戴手套及防護衣。
- (二) 將培養好的黴菌，分別以 UVA、UVB、UVC 燈管，照射 30 秒、1 分鐘、2 分鐘、4 分鐘、8 分鐘、12 分鐘，另外一組不照射 UV 作為對照組。
- (三) 以鑽孔器取培養基表面固定大小菌絲體，置於 10.0 ml 液態培養基，以 28.0°C 震盪培養，隔週過濾風乾後秤重。



<p>圖一</p> <p>以 UV 燈照射培養出的 黴菌</p>	<p>圖二</p> <p>以鑽孔器挖取處理後的 菌絲體，置入液態 培養基培養。</p>	<p>圖三</p> <p>以濾紙過濾掉培養液</p>
--------------------------------------	---	----------------------------

五、實驗二：黴菌在不同時間 UV 照射下蛋白質含量差異

- (一) 蛋白質是生物中含有的基礎養分，我們以此作為黴菌接受 UV 照射後生長差異的標準。使用的方法為布拉德福蛋白質定量法 (Bradford Protein Assay) 測定，此方法是以考馬斯亮藍 (Coomassie Brilliant BlueG-250) 在酸性環境下與蛋白質結合後，會從紅色變為藍色，吸收光譜在 595 nm 處可得最大吸收峰。增加程度和結合蛋白質的分子數目成正比。
- (二) 以牛血清蛋白 (Bovine serum albumin, BSA) 配製 0、50、100、150、200、250 μ g/ml 的蛋白標準品。將 1.0 ml 蛋白標準品與 2.0 ml Bradford Protein Assay Kit 溶液混合，測定不同濃度蛋白標準品在波長 595 nm 吸光度，繪製檢量線。
- (三) 秤取 0.01 克實驗一獲得之菌絲樣本，置入微量離心管，先以細鐵棒將菌絲體確實碾碎，加入 1 ml 1.0 % 十二烷基苯環酸鈉 (DBN, Sodium dodecyl benzene Sulfonate)，以試管震盪器震盪，溶解細胞內容物。
- (四) 將不同處理樣品取 1.0 ml 加入 2.0 ml Bradford Protein Assay Kit 溶液中混合均勻，放進分光光度機測量波長 595nm 的吸光值，以檢量線求得之公式換算樣品蛋白濃度。

		
<p>圖一</p> <p>碾碎菌絲細胞</p>	<p>圖二</p> <p>震盪器震盪，溶解蛋白</p>	<p>圖三</p> <p>加入試劑，測定吸光度</p>

五、實驗三：UV 照射對黴菌幾丁質含量差異

- (一) 重新以實驗一測得的最佳生長條件處理菌絲體後，置於液態培養基震盪培養，一周後以每分鐘 4000 轉 (Revolution(s) Per Minute, rpm) 轉速離心取沉澱物，以 50 °C 烘

乾。

- (二) 在菌絲體中加入 50.0 ml 1.0 M 鹽酸，震盪搖晃一小時，去除礦物質
- (三) 以 4000 rpm 離心 10 分鐘，移除上清液，加入 50.0ml 清水清洗掉前步驟殘留容液，打散沉澱物後搖晃 10 分鐘後再離心清洗一次。
- (四) 以 4000 rpm 離心 10 分鐘，移除上清液，加入 50.0 ml 1 M 氫氧化鈉，煮沸一小時，去除蛋白質。
- (五) 以 4000 rpm 離心 10 分鐘，移除上清液，加入 50.0ml 清水清洗兩次。
- (六) 以 4000 rpm 離心 10 分鐘，移除上清液，烘乾測定重量，得到幾丁質，秤重比較與對照組的差異。

		
圖一 在菌絲體中加入 鹽酸	圖二 4000 rpm 離心 10 分鐘	圖三 以 1 M NaOH 煮沸一小時

- (七) 實驗結束後，帶有黴菌的廢棄物須經高溫高壓滅菌處理。

五、實驗四：UV 照射對黴菌幾丁聚醣含量差異

- (一) 將實驗三獲得的粗萃取的幾丁質加入 2.0 %醋酸至 30.0 ml，以 100 °C熱水隔水加熱 12 小時。
- (二) 以 4000 rpm 離心 10 分鐘，上清液以 10M 氫氧化鈉滴定至 pH10
- (三) 將滴定後之上清液以 16500 rpm 離心 15 分鐘，交替水洗和離心兩次，乾燥後獲得黴菌幾丁聚醣。
- (四) 重複步驟（二）沈澱物以水洗一次後離心 16500 rpm 15 分鐘，乾燥後得純幾丁質。

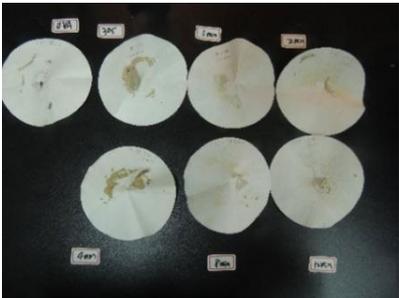
伍、結果

一、實驗一：黴菌在不同時間 UV 照射下生長差異

表 2 實驗一所使用的三種光源

	UVA	UVB	UVC
距離(cm)	10	10	10
照度($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)	798	196	58

表 3 黴菌經過不同波長 UV 燈照射後，培養一周後的生長量（單位：克重）

光線	UVA		UVB		UVC	
時間	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差
0 分鐘	0.083	0.015	-	-	-	-
30 秒	0.137	0.012	0.250	0.040	0.100	0.010
1 分鐘	0.077	0.006	0.187	0.031	0.037	0.015
2 分鐘	0.070	0.010	0.160	0.036	0.033	0.006
4 分鐘	0.120	0.020	0.177	0.025	0.023	0.006
8 分鐘	0.097	0.015	0.153	0.012	0.053	0.015
12 分鐘	0.063	0.012	0.177	0.012	0.053	0.031
	UVA		UVB		UVC	
						

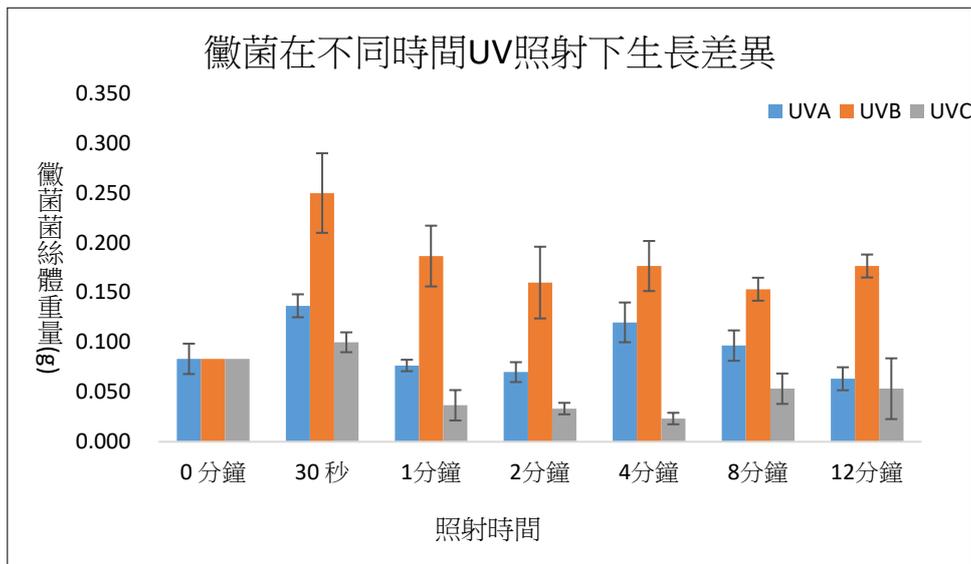


圖 5 黴菌在不同時間 UV 照射下生長差異之分析長條圖

結果：以 UVB 照射菌絲皆能促進黴菌的生長，照射 30 秒可獲得最大菌絲生長量，以 UVA 照射增加幅度明顯，UVC 照射後則有抑制黴菌菌絲生長的情況。

二、實驗二：黴菌在不同時間 UV 照射下蛋白質含量差異 (OD 值)

(一) 蛋白質檢量線

牛血清蛋白

表四、牛血清蛋白所對應之吸光度

BSA($\mu\text{g/ml}$)	吸光度 (OD _{595nm})
0	0
50	0.298
100	0.523
150	0.724
200	0.892

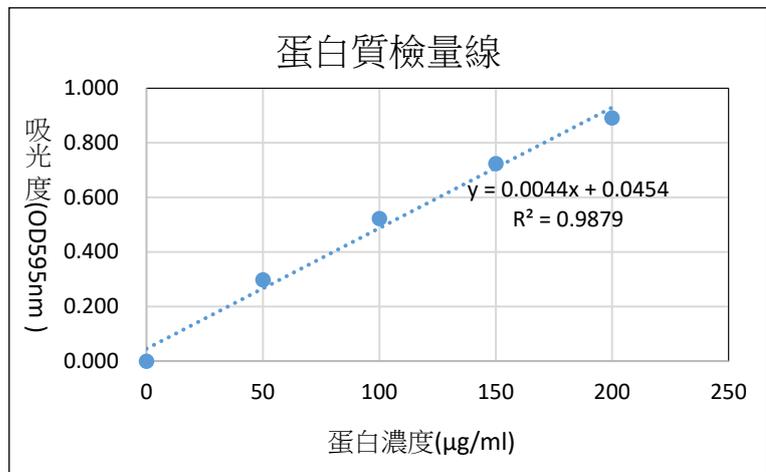


圖 6 標準蛋白質檢量線

由檢量線可算出公式：

y (吸光度) = $0.0044x$ (蛋白濃度) + 0.0454 後續即可由此公式算出待測樣品的蛋白濃度。

(二) 黴菌在不同時間照射下 UV 蛋白質含量 (單位: $\mu\text{g/ml}$)

表 5 蛋白質含量變化紀錄表

光線	UVA		UVB		UVC	
	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差
0 分鐘	39.242	1.346				
30 秒	58.121	4.160	144.015	1.706	87.727	4.173
1 分鐘	56.530	0.656	123.045	2.992	78.621	3.569
2 分鐘	75.098	0.302	100.856	6.561	95.644	14.276
4 分鐘	100.803	2.349	86.333	3.044	125.106	9.815
8 分鐘	73.303	10.052	73.152	6.766	42.197	1.037
12 分鐘	84.735	4.381	59.894	0.525	39.114	3.090

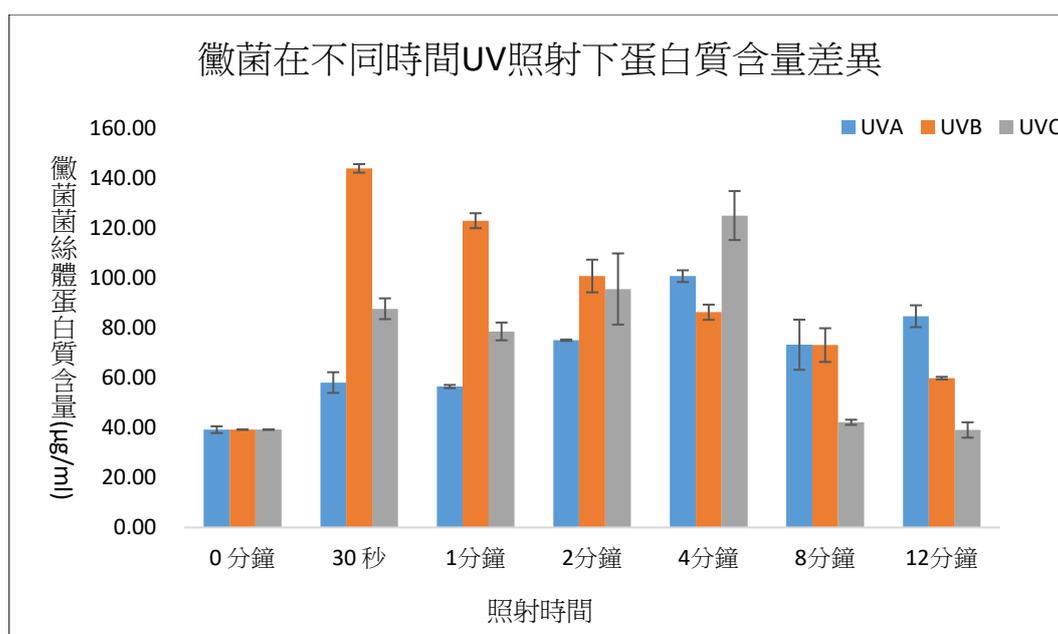


圖 6 黴菌在不同時間 UV 照射下蛋白質含量差異之分析長條圖

結果：短時間照射 UV 可促進黴菌細胞內蛋白質累積，尤其以 UVB 照射 30 秒最為明顯，

UVA 與 UVC 則是在 4 分鐘時最明顯，之後細胞內蛋白量明顯下降。

三、實驗三：UV 照射對黴菌幾丁質含量差異

以 500 ml 錐形瓶加入 100 ml 培養液(PBD)，培養對照組菌絲及實驗組菌絲後，萃取幾丁質並烘乾秤重。

表 6 UV 照射對黴菌幾丁質含量差異紀錄表

實驗	對照組(0 分鐘)		UVB 30 秒	
	平均	標準差	平均	標準差
菌絲重量(g)	4.2106	0.0253	4.3189	0.1225
幾丁質重量(g)	3.232	0.0146	3.543	0.0384
收穫率	76.76%		82.03%	



結果：以 UVB 照射獲得的菌絲經萃取後，可獲得相對高於對照組的幾丁質重量。

四、實驗四：UV 照射對黴菌幾丁聚醣含量差異

將實驗三粗萃的幾丁質經過稀酸熬煮的過程溶出幾丁聚醣，沉澱並測重。

表 7 UV 照射對黴菌幾丁聚醣含量差異紀錄表

組別	對照組 (0 分鐘)		UVB 30 秒	
	平均	標準差	平均	標準差
幾丁質重量(g)	3.653	0.0146	3.9746	0.0384
幾丁聚醣重量	0.1123	0.0274	0.1857	0.0209
收穫率	3.07 %		4.64 %	

結果：以 UVB 照射獲得的菌絲經萃取後，可獲得較高的幾丁聚醣重量。

陸、討論

一、實驗一、二：黴菌在不同時間 UV 照射下生長差異及養分累積

UV 本身為殺菌設備，要達到殺菌效果，一般建議以波長 280 nm 以下的 UVC 進行。UV 要達到良好的殺菌效果，需要評估波長、強度與照射時間等因素影響。理論上，若達到足夠條件，可殺滅照射範圍內的細菌、黴菌、病毒等；但紫外線穿透力低，易被微塵顆粒吸收，並且微生物的數量、生長階段、環境溫度等等，且受紫外線破壞的細胞若未完全破壞，細胞會再修復、活化，細胞的修復能力也是影響因子，故 UVC 殺菌力僅能稱為消毒，難以達到滅菌的程度（葉純宜等，2005）。本實驗主旨為探討黴菌經過 UV 照射後，若能逃過一劫，是否更強壯？是否能產生更多有助於人類生活的幾丁質？我們預期在某個特定波段及時間處理後的 UV，可獲得較佳幾丁質收穫量，並以萃取出幾丁聚醣。

表 8 以 UVA 照度計量使用的 UVA 燈管測得不同距離下的照度

距離(cm)	10	20	30	40	50
照度($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)	798	422	235	141	100

測試後燈光距離照度計 10 公分時，每平方公分照度約 800 微瓦，我們以此距離進行實驗。實驗結果發現，短時間（30 秒）以 UVB 燈管照射黴菌明顯可促進生長。UVB 對植物生長的影響，已有文獻指出可以促進種子的萌發以及幼苗的生長、養分的累積（李垣勳等，2016），在醫學上，固定波長(311 nm)的 UVB 照射可以調節皮膚免疫力，是皮膚科疾病常用的醫療方法（游懿聖，2019）。本次實驗培養的黴菌為綠色孢子的青黴菌，青黴菌生長於土壤、皮革、果皮和衣服，約有 150 多種，是最常見的一種黴菌，抗生素青黴素即是由此提煉出來的，此外也可以用於乳酪發酵之類的食品加工，卻也是導致呼吸道疾病的過敏原（王也珍，2011）。查閱相關資料，並沒有 UVB 可以促進黴菌生長的文獻，這點十分值得繼續研究探討。



圖 7 顯微鏡下的青黴菌

二、實驗三、四：UV 照射對黴菌幾丁質及幾丁聚醣含量差異

依照實驗結果，經 UVB 照射後生長的菌絲，也可以得到比對照組略高的幾丁質和幾丁聚醣收量。幾丁質結構類似纖維素(Cellulose)，由 1000~3000 個 N-乙醯基葡萄糖胺(2-acetyl-2-amino-2-deoxy-D-glucose) 單元體，以 β -1,4 鍵結的直鏈狀聚合物，在自然界中分布廣泛，主要存在於昆蟲、水生甲殼動物的外殼及真菌類之細胞壁中，幾丁質與氫氧化鈉溶液作用會發生去乙醯化反應，得到幾丁聚醣（曾耀銘，2002）。本次實驗是以鹽酸去除黴菌細胞中的礦物質，再由加熱的氫氧化鈉去除蛋白質，此步驟同時也能讓幾丁質進行去乙醯化反應，最後再經由稀鹽酸的熬煮，讓純度較高的幾丁聚醣溶解出來，最後調整 pH 值至鹼性，使溶液中的幾丁聚醣沉澱。所以若能增加氫氧化鈉的熬煮時間，增加幾丁質的去乙醯化反應，應能得到更大的幾丁聚醣收穫量。

目前幾丁質與幾丁聚醣萃取來源的相關研究，多數以 α 型的蝦蟹殼來源為主，少數以 β 型軟體動物軟骨，以真菌為主的 γ 型來源偏重於食用菇類，尚未有以黴菌為來源的相關研究。以黴菌來源的優點是黴菌本身無經濟價值，成本低廉，即便如蝦蟹殼也屬廢棄物，但因為蝦蟹本身的經濟價值，須先經由水產加工後，以人工篩檢蒐集廢棄物的過程取得，並且蝦蟹殼本身帶有色素，須經脫色甚至漂白的過程；但以黴菌萃取幾丁聚醣的缺點是黴菌本身仍有一定的危害，在製程中應確實注意清潔及廢棄物滅菌消毒的步驟，避免原料汙染成品的問題。

三、比較市面上幾丁聚醣成本

我們嘗試列出本組實驗所需成本與市售幾丁聚醣價錢比較：

表 9 本組實驗各項器材之成本以及總價值估計

	實際市價	估計價錢 (元)
1 升培養基		
馬鈴薯 200g	-	10
葡萄糖 20g	1 kg 150 元	3
萃取藥品		
鹽酸	500ml 30 元	3
氫氧化鈉	450g 50 元	5
冰醋酸	500ml 65 元	2
水電預估		10
	總計	33

以實驗三所得數據，100.0 ml 培養基培養出的青黴菌可收穫 0.1857g 幾丁聚醣，以 0.2g 計算，可估算 1 升培養基培養之青黴菌可萃取出 2 g 幾丁聚醣，故每克成本 16.5 元。與目前市售幾丁聚醣價錢相比：

表 10 本組實驗所需成本與市售幾丁聚醣價錢比較

	價錢	每克價錢
實驗用幾丁聚醣	50 g 400 元	8 元
保健食品	30 g 3000 元	100 元
傷口敷料	2cm x 3cm 1000 元	-
青黴菌萃取幾丁聚醣	-	16.5 元

由列表可看出本組萃取的幾丁聚醣價格高於商業化製程的幾丁聚醣，但是遠低於食用及藥用等級幾丁聚醣，唯計算時並未加入人力成本（目前法定工資為 160 元/小時），若以實驗室小規模萃取人力成本將會佔總成本極大部分。依照本組實驗討論，在製程上還可以調整氫氧化鈉反應時間及反應濃度，可以增加幾丁聚醣的收穫率，若能大量培養並且設計出完善生產流程，降低平均人力成本，將能大幅壓低成本，的確具有研發進入市場的潛力。

柒、結論

一、實驗一：黴菌在不同時間 UV 照射下生長差異

短時間對黴菌菌絲照射 UV 光可促進黴菌生長，尤其以 UVB 照射 30 秒效果最好。

二、實驗二：黴菌在不同時間 UV 照射下蛋白質含量差異

短時間對黴菌菌絲照射 UV 光可促進黴菌細胞內蛋白質累積，UVB 照射 30 秒累積量增加最明顯，UVA 及 UVC 則需照射四分鐘才達最高值。

三、實驗三：UV 照射對黴菌幾丁質含量差異

和未照射 UVB 的對照組相比，以 UVB 照射獲得的菌絲經萃取後，可獲得較高的幾丁質重量。

四、實驗四：UV 照射對黴菌幾丁聚醣含量差異

和未照射 UVB 的對照組相比，以 UVB 照射獲得的菌絲經萃取後，可獲得較高的幾丁聚醣重量。

五、比較市面上幾丁聚醣成本，本組實驗萃取成本略高於市售實驗用幾丁聚醣，遠低於食用級以及醫療用途的幾丁聚醣，證實若能大量生產降低成本，具有一定的市場競爭力。

未來展望

本組實驗證實，黴菌經 UV 照射後可促進生長及增加養分的累積，黴菌為隨處可得的生物材料，我們希望能藉此找出更有效率的方法獲得最大量的幾丁聚醣，將萃取出來的幾丁聚醣實際應用於醫學、食品加工、農業等方面，為人們造福。

捌、參考資料及其他

一、相關書籍

- (一) 車振明 (2011) 微生物學。科學出版社。
- (二) 廖芳陞 (2007) 黴菌與健康。科學發展 415:17-21。
- (三) 黃柏諺 (2012) 發霉與黴菌。台塑企業雜誌電子報，43:31-33。
- (四) 高茂傑 (2016) 微生物學專題。2016 清大生科科培營課程教材。

二、期刊

- (一) 李垣勳、李韶郁、李文昭(2016)·幾丁聚醣之溶解特性及溶解處理對其性質之影響。林業研究季刊 38(4): 253-262
- (二) 葉文彬 (2010) 幾丁聚醣之製備及其於農業之應用。臺中區農業改良場九十九年專題討論專集，P127-131。
- (三) 吳彰哲、黃瀚寧 (2010) 蝦蟹殼中的寶貝—幾丁質·科學發展 448:12-19。
- (四) 呂卦南(2006)·幾丁質與幾丁聚醣的製備與鑑定。康寧學報 8:157-170。
- (五) 葉純宜、林明滢、陳小妮、王復德 (2005) 紫外線殺菌效能探討。感染控制雜誌 15:293-300。
- (六) 謝國鎔、葉佳瑋、甘其詮、張恩旗、蘇暄、萬孟瑋 (2011)·以幾丁聚醣固定於淨水廠污泥處理水中銅金屬之研究。嘉南學報 37 :165-171。
- (七) 李佩琪、許芳瑜、楊雯珺、詹錦豐(2012) 高分子水溶性幾丁聚醣的抗氧化及抗菌活性。弘光學報 67 期，p1-10。

三、相關論文

- (一) 顏名聰 (2005) 香菇柄幾丁質與幾丁聚醣之理化性質與生理活性及其應用。國立中興大學 食品科學系 博士論文。

(二) 張煜欣 (2008) 含幾丁聚醣吸附劑的製備與特性研究：重金屬移除。國立交通大學應用化學系 博士論文。

(三) 林怡伶 (2004) 化學修飾雙性幾丁聚醣衍生物及其持水性質研究。國立交通大學 材料科學與工程學系 碩士論文。

(四) 王嘉薇 (2003) 丁醯化幾丁聚醣之研究。國立成功大學 化學工程學系碩博士班 碩士論文。

四、網站文章

(一) 王修含 (2008) 【皮膚黴菌學】真菌(fungus)的形態分類: 黴菌(霉菌, mold)與酵母菌(yeast), 皮膚科王修含醫師部落格。 <https://dyelaser.wordpress.com/2008/12/02/>

(二) 財團法人中華民國消費者文教基金會 (2020) 消毒靠紫外線? 小細節不能忽視。

取自 <https://www.consumers.org.tw/product-detail-2598143.html>

(三) 游懿聖 (2019)· 紫外光也可以治皮膚病?! 趕快聽聽光照專家--皮膚科醫師怎麼說! 台灣皮膚科醫學會。取自

http://www.derma.org.tw/index.php?sort_no=1559544030&sort_s_no=1559545130&id=1559545151

(四) 江奕賢 (2020) 夏日美肌防曬, 認識加速外在老化的紫外線! 安永生活誌。取自 <https://life.anyongfresh.com/ultra-violate-speed-up-your-looks/>

(五) 王也珍 (2011) 青黴菌 *Penicillium chrysogenum*。國立自然科學博物館 / 數位典藏國家型科技計畫。

取自 <http://digimuse.nmns.edu.tw/da/collections/bf/mt/ex/0b00000181e47854/>

五、專題報告

曾耀銘 (2002) 中部科學園區推動計畫：幾丁質分解酵素與幾丁類物質之製備與應用研究。

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告。

六、網路資源

(一) 認識紫外線的傷害。行政院環保署。取自

<https://enews.epa.gov.tw/Page/3B3C62C78849F32F/b5da0395-e0b3-4628-b454-b1d03083a273>

(二) 康力得生技股份有限公司·幾丁聚醣纖維傷口敷料(滅菌)。取自

https://www.cens.com/cens/html/zh/product/product_main_126304.html

(三) 吉拓森特生技有限公司·幾丁聚醣應用。取自

https://www.twc2u.com/news_detail_49.htm

(四) 誠麗實業 幾丁聚醣(Chitosan)/幾丁質(Chitin)基本介紹。取自

<https://cabco.com.tw/allproducts/chitosan-chitin-g01/>

【評語】 052108

1. 本研究主要目的在對 UV 照射下黴菌生長及幾丁聚醣含量影響之探討。實驗方法及目的簡潔，實驗結果有實際的應用價值。
2. 如果可以進一步做統計分析，應可增加實驗數據的說服力；或是進一步探討 UV 照射造成差異的背後原因，可增加作品的深度。
3. 材料來源需要交待清楚，UVA、UVB、UVC 燈管的規格廠牌為何要說明詳細，否則無法了解三組實驗結果不同的原因，也無助於實驗結果重現性。
4. 所得結果對幾丁質生產的量能成本及應用之可行性仍有待進一步探討。

作品簡報

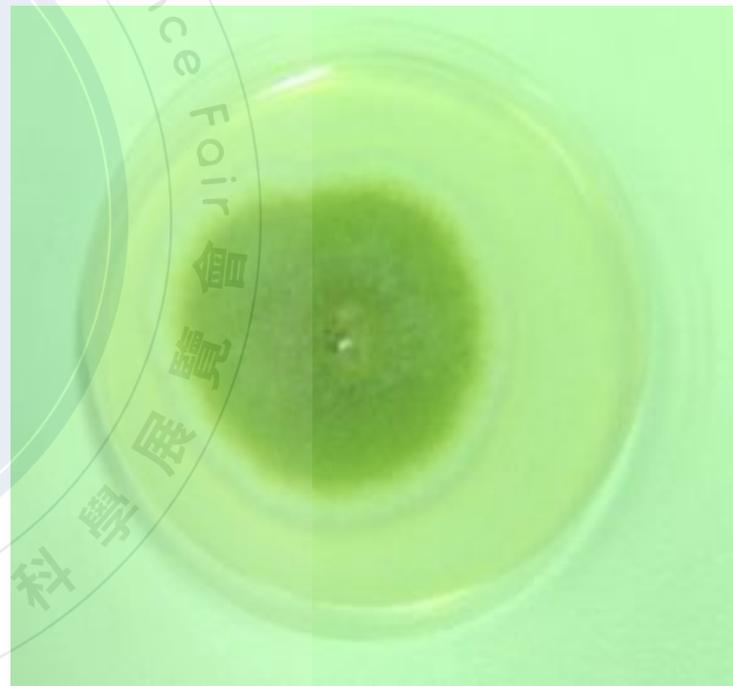
UV照射對黴菌生長 及幾丁聚醣含量之影響探討

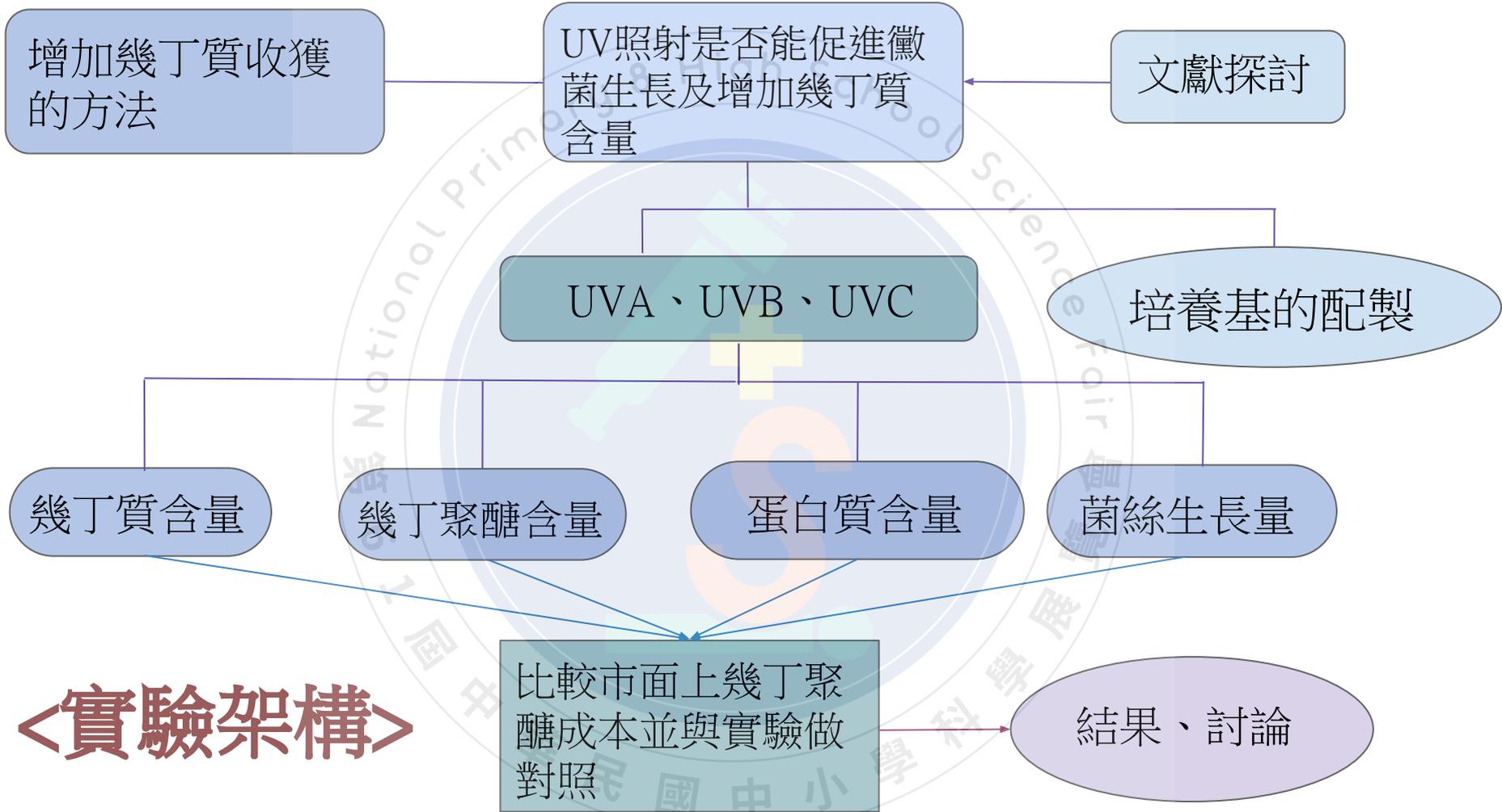
<摘要>

本篇研究主要探討UV照射黴菌所導致的幾丁質含量。本組以青黴菌複合體作為材料，證實黴菌經UVB照射30秒後可促進生長及增加養分的累積，能得到稍多的幾丁質及幾丁聚醣。我們從文獻分析黴菌和蝦蟹外殼的幾丁質結構，發現其結構上有所差異，在比較由實驗萃取幾丁聚醣的成本和市面上經蝦蟹外殼萃取產品的售價，發現兩者價格差異不多。

<研究目的>

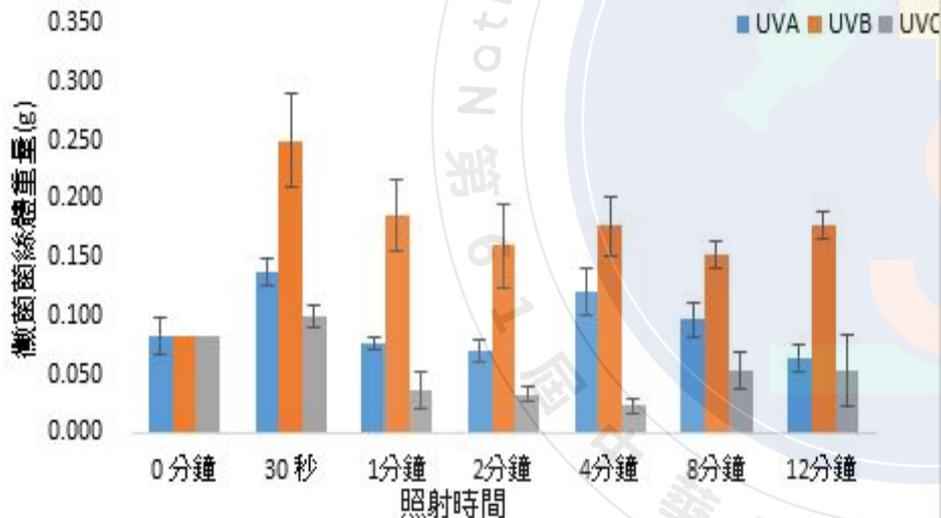
- 一、實驗一：黴菌在不同時間UV照射下生長差異
- 二、實驗二：黴菌在不同時間UV照射下蛋白質含量差異
- 三、實驗三：UV照射對黴菌幾丁質含量差異
- 四、實驗四：UV照射對黴菌幾丁聚醣含量差異





<黴菌在不同時間UV照射下生長差異>

黴菌在不同時間UV照射下生長差異

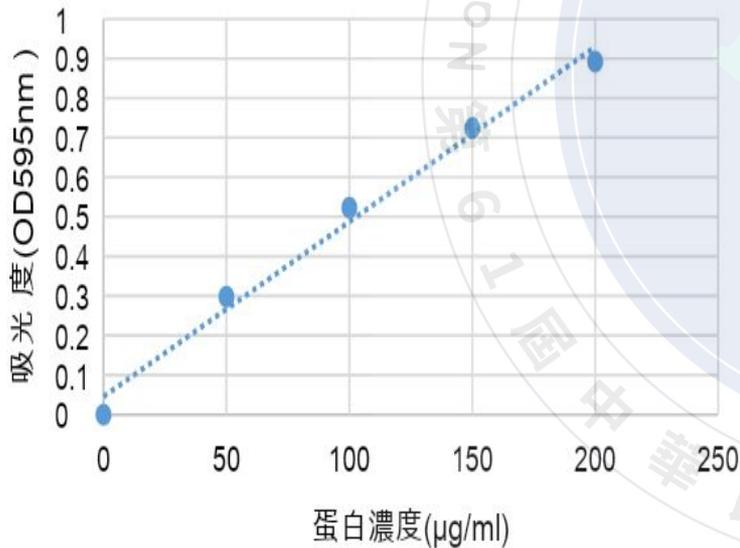


分別以UVA、UVB、UVC照射，接著取菌絲體置於10.0 ml液態培養基，以28.0°C 震盪培養，隔週過濾風乾後秤重。

<黴菌在不同時間UV照射下蛋白質含量差異 (OD值)>

牛血清蛋白

蛋白質檢量線



秤取0.01克菌絲樣本加入1 ml

1.0 %十二烷基苯環酸鈉，以試

管震盪器震盪，溶解細胞內容

物，再加入2.0 ml **Bradford**

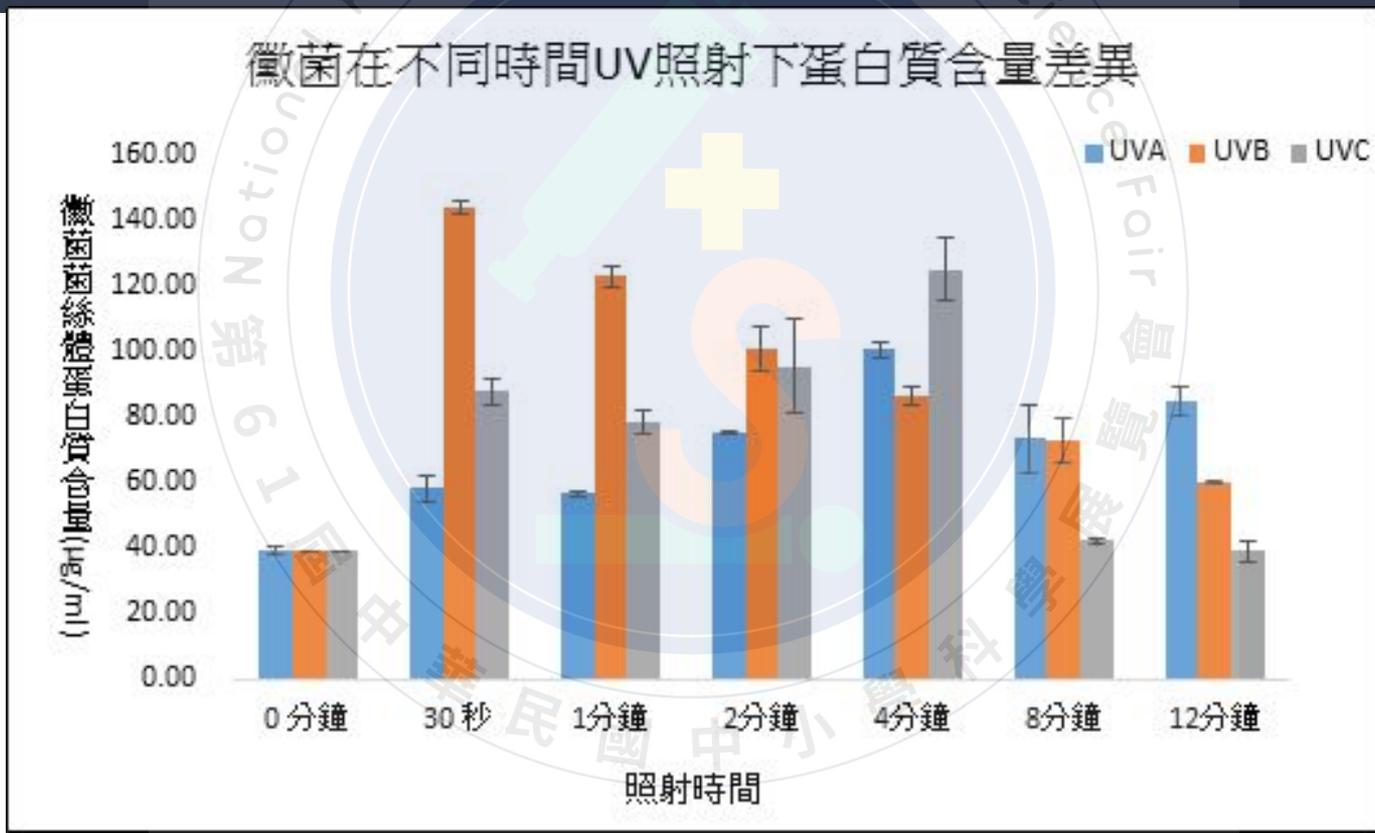
Protein Assay Kit溶液中，放

進分光光度機測量。

<不同UV光線照出來的實驗數據>

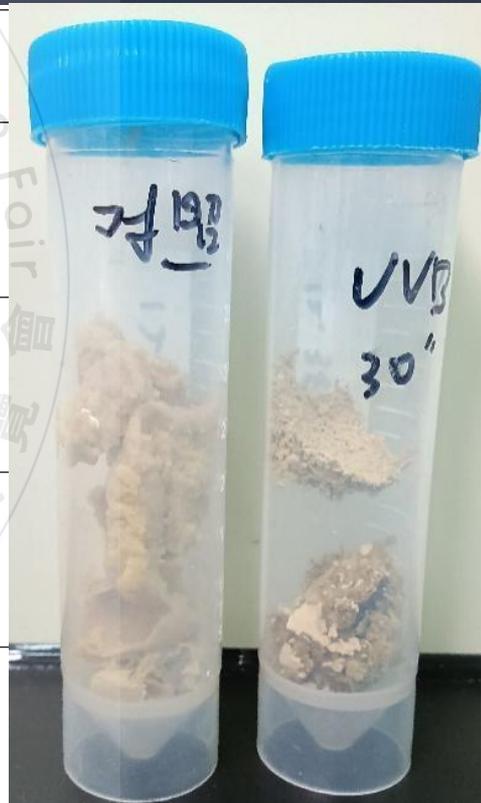
光線	UVA		UVB		UVC	
	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差
0 分鐘	39.242	1.346				
30 秒	58.121	4.160	144.015	1.706	87.727	4.173
1分鐘	56.530	0.656	123.045	2.992	78.621	3.569
2分鐘	75.098	0.302	100.856	6.561	95.644	14.276
4分鐘	100.803	2.349	86.333	3.044	125.106	9.815
8分鐘	73.303	10.052	73.152	6.766	42.197	1.037
12分鐘	84.735	4.381	59.894	0.525	39.114	3.090

<黴菌在不同時間UV照射下蛋白質含量差異>



<UVB 與對照組的數據比較 (1)>

實驗	對照組(0分鐘)		UVB 30秒	
	平均	標準差	平均	標準差
菌絲重量(g)	4.2106	0.0253	4.3189	0.1225
幾丁質重量(g)	3.232	0.0146	3.543	0.0384
收穫率	76.76%		82.03%	



<UVB 與對照組比較 (2) >

組別	對照組(0分鐘)		UVB 30秒	
重量	平均	標準差	平均	標準差
幾丁質重量(g)	3.653	0.0146	3.9746	0.0384
幾丁聚醣重量	0.1123	0.0274	0.1857	0.0209
收穫率	3.07 %		4.64 %	

<本實驗得算價格與目前市售幾丁聚醣價錢比較>

	價錢	每克價錢
實驗用幾丁聚醣	50 g 400元	8元
保健食品	30 g 3000元	100元
傷口敷料	2cm x 3cm 1000元	1kg 約3000到4000元
青黴菌萃取幾丁聚醣		16.5元

〈結論〉

實驗一：黴菌不同時間UV照射生長差異，**UVB照射30秒效果最好。**

實驗二：黴菌在不同時間UV照射下蛋白質含量差異，**UVB照射30秒累積量增加最明顯**，UVA及UVC則需照射四分鐘才達最高值。

實驗三：UV照射對黴菌幾丁質含量差異，**UVB照射獲得的菌絲經萃取後，可獲得較高的幾丁質重量。**

實驗四：UV照射對黴菌幾丁聚醣含量差異，**UVB照射獲得的菌絲經萃取後，可獲得較高的幾丁質重量。**

〈參考資料〉

車振明 (2011) 微生物學·科學出版社。

廖芳陞 (2007) 黴菌與健康·科學發展 415 : 17-21。

黃柏諺 (2012) 發霉與黴菌·台灣企業雜誌電子報, 43 : 31-33。

江奕賢 (2020) 夏日美肌防曬, 認識加速外在老化的紫外線! 安永生活誌取自

<https://life.anyongfresh.com/ultra-violate-speed-up-your-looks/>

吳彭哲、黃瀚寧 (2010) 蝦蟹殼中的寶貝—幾丁質·科學發展 448 : 12-19。取自

<https://ejournal.stpi.narl.org.tw/sd/download?source=9904/9904-02.pdf&vld=6C4B3424-A77B-4E29-9CDA-ABC9499C3073&nd=0&ds=0>

財團法人中華民國消費者文教基金會 (2020) 消毒靠紫外線? 小細節不能忽視取自

<https://www.consumers.org.tw/product-detail-2598143.html>

葉純宜、林明滢、陳小妮、王復德 (2005) 紫外線殺菌效能探討·感染控制雜誌 15:

293-300。

李垣勳、李韶郁、李文昭(2016)·林業研究季刊38(4)取自

https://exp-forest.nchu.edu.tw/forest/upload/publish_en/786-3_P253-262.pdf

呂卦南(2006)·康寧學報 8: 157-170取自

<https://daa.ukn.edu.tw/ezfiles/6/1006/img/219/8.pdf>

謝國鎔、葉佳瑋、甘其詮、張恩旗、蘇暄、萬孟璋

嘉南學報 37 期 (2011)以幾丁聚醣固定於淨水廠污泥處理水中銅金屬之研究取自

<https://ir.cnu.edu.tw/handle/310902800/25424>

林 王嘉薇 丁醴化幾丁聚醣之研究·碩士論文。

王修含 (2008)【皮膚黴菌學】真菌(fungus)的形態分類: 黴菌(霉菌, mold)與酵母菌

(yeast), 皮膚科王修含醫師部落格。 <https://dyelaser.wordpress.com/2008/12/02/>

游懿聖 (2019)·紫外光也可以治皮膚病?! 趕快聽聽光照專家--皮膚科醫師怎麼說! 台

灣皮膚科醫學會取自

http://www.derma.org.tw/index.php?sort_no=1559544030&sort_s_no=1559545130&id=1559545151

王也珍 (2011)青黴菌 *Penicillium chrysogenum*。國立自然科學博物館 / 數位典藏國家型科技計畫。

曾耀銘 (2002) 中部科學園區推動計畫: 幾丁質分解酵素與幾丁類物質之製備與應用研究。行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告。

認識紫外線的傷害。行政院環保署取自

<https://enews.epa.gov.tw/Page/3B3C62C78849F32F/b5da0395-e0b3-4628-b454-b1d0308:273>

康力得生技股份有限公司·幾丁聚醣纖維傷口敷料(滅菌)取自

https://www.cens.com/cens/html/zh/product/product_main_126304.html

吉拓森特生技有限公司·幾丁聚醣應用取自

https://www.twc2u.com/news_detail_49.htm

王嘉薇 丁醴化幾丁聚醣之研究·碩士論文。

<https://www.airitilibrary.com/Publication/alDetailedMesh1?DocID=U0026-08122009103903>