

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生活與應用科學科(二)

第三名

032909

當渦們酮在一起-金狗毛蕨對渦蟲再生能力的探討

學校名稱：康橋學校財團法人新北市康橋高級中學

作者： 國三 徐圓圓 國三 詹舒涵 國三 藍正濤	指導老師： 李威震 蔡宜蓁
---	-----------------------------

關鍵詞：台灣金狗毛蕨、渦蟲再生、抗氧化

摘要

本研究在探討台灣金狗毛蕨萃取物對於渦蟲傷口再生的影響，中醫認為金狗毛蕨具有抗菌效果，因此本研究同時分析了其根莖與茸毛中的酮類和酚類成分含量，並測試了其抗氧化能力。研究發現：

1. 50%乙醇萃取液，金狗毛蕨具有最高的總酚類化合物萃取量，且透過延長萃取時間至 3 小時，萃取量將提高。
2. 其含有豐富的總類黃類化合物，特別是在 50%乙醇或純水溶液萃取情況下。
3. 95%乙醇或 99%甲醇萃取的金狗毛蕨溶液，顯示出極佳的抗氧化能力。萃取液在稀釋至 0.1%後，對渦蟲傷口的再生效果特別顯著，尤其是 95%乙醇與 99%甲醇萃取液。
4. 渦蟲再生試驗主要觀察尾段長出眼點的時間，以 95%乙醇萃取液以及 99%甲醇萃取液的渦蟲再生效果最好，能夠明顯縮短眼點的再生時間。

壹、前言(含研究動機、目的、文獻回顧)

一、研究動機

在一次登山活動中，一位長者分享了他的經驗：在童年受傷時，利用金狗毛蕨的茸毛覆蓋傷口可迅速止血且傷口復原快速。這種神奇的自然治療力量引起了我的好奇心，並成為我進行這項實驗的動機，期望從科學角度解析金狗毛蕨的治療效果。

本組實驗目的在探討台灣金狗毛蕨萃取物對渦蟲傷口再生的影響，並且希望能夠進一步了解其中有效的主要成分對傷口癒合的促進作用。台灣金狗毛蕨被中醫師稱為"狗脊"，其含有類黃酮物質也被發現具有抑菌的效果。

由於現代醫學對於傷口癒合和慢性傷口問題尚無法完全解決，因此金狗毛蕨萃取物可能成為一種具有潛力的天然療法，對於尋求天然藥物的患者，金狗毛蕨萃取物可能成為一個更加安全和有效的治療方法。

本實驗的結果除發現台灣本土的傳統中藥材資源，並推廣天然藥物的發展和應用。透過這個實驗，不僅能夠探討台灣金狗毛蕨的生物活性成分，還可以將研究成果應用於促進傷口癒合的相關領域，為提高人類健康水平和生命質量做出貢獻。也為推動中醫藥材在現代醫學中的應用和發展，進一步提高人類對中醫藥材的認識和信任。

二、目的

研究將從萃取金狗毛蕨溶液、分析其總酚類和總類黃酮類化合物含量、測定其清除 DPPH 自由基能力等實驗中，探討金狗毛蕨對渦蟲傷口再生的影響。為了獲得可靠的結果，我們以日本三角渦蟲為研究對象，比較金狗毛蕨萃取液對其傷口再生效果的影響。

- (一) 實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液
- (二) 實驗二：總酚類化合物含量分析
- (三) 實驗三：總類黃酮類化合物含量分析
- (四) 實驗四：清除 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基能力之測定
- (五) 實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗

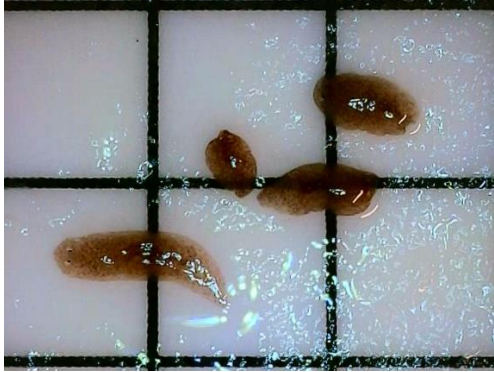
三、文獻回顧

作品名與來源	內容	給本組的參考與啟示
渦蟲生態初探 (第三屆旺宏科學獎 成果報告書)	這份報告主要探討了台灣南部渦蟲的生物學特徵、習性、分布範圍以及與其他生物的相互作用等。渦蟲是一種微小的軟體動物，身體呈圓錐形。其分布範圍極廣，且在生態系統中扮演重要角色。在研究指出渦蟲具有卓越的繁殖與再生能力，繁殖方式包括卵生和胎生等。再生能力科學家對渦蟲幹細胞進行研究。	這份報告提供了深入理解渦蟲生態、分布與生物特性的資訊，對於本組將金狗毛蕨萃取液應用於渦蟲傷口再生的研究有很大幫助。此外，了解渦蟲的生物習性與再生機制，可以更有效地設計與進行相關的實驗。
《Planaria Regeneration Activity》, Howard Hughes Medical Institute 2006 Holiday Lectures on Science	《Planaria Regeneration Activity》是一份關於渦蟲再生能力的教學資料。資料中包含了關於渦蟲生理功能（如消化、呼吸等）、再生能力、以及實驗設計和應用的詳細說明。	資料提供了詳細的渦蟲照護、觀察、實驗方法，有助於我們了解渦蟲的再生能力以及其潛在的醫學應用。透過實驗活動的設計，可以觀察並記錄渦蟲的再生過程，了解其生長速度和身體變化。同時，由於渦蟲的再生能力可能有助於治療人類的疾病，我們的研究可能對未來的醫學研究有所貢獻。

作品名稱與來源	內容	給本組的參考與啟示
<p>"The effect of caffeine on the regeneration of Brown Planaria (<i>Dugesia tigrina</i>)" by Olivia Lazorik, Phillips Exeter Academy, Exeter, New Hampshire</p>	<p>研究探討了咖啡因對褐色渦蟲 (<i>Dugesia tigrina</i>) 再生的影響。渦蟲是最原始的有頭動物，與脊椎動物神經系統有相似性，含有幾乎所有在哺乳動物中存在的神經傳導物質，包括多巴胺。此研究發現，咖啡因的最高劑量比最低劑量和對照組更能加速渦蟲的再生。這項研究證實咖啡因可能是刺激再生過程的一種可能療法。</p>	<p>這項研究提供了對於咖啡因如何影響生物再生的新視角。此研究中利用數位攝影記錄再生過程，以及對於再生速度與劑量關係的分析，都可以作為我們未來實驗設計的參考。進一步來說，這項研究也提醒我們在研究過程中要考慮到不同的生物反應和藥物劑量的影響，這對我們選擇實驗材料和設計實驗有很大的幫助。</p>
<p>"Biological activities and phytochemical content of the rhizome hairs of <i>Cibotium barometz</i> (Cibotiaceae)"，作者為 Yunn Wen Heng, Jun Jie Ban, Kong Soo Khoo, Nam Weng Sit，發表於 2020 年 10 月的 Industrial Crops and Products (Volume 153, 1 October 2020, 112612)</p>	<p>這項研究評估了金狗毛蕨的根莖毛茸的化學含量、抗氧化和抗菌活性，並分析了乙酸乙酯提取物的代謝物。萃取使用己烷、氯仿、乙酸乙酯、乙醇、甲醇和水。提取物中含有多種化合物，包括蔥醌、類黃酮、酚類、單寧、植物甾醇和三萜類化合物。乙酸乙酯提取物具有最強的抗氧化活性和最高的鐵還原抗氧化力，以及最高的 DPPH 自由基清除活性。</p>	<p>這項研究展現了一套全面且深入的 <i>Cibotium barometz</i> (金狗毛蕨) 研究方法，提供了豐富的參考價值。它不僅揭示了該植物的萃取技術和分析流程，同時也詳述了其可能具備的生物活性與所含化合物的性質。這些寶貴的資訊對我們有莫大的助益，它讓我們能夠更深入地理解這種植物的獨特特性，並指引我們如何更有效地利用它。</p>
<p>"桑椹類黃酮和總酚類化合物最適化萃取及其抗氧化特性分析" 明新科技大學，化學工程與材料科技系碩士學位論文</p>	<p>研究探討了在特定條件下，從桑椹中提取總酚類化合物和類黃酮化合物的最佳方法，並分析了這些化合物的抗氧化能力。在 3 小時萃取時間和 40°C 的溫度下，得到最佳萃取效果。</p>	<p>此研究提供了一個用於最佳化萃取特定化合物的方法，並評估這些化合物的抗氧化能力。對我們的研究有明顯的參考價值，可以參照其萃取方法與最佳條件，將其應用在我們的研究中，以提取金狗毛蕨的有效成分，並對其進行分析和評估。</p>


(六) 其他相關資料

1. 渦蟲基本介紹：

界	動物界 Animalia	
門	扁形動物門 Platyhelminthes	
綱	渦蟲綱 Turbellaria	
目	三歧腸目 Tricladida	
科	三角渦蟲科 Dugesiidae	
屬	三角渦蟲屬	
種	日本三角渦蟲	

.本組實驗 渦蟲 (*Dugesia japonica*)由嘉義大學淡水生物資源中心提供。

2.金狗毛蕨介紹

界	植物界 Plantae	
門	維管束植物 Tracheophyta	
綱	水龍骨 Polypodiopsida	
目	杪羅目 Cyatheaales	
科	金狗毛科 Cibotiaceae	
屬	金狗毛蕨屬 Cibotium	
種	金狗毛蕨 <i>C. barometz</i> / <i>taiwanense</i>	

根據台北植物園的植物園組(蕨類植物區)吳先生很確定北部郊山，金狗毛蕨無外來種，全部都是台灣金狗毛蕨。僅在日月潭南投一帶有一些外來種。另農委會台東農改場李主任亦提供：台灣金狗毛蕨在本島分布很廣，山區到處都有。本組實驗材料取得容易。

貳、研究設備及器材




(一) 原料：

台灣金狗毛蕨、純水、甲醇、乙醇、沒食子酸、碳酸鈉 (Na_2CO_3)、槲皮素 (Quercetin)、Folin-ciocalteus reagent (50%)、硝酸鉀 KNO_3 、75%酒精、醋酸鉀 (CH_3COOK)、維生素 C(L(+)-ascorbic acid)、DPPH、單寧酸

		
台灣金狗毛蕨	甲醇	DPPH/維他命 C
		
Folin-ciocalteus reagent	氯化鋁	槲皮素

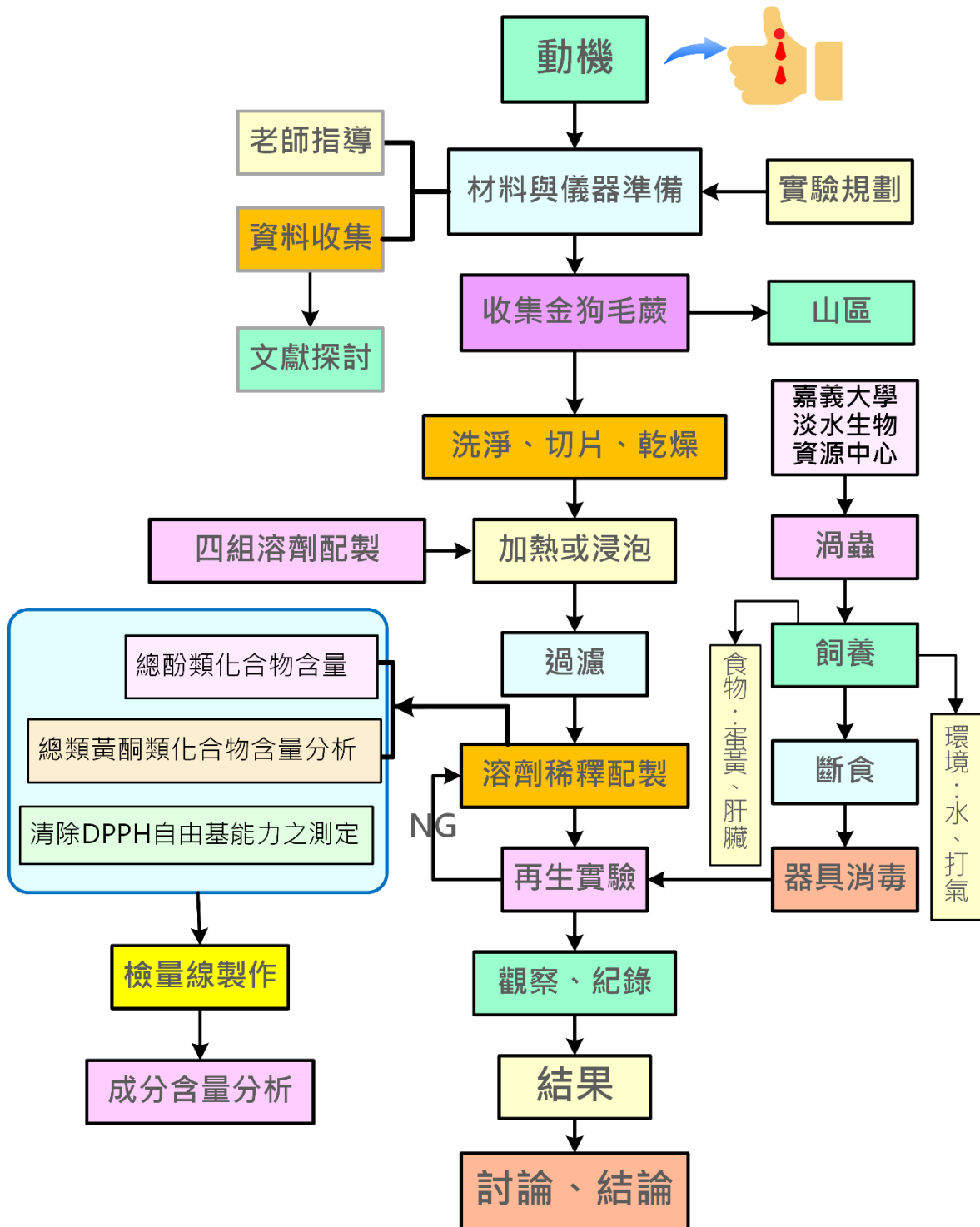
(二) 儀器與設備類：

果汁機、電子秤、量筒、燒杯、漏斗、血清瓶、磁石加熱攪拌器、微量吸管、滴管、離心管、濾紙、分光光度計、光度皿、手機顯微鏡、顯微鏡、渦蟲飼養組(盒、打氣機……)、解剖刀、實驗用小盒、方格紙

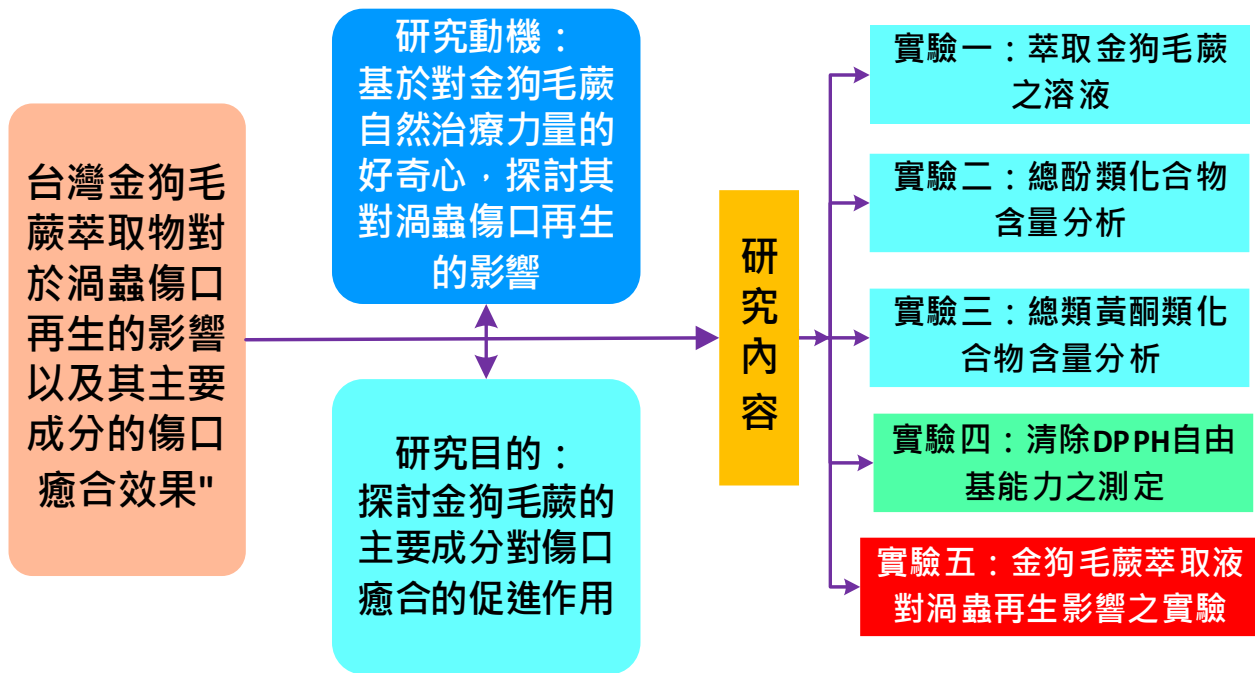
		
分光光度計	定量吸管	磁石加熱攪拌器

參、研究過程或方法

一、 實驗流程



二、實驗架構圖



三、實驗準備：

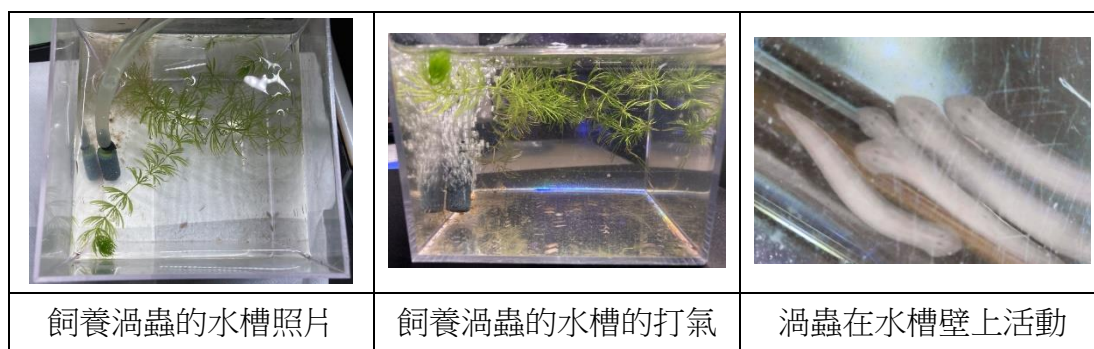
(一)渦蟲的習性：

1. 知道渦蟲（Planaria）是一種生活在淡水中的扁形動物。
2. **喜好陰暗的環境**：渦蟲會避免光照，這是由於它們的眼睛對光線有感應。在自然環境中，通常可以在石頭或者樹葉下面找到它們。如果在實驗室飼養，它們會尋找陰暗的角落或者避開直射的光源。
3. **肉食性習性**：渦蟲主要以小型無脊椎動物為食，如昆蟲幼蟲和蠕蟲等。然而，在實驗室中，它們也可以接受其他的肉食，如肝、蛋黃。
4. **再生能力**：這是渦蟲最著名的習性之一。當渦蟲的身體被切割成幾個部分時，每一個部分都能再生出一個新的渦蟲。這是因為渦蟲的身體中有一種稱為新月體細胞的細胞，這種細胞可以分化成任何類型的細胞。
5. **環境適應性強**：渦蟲能夠適應多種環境條件，從溫度到食物供應都能做出適應。然而，過高的溫度或者含有鹽分或者化學物質的水源可能對它們造成傷害。

(二) 飼養注意事項

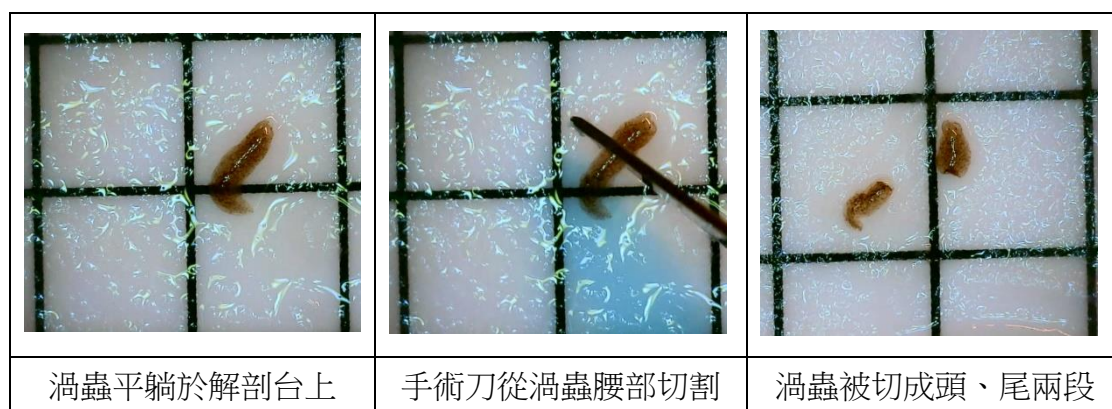
1. 環境：渦蟲需要在溫度適中的淡水中生活。一般來說，15~25°C的溫度範圍對大多數種類的渦蟲來說是最理想的。

2. 飲食：渦蟲是肉食性的，主要食物是小型無脊椎動物，但在實驗室裡，它們經常被餵食生或煮熟的肝或其他類似的肉類。記得要定期餵食並且清理未食用的食物，以防止水質污染。
3. 水質：渦蟲需要清潔的水源才能生存。使用去離子水或者瓶裝水通常是最好的選擇，並且定期更換水源以保持清潔。水中的鹽分和化學物質（如氯）的含量應該保持在最低，因為它們可能對渦蟲有害。



(三)實驗注意事項：

1. 工具和技術：在實驗中需要切割渦蟲，應該使用鋒利的工具，如手術刀，並且要確保工具在使用前後都被徹底地消毒，以避免感染。
2. 溫度和光照：需要考慮到切割後的渦蟲可能對環境變化更敏感，所以需要確保溫度穩定，並避免強光照射。
3. 紀錄和觀察：在整個實驗過程中，需要定期記錄和觀察渦蟲的狀況，包括再生進程，行為變化等。尤其是在切割後的初期，可能需要每天觀察和記錄。
4. 處理疼痛和壓力：儘管目前的科學共識認為渦蟲可能無法感覺到疼痛，但是在進行切割或者其他可能導致壓力的操作時，還是需要盡可能地減少對渦蟲的壓力和不適。



三、實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液

(一) 實驗目的：以水、甲醇及乙醇等溶液萃取金狗毛蕨的成分，並用於後續實驗分析。

(二) 實驗步驟：



1. 首先將金狗毛蕨經過乾燥並切成片狀，再用果汁機磨成粉末狀。
2. 利用精確的電子天平測量出 5.0 公克金狗毛蕨粉末，並將其轉移至燒杯中。
3. 將 100.0 毫升的純水加熱至沸點（100℃），然後倒入含有 5.0 公克金狗毛蕨粉末的燒杯中。繼續將該燒杯放置於加熱器上，以維持恆溫在 100℃ 的狀態下萃取 30 分鐘。
4. 使用量筒量配製不同濃度的甲醇和乙醇溶液（分別為 99.0%、75.0%、50.0%、25.0% 的甲醇，以及 95.0%、75.0%、50.0%、25.0% 的乙醇），將 100.0 毫升各種溶液倒入含有 5.0 公克金狗毛蕨粉末的燒杯中，混合均勻後浸泡萃取 30 分鐘。
5. 使用濾紙過濾金狗毛蕨萃取液，得到的萃取液體裝入 50 毫升離心管中，存放在 4℃ 的環境中以待後續實驗分析。



四、實驗二：總酚類化合物含量分析

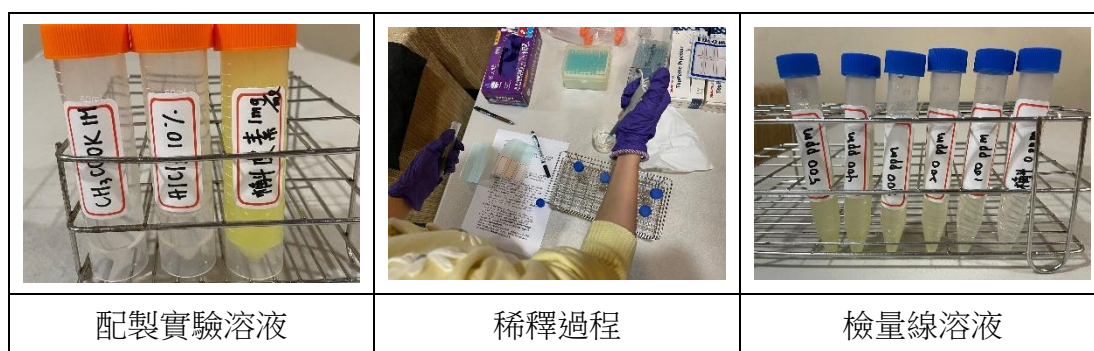
(一) 實驗目的：以酚類化合物沒食子酸為標準品測繪出檢量線，再以同樣分析方法檢測金狗毛蕨萃取溶液的吸光值，藉由檢量線換算出萃取液中總酚類化合物含量。

(二) 實驗步驟：



1. 以電子天平精準地量秤 0.05 克（即 50 毫克）的沒食子酸，放入 50 毫升的離心管中，加入足量的純水將其溶解至 50 毫升，得到 1 毫克/毫升的沒食子酸溶液。

2. 使用電子天平量秤 1.0 克的 Na_2CO_3 ，放入 50 毫升的離心管中，加入純水至 50 毫升，使其形成 2% 的 Na_2CO_3 溶液。
3. 使用定量吸管吸取 0 毫升、1 毫升、2 毫升、3 毫升、4 毫升和 5 毫升的沒食子酸(1 毫克/毫升)放入 15 毫升的離心管中，加入足夠的純水至 10 毫升；將濃度調配成 0 毫克/升 (0 ppm)、100 毫克/升 (100 ppm)、200 毫克/升 (200 ppm)、300 毫克/升 (300 ppm)、400 毫克/升 (400 ppm) 以及 500 毫克/升 (500 ppm)。
4. 分別從配製完成的沒食子酸標準溶液 (濃度為 0 ppm、100 ppm、200 ppm、300 ppm、400 ppm 和 500 ppm) 中吸取 0.5 毫升，放入新的 15 毫升的離心管中，再加入 5.5 毫升的 2% Na_2CO_3 溶液，使總體積達到 6 毫升並混合均勻。
5. 接著，各取 0.3 毫升的 Folin-ciocalteus 試劑 (50%) 加入上述混合液中，均勻混合後放置於室溫下反應 30 分鐘。
6. 最後，吸取 1 毫升的混合液放入分光光度計的塑膠試管中。輕輕拍打排除試管中的氣泡，然後放入分光光度計中，測量其在 750 nm 波長下的吸光值。將測得的數值記錄下來，輸入 Excel 進行檢量線的計算。此步驟依據的文獻為陳良宇 (2012) 的“鹼催化對 Folin-Ciocalteu 試劑檢測總多酚含量的影響”。
7. 使用相同的方法，每種金狗毛蕨萃取溶液吸取三份 0.5 毫升的進行總酚類試驗。同一萃取溶液進行三次獨立的實驗，也就是進行三次重複測量。將測得的吸光值代入檢量線的方程式中，換算出金狗毛蕨萃取溶液中的總酚類化合物含量。



五、實驗三：總類黃酮類化合物含量分析

(一) 實驗目的：以類黃酮化合物槲皮素(Quercetin)為標準品測繪出檢量線，再以同樣分析方法檢測金狗毛蕨萃取溶液的吸光值，藉由檢量線換算出萃取液中總類黃酮類化合物含量。

(二) 實驗步驟：



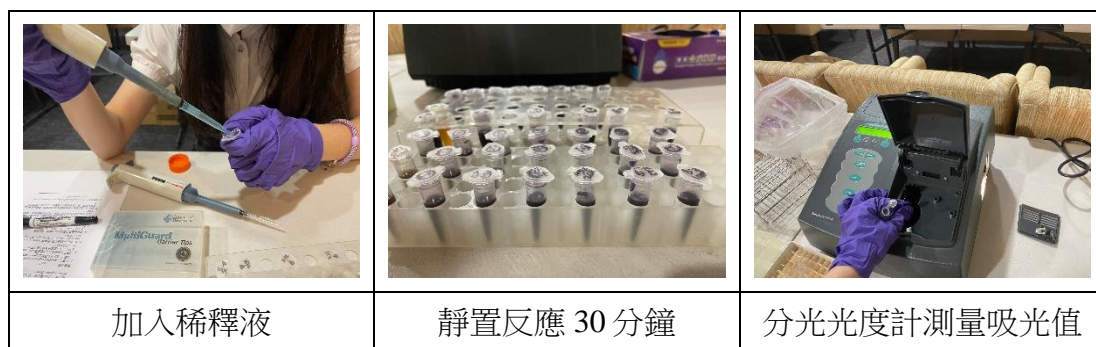
1. 使用電子天平精準地量秤 0.050 克的槲皮素(Quercetin)，放入到 50 毫升的離心管中。加入適量的純水溶解至 50.00 毫升，使槲皮素的溶液濃度達到 1.00 毫克/毫升。
2. 使用電子天平精準地量秤 1.000 克的 $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，放入 15 毫升的離心管中。加入足夠的純水溶解至 10.00 毫升，得到 10.0% 的 $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液。
3. 用電子天平精準地量秤 0.982 克的醋酸鉀，放入 15 毫升的離心管中。加入適量的純水溶解並調整至 10.00 毫升，得到 1.00 M 的醋酸鉀溶液。
4. 分別準確地吸取 0 毫升、1.00 毫升、2.00 毫升、3.00 毫升、4.00 毫升以及 5.00 毫升的 1.00 毫克/毫升槲皮素溶液，加入 15 毫升的離心管中，再加入純水使總體積達到 10.00 毫升。標準溶液濃度為 0 毫克/升、100 毫克/升、200 毫克/升、300 毫克/升、400 毫克/升以及 500 毫克/升。
5. 吸取 0.300 毫升調配好的各種槲皮素標準溶液（濃度為 0 ppm、100 ppm、200 ppm、300 ppm、400 ppm 與 500 ppm），放入 15 毫升的離心管中。按順序加入 0.500 毫升的 95.0% 乙醇，0.100 毫升的 10.0% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液，以及 0.100 毫升的 1.00 M 醋酸鉀和 2.80 毫升的純水。混合均勻後在室溫下靜置反應 40 分鐘。
6. 吸取 1.00 毫升的混合液，放入分光光度計的塑膠試管中，輕輕拍打排除試管中的氣泡，然後放入分光光度計中，測量其在 415 nm 波長下的吸光值。將測得的數值記錄下來，輸入 Excel 進行檢量線的計算。
7. 使用相同的方法，每種金狗毛蕨萃取溶液吸取三份 0.5 毫升的進行總酚類試驗。同一萃取溶液進行三次獨立的實驗，也就是進行三次重複測量。將測得的吸光值代入檢量線的方程式中，換算出金狗毛蕨萃取溶液中的總類黃酮類化合物含量。

六、實驗四：清除 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) 自由基能力之測定

- (一) 研究目的：以維生素 C(L(+)-ascorbic acid) 為標準樣品的對照組，比較不同的金狗毛蕨萃取溶液對 DPPH 自由基的清除能力，與 DPPH 均勻混合反應 30 分鐘後，再以分光光度計測量 517 nm 的吸光值，吸光值愈低表示捕捉能力愈強。
- (二) 實驗步驟：



1. 以電子天平精確稱取 0.79 克的 DPPH（分子量為 394.32 克/莫耳），放入 15 毫升離心管中，加入 99%的甲醇溶解到 10.00 毫升，可得到 0.200 mM 的 DPPH 溶液。
2. 用電子天平精確稱取 0.1 克的維生素 C(L+)-ascorbic acid)，放入 50 毫升離心管中，然後加入純水至 50.00 毫升，得到 2000 毫克/毫升（即 2000 ppm）的維生素 C 溶液。
3. 將 2000 ppm 的維生素 C 溶液稀釋至 1000 ppm（2 倍稀釋）、500 ppm（4 倍稀釋）、200 ppm（10 倍稀釋）、100 ppm（20 倍稀釋）、50 ppm（40 倍稀釋）、20 ppm（100 倍稀釋）以及 10 ppm（200 倍稀釋）。
4. 將各組金狗毛蕨萃取液稀釋成為 2 倍(50%含量)、5 倍(20%含量)、10 倍(10%含量)、20 倍(5%含量)、50 倍(2%含量)以及 100 倍(1%含量)的稀釋液。
5. 吸取 800 μ L 的維生素 C 稀釋液與對照組的純水放入 1.5 毫升的離心管中，再加入 200 μ L 的 0.200 mM DPPH，混合均勻後在室溫下靜置 30 分鐘。
6. 取 800 μ L 的金狗毛蕨萃取液及其稀釋液放入 1.5 毫升的離心管中，然後加入 200 μ L 的 0.200 mM DPPH，混合均勻後在室溫下反應靜置 30 分鐘。
7. 將 1.00 毫升的混合液吸入分光光度計的塑膠試管中，輕輕拍打以排除試管中的氣泡，再將試管放入分光光度計中，測量其在 517 nm 波長下的吸光值並記錄下來。
8. 以公式“清除率(%) = 清除率(1%) = $(1 - A_{517} \text{ of sample} / A_{517} \text{ of control}) \times 100\%$ ”來計算 DPPH 自由基的清除率，其中， $A_{517} \text{ of control}$ 指的是對照組純水 DPPH 在 517 nm 波長下的吸光值，而 $A_{517} \text{ of sample}$ 則是 DPPH 與試驗樣品反應後在 517 nm 波長下的吸光值。



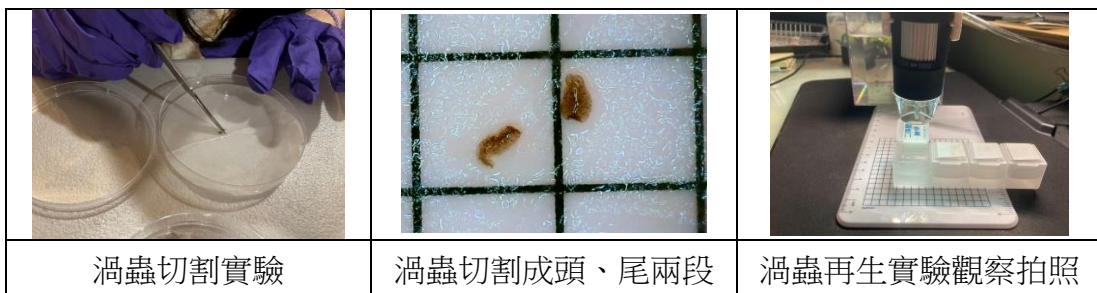
七、實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗

(一) 實驗目的：以水、甲醇及乙醇等溶液所萃取出金狗毛蕨萃取液，試驗對渦蟲傷口癒合再生是否有影響。

(二) 實驗步驟：



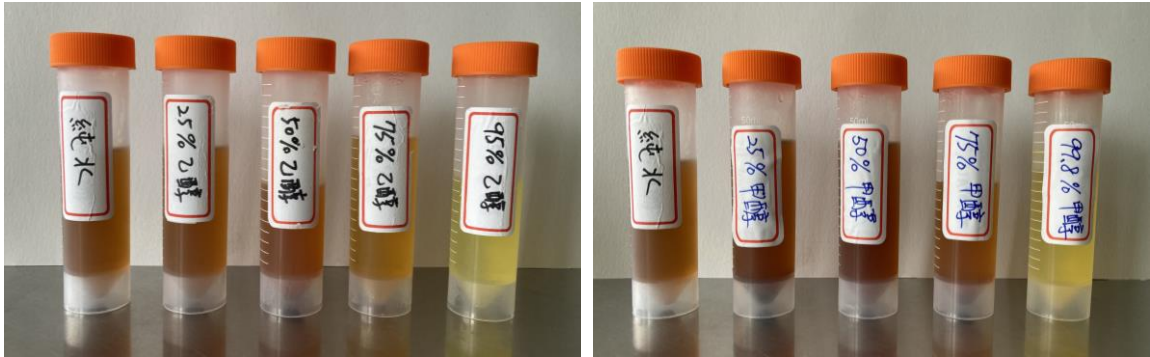
1. 將金狗毛蕨原始萃取液（視為 100%）分別稀釋成 1.0%、0.5%、和 0.1% 的溶液。
2. 在培養皿中放入一張濾紙，滴入無菌水以潤濕濾紙。使用滴管將渦蟲轉移到濾紙上，每組 12 條渦蟲，渦蟲需在實驗前禁食五天。若有需要可以吸除多餘的液體。
3. 將手術刀片進行消毒，然後在渦蟲身體中間腰部的位置進行橫向切割，將渦蟲切割成頭尾兩部分。切割後使用 70% 的消毒酒精潤濕的紙巾擦掉刀片上的粘液，再用乾淨擦手紙擦去多餘酒精。
4. 使用鑷子將含有渦蟲的濾紙轉移到新的、含有無菌水的培養皿中，靜置約 3 分鐘以待傷口閉合（透過觀察傷口的變黑與壓縮狀態來確認）。
5. 使用滴管將渦蟲轉移到小盒子中，吸乾殘餘的液體後加入待測萃取液。待測萃取液由以水、99%、75%、50%、25% 的甲醇以及 95%、75%、50%、25% 的乙醇所萃取出金狗毛蕨萃取液稀釋而成（1.0%、0.5%、和 0.1%）。浸泡液體要高於蟲體，並在室溫下（24 °C）靜置 15 分鐘，同時蓋上鋁箔紙避光。
6. 浸泡 15 分鐘後，使用滴管將待測萃取液吸光，再加入清水浸泡 15 分鐘。此步驟重複三次，即渦蟲在待測萃取液和清水中浸泡各三次。
7. 在浸泡待測萃取液和清水之後，以新鮮的清水飼養渦蟲，飼養應在室溫下進行，期間不再餵食渦蟲。
8. 在小盒子部放上格線，並使用解剖顯微攝像鏡頭來觀察並記錄渦蟲尾端傷口的復原情況及新眼點的出現時間，同時進行拍照記錄。



肆、研究結果

一、實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液

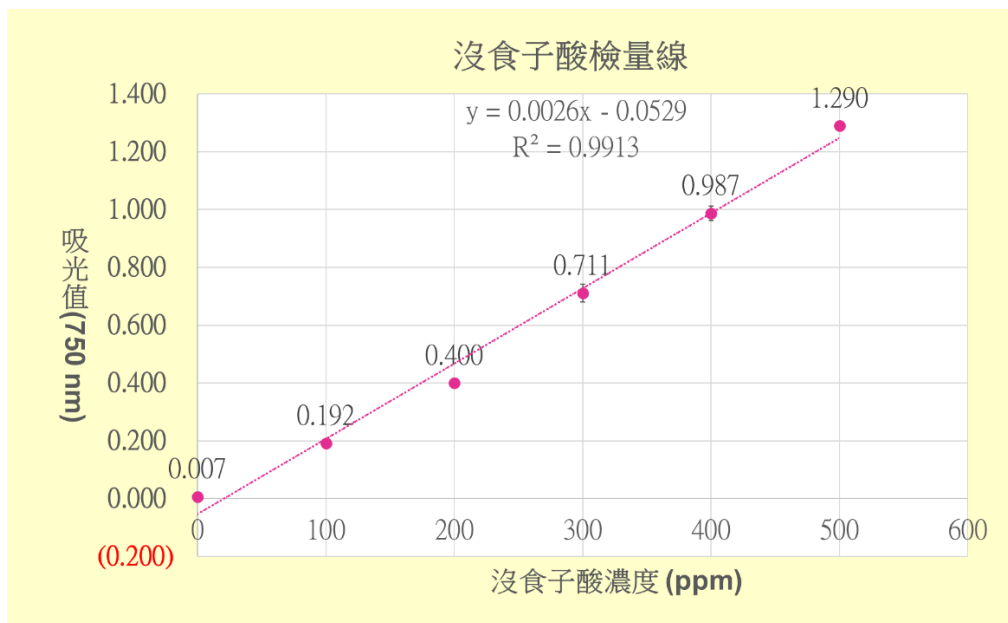
四種萃取液中顏色最深的是使用純水加熱萃取的方式，為褐色；而水分含量由高至低的萃取溶液，顏色由淺褐色到淺黃色。



使用含有甲醇或乙醇溶液萃取，為避免因為加熱造成酒精揮發，使得酒精濃度變低而採取浸泡方式萃取，萃取溶液顏色為淡黃色。

二、實驗二：總酚類化合物含量分析

(一) 將不同濃度的沒食子酸純溶液之吸光值數據繪出檢量線圖



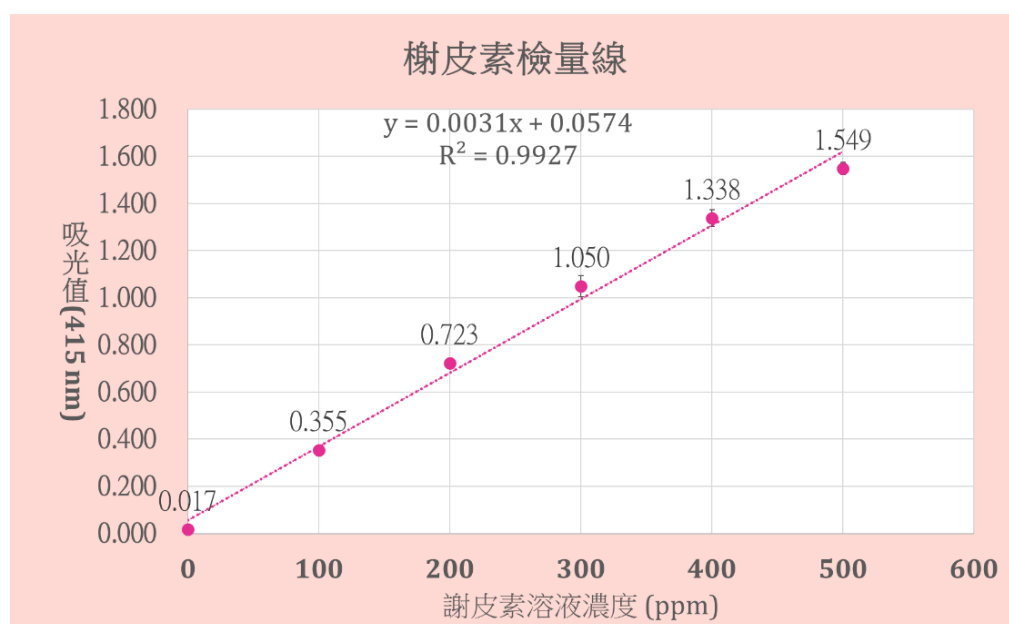
(二) 四種不同金狗毛蕨萃取液稀釋 5 倍後，測量之吸光值數據

金狗毛蕨萃取溶液 3 重複				平均值	標準差	推算原始濃度 (ppm)
萃取方式	吸光值 (750 nm)					
95%乙醇 (稀釋 5x)	0.278	0.322	0.308	0.303	0.022	683.8
75%乙醇 (稀釋 5x)	0.356	0.387	0.341	0.361	0.023	796.6
50%乙醇 (稀釋 5x)	0.963	0.871	0.846	0.893	0.062	1819.7
25%乙醇 (稀釋 5x)	0.887	0.815	0.864	0.855	0.037	1746.6
99%甲醇 (稀釋 5x)	0.421	0.383	0.427	0.410	0.024	890.8
75%甲醇 (稀釋 5x)	0.516	0.567	0.603	0.562	0.044	1182.5
50%甲醇 (稀釋 5x)	0.668	0.625	0.711	0.668	0.043	1386.3
25%甲醇 (稀釋 5x)	0.734	0.751	0.779	0.755	0.023	1553.0
純水 (稀釋 5x)	0.651	0.642	0.655	0.649	0.007	1350.4

小結：經測量，以 50%乙醇萃取的金狗毛蕨溶液，含有最高的總酚類化合物萃取量。

三、實驗三：總類黃酮類化合物含量分析

(一) 不同濃度的槲皮素純溶液之吸光值數據繪出檢量線圖



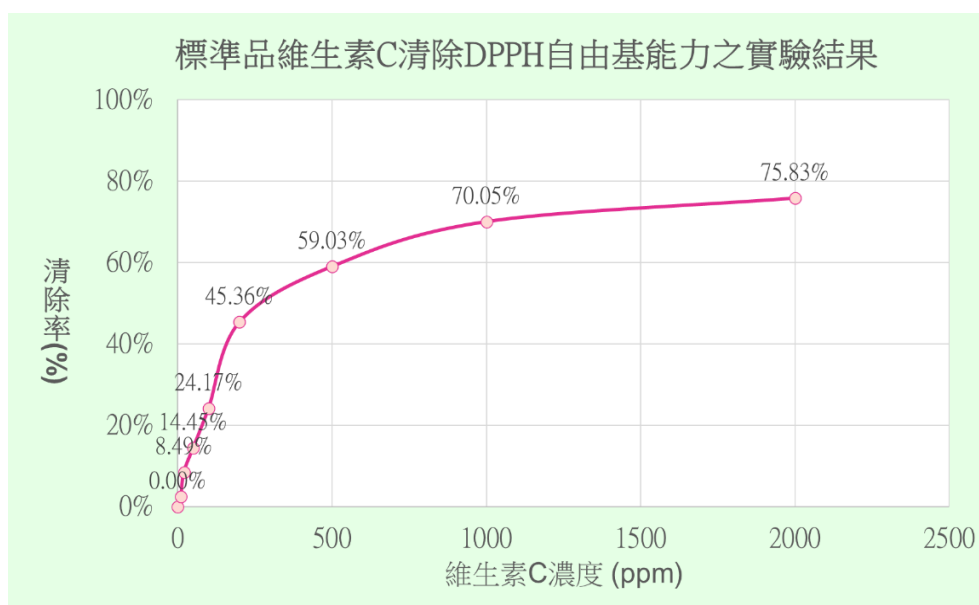
(二) 四種不同金狗毛蕨萃取液測量之吸光值數據

金狗毛蕨萃取溶液 3 重複				平均值	標準差	推算濃度 (ppm)
萃取方式	吸光值 (415 nm)					
95%乙醇	0.262	0.256	0.250	0.256	0.006	64.1
75%乙醇	0.342	0.366	0.381	0.363	0.020	98.6
50%乙醇	0.574	0.577	0.588	0.580	0.007	168.5
25%乙醇	0.556	0.569	0.544	0.556	0.013	160.9
99%甲醇	0.327	0.368	0.374	0.356	0.026	96.4
75%甲醇	0.449	0.482	0.426	0.452	0.028	127.4
50%甲醇	0.502	0.532	0.553	0.529	0.026	152.1
25%甲醇	0.513	0.494	0.529	0.512	0.018	146.6
純水	0.541	0.524	0.521	0.529	0.011	152.0

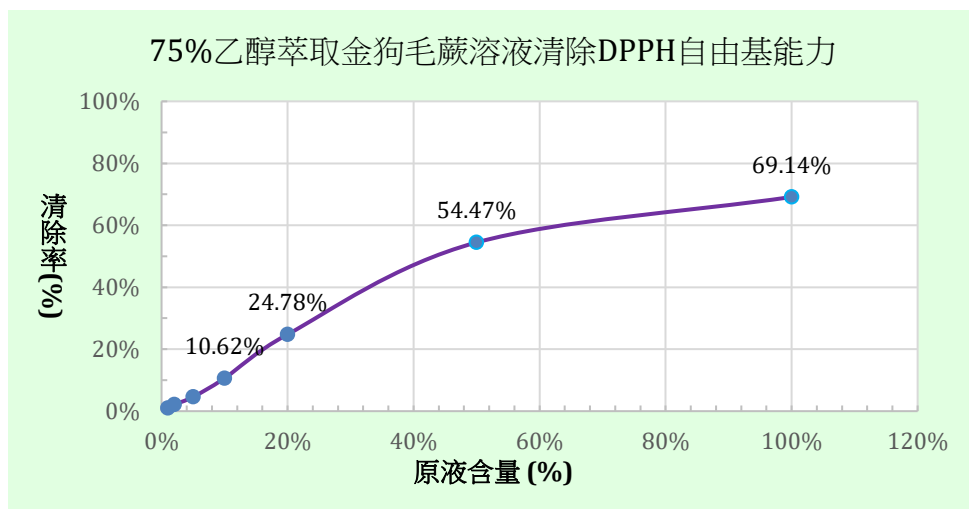
小結：經測量，以 50%乙醇或純水萃取的金狗毛蕨溶液，含有較高的總類黃類化合物萃取量。

四、實驗四：清除 DPPH 自由基能力之測定

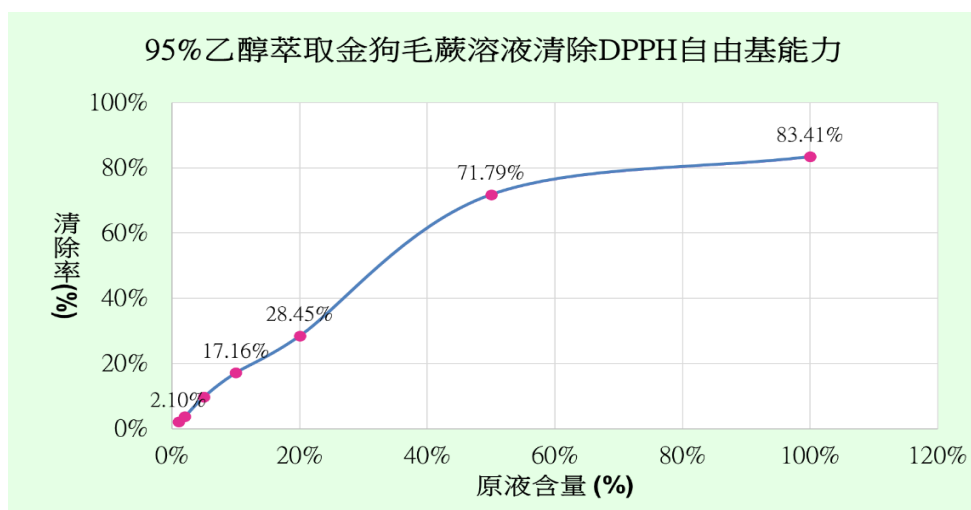
(一)以標準品維生素 C 清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



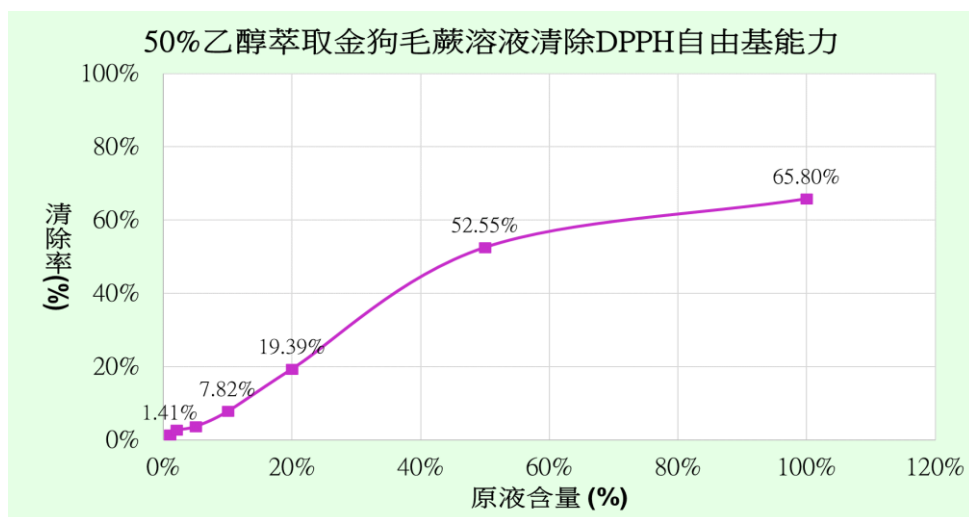
(二) 以 95%乙醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



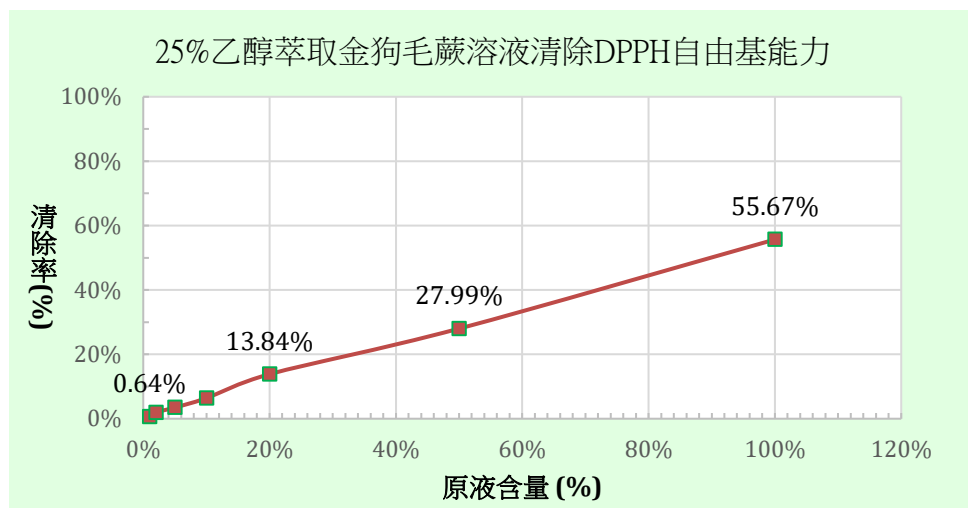
(三) 以 75%乙醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



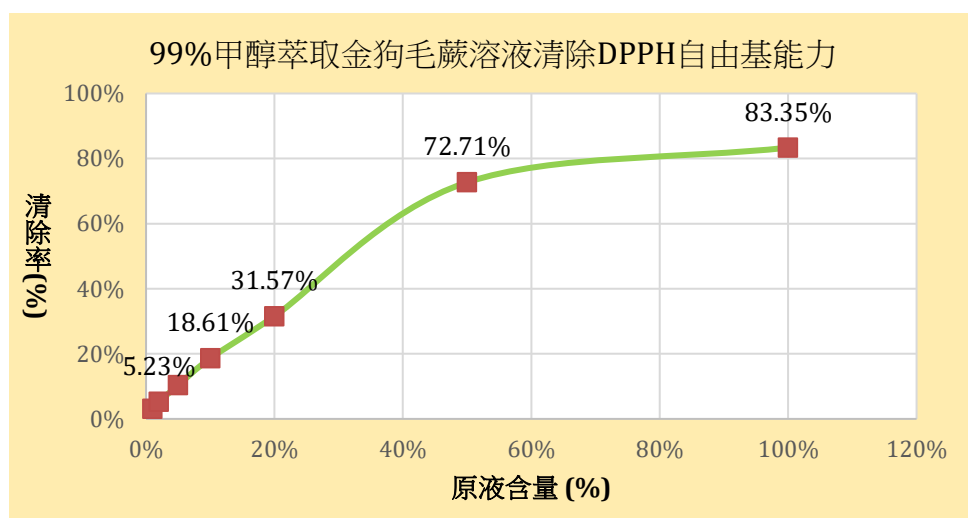
(四) 以 50%乙醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



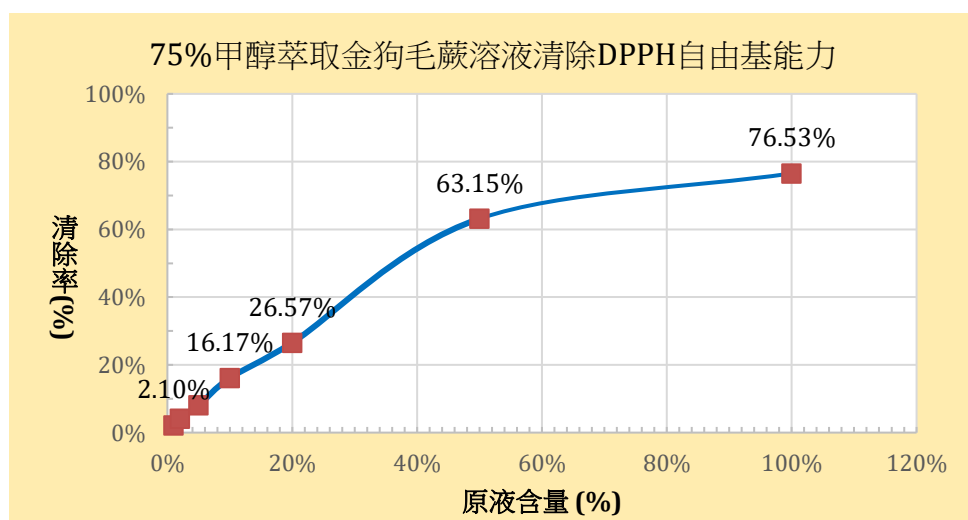
(五) 以 25%乙醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



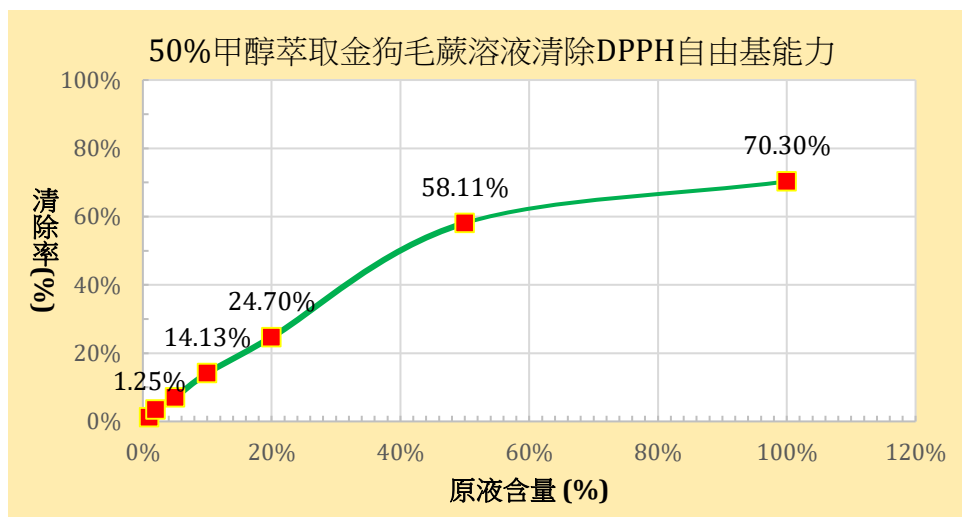
(六) 以 99%甲醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



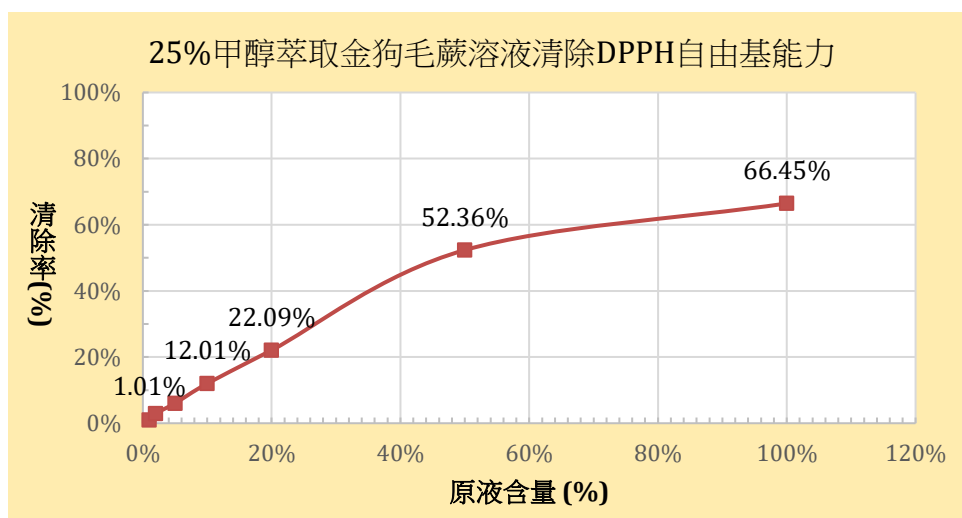
(七) 以 75%甲醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



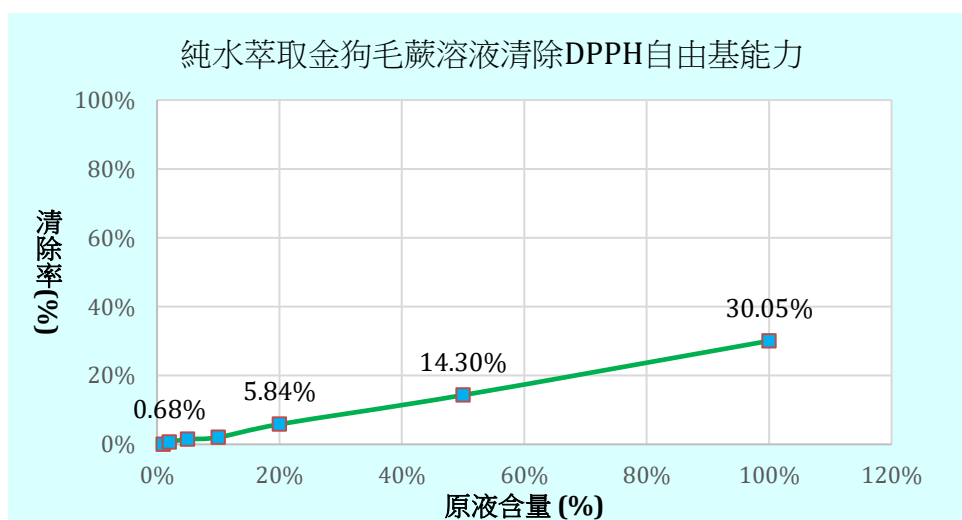
(八) 50%甲醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



(九) 25%甲醇萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



(十) 純水萃取金狗毛蕨溶液清除 DPPH 自由基能力之實驗結果



結果：

1. 清除 DPPH 自由基能力之實驗結果，以清除率(%)圖示代表清除能力高低，原液含量(%)代表稀釋倍數，含量越高代表稀釋倍數越低，反之含量越低代表稀釋倍數越高，稀釋倍數越高表示能以越少的溶液達成相同的清除效果。
2. 經測量，以 95%乙醇或 99%甲醇萃取的金狗毛蕨溶液，可以以較低的萃取液體積達成 50%的自由基清除率效果。

三、實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗

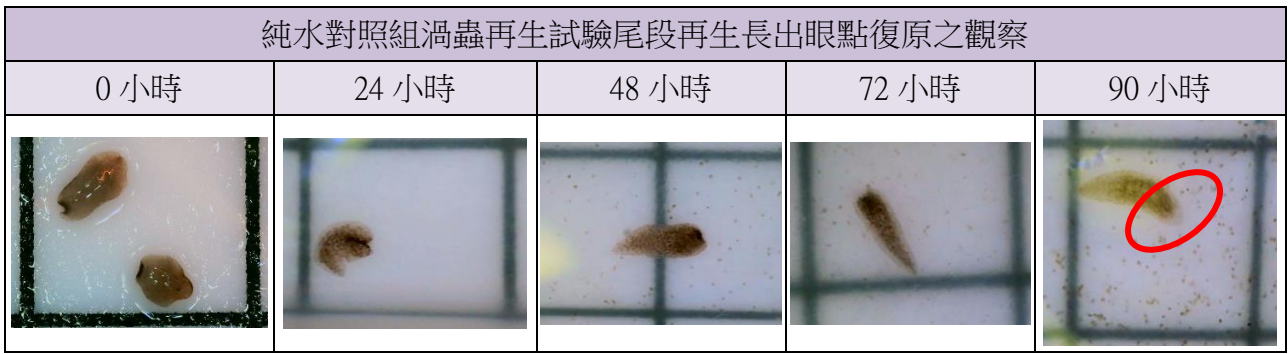
(一)渦蟲再生試驗：空白對照組

渦蟲尾段再生長出眼點復原的時間							
95%乙醇溶液對照組				75%乙醇溶液對照組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	5 隻平均	92.4	1.7	0.1%	5 隻平均	92.0	1.4
0.5%	5 隻平均	93.2	1.1	0.5%	5 隻平均	92.4	0.9
1.0%	5 隻平均	94.0	1.4	1.0%	5 隻平均	92.8	1.1
50%乙醇溶液對照組				25%乙醇溶液對照組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	5 隻平均	91.2	1.1	0.1%	5 隻平均	90.4	1.7
0.5%	5 隻平均	92.0	1.4	0.5%	5 隻平均	91.6	1.7
1.0%	5 隻平均	92.8	1.1	1.0%	5 隻平均	92.4	1.7

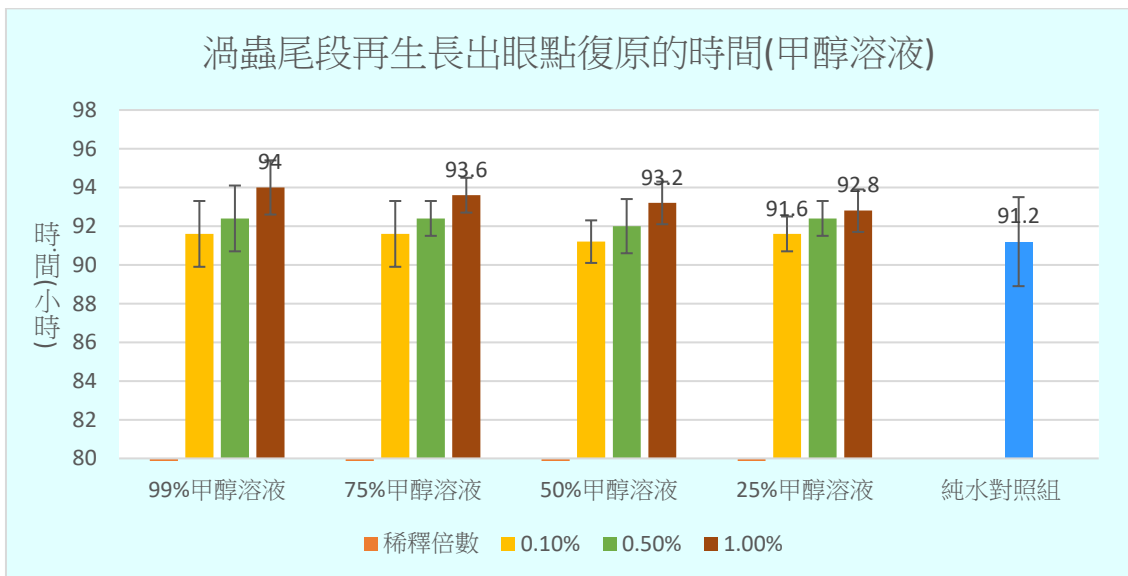
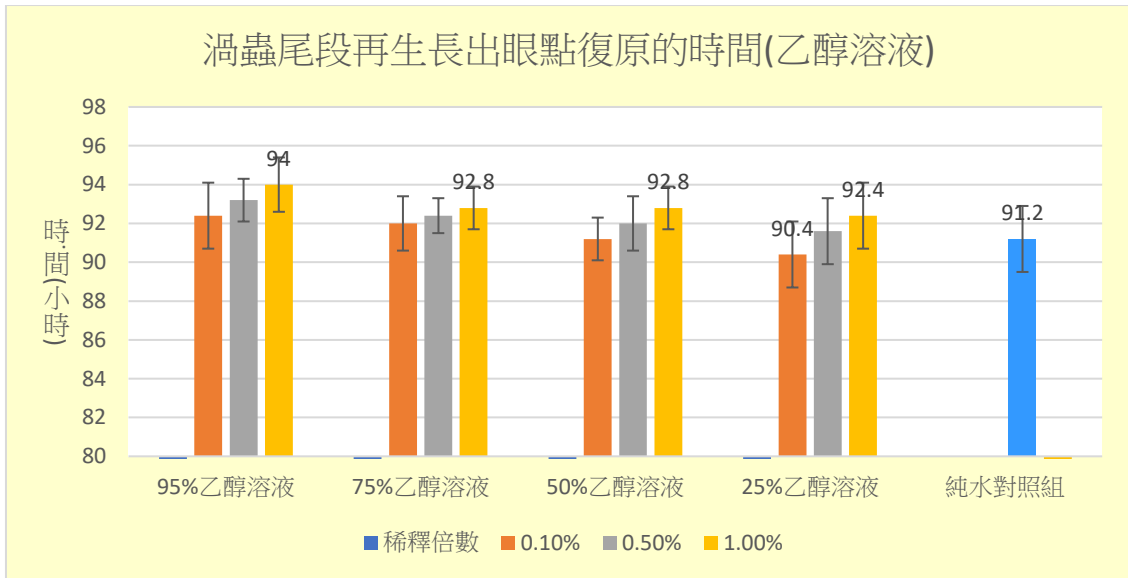
純水對照組						
復原時間(小時)					平均	標準差
92	94	90	94	92	91.2	2.3

99%甲醇溶液對照組				75%甲醇溶液對照組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	5 隻平均	91.6	1.7	0.1%	5 隻平均	91.6	1.7
0.5%	5 隻平均	92.4	1.7	0.5%	5 隻平均	92.4	0.9
1.0%	5 隻平均	94.0	1.4	1.0%	5 隻平均	93.6	0.9
50%甲醇溶液對照組				25%甲醇溶液對照組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	5 隻平均	91.2	1.1	0.1%	5 隻平均	91.6	0.9
0.5%	5 隻平均	92.0	1.4	0.5%	5 隻平均	92.4	0.9
1.0%	5 隻平均	93.2	1.1	1.0%	5 隻平均	92.8	1.1

此附表（十五）為進行渦蟲尾段再生空白試驗長出眼點復原的時間



此附圖（十三）為純水對照組渦蟲再生試驗尾段再生長出眼點復原之照片



小結：純水及各種濃度的萃取溶液做為對照組的空白試驗，對渦蟲尾段再生長出眼點復原的影響，經過每日觀察並拍照記錄，在接近長出眼點的時間以每 2 小時間隔觀察記錄，眼點再生復原的時間約為 92 小時，其他各種濃度的萃取溶液的再生復原的時間也都在 92 小時前後，顯示萃取溶液在相同稀釋倍數下對渦蟲影響甚小。

渦蟲尾段再生長出眼點時體長的增長長度紀錄表

渦蟲尾段再生體長紀錄					
95%乙醇溶液對照組			75%乙醇溶液對照組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	0.70	0.17	0.1%	0.71	0.11
0.5%	0.73	0.17	0.5%	0.76	0.12
1.0%	0.61	0.12	1.0%	0.71	0.28
50%乙醇溶液對照組			25%乙醇溶液對照組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	0.66	0.21	0.1%	0.74	0.10
0.5%	0.76	0.14	0.5%	0.71	0.10
1.0%	0.73	0.18	1.0%	0.75	0.11

純水對照組	
平均增長長度(mm)	標準差
0.68	0.19

渦蟲尾段再生體長紀錄					
99%甲醇溶液對照組			75%甲醇溶液對照組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	0.70	0.13	0.1%	0.74	0.14
0.5%	0.80	0.19	0.5%	0.75	0.22
1.0%	0.79	0.12	1.0%	0.67	0.15
50%甲醇溶液對照組			25%甲醇溶液對照組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	0.76	0.14	0.1%	0.75	0.15
0.5%	0.73	0.17	0.5%	0.71	0.16
1.0%	0.71	0.07	1.0%	0.71	0.12

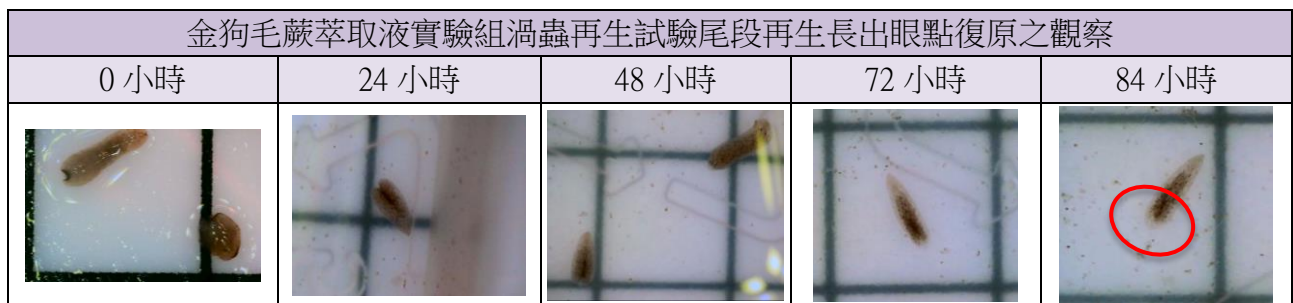
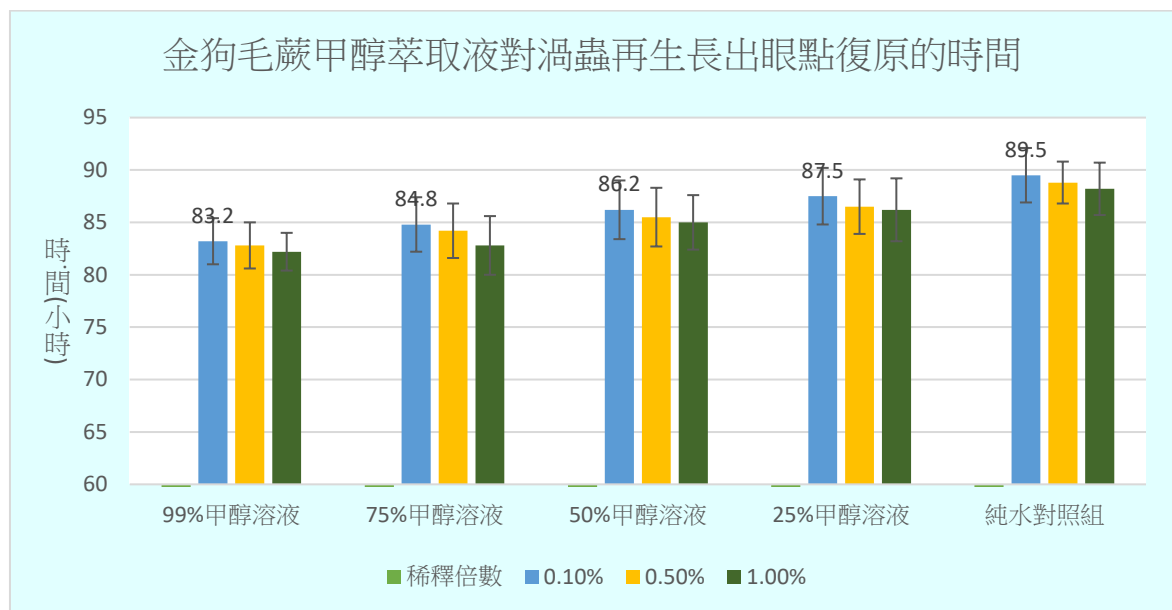
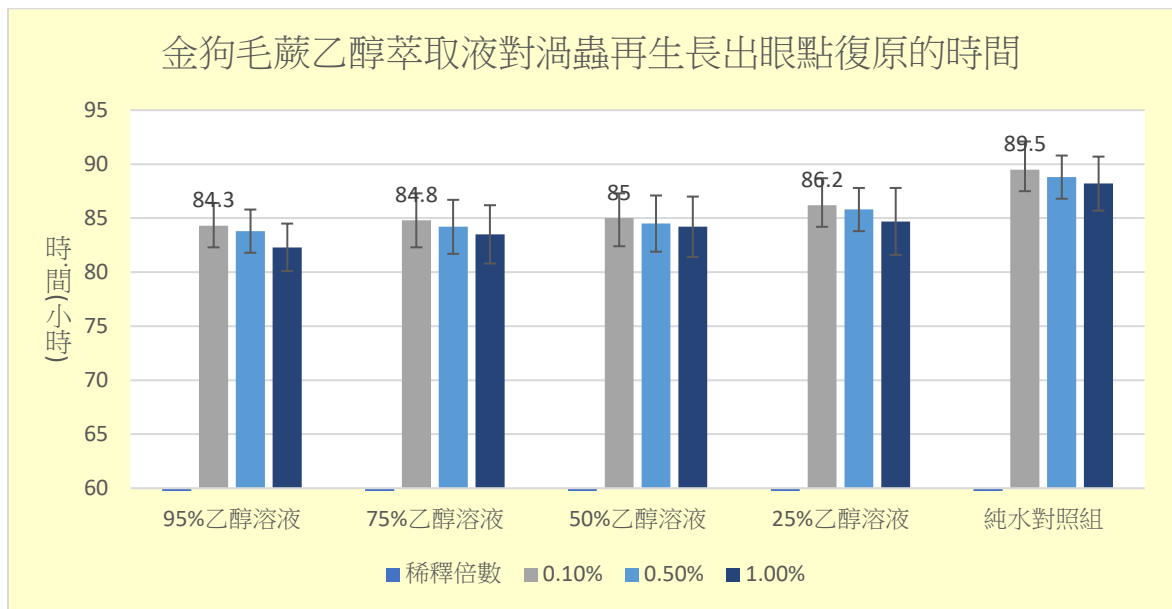
(二)渦蟲再生試驗：金狗毛蕨萃取液試驗組

金狗毛蕨萃取液對渦蟲尾段再生長出眼點復原的時間							
95%乙醇金狗毛蕨液組				75%乙醇金狗毛蕨液組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	12 隻平均	84.3	2.1	0.1%	12 隻平均	84.8	2.5
0.5%	12 隻平均	83.8	2.0	0.5%	12 隻平均	84.2	2.5
1.0%	12 隻平均	82.3	2.2	1.0%	12 隻平均	83.5	2.7
50%乙醇金狗毛蕨液組				25%乙醇金狗毛蕨液組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	12 隻平均	85.0	2.3	0.1%	12 隻平均	86.2	2.5
0.5%	12 隻平均	84.5	2.6	0.5%	12 隻平均	85.8	2.0
1.0%	12 隻平均	84.2	2.8	1.0%	12 隻平均	84.7	3.1

純水金狗毛蕨液組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	12 隻平均	89.5	2.6
0.5%	12 隻平均	88.8	2.0
1.0%	12 隻平均	88.2	2.5

金狗毛蕨萃取液對渦蟲尾段再生長出眼點復原的時間							
99%甲醇金狗毛蕨液組				75%甲醇金狗毛蕨液組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	12 隻平均	83.2	2.2	0.1%	12 隻平均	84.8	2.6
0.5%	12 隻平均	82.8	2.2	0.5%	12 隻平均	84.2	2.6
1.0%	12 隻平均	82.2	1.8	1.0%	12 隻平均	82.8	2.8
50%甲醇金狗毛蕨液組				25%甲醇金狗毛蕨液組			
稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差	稀釋倍數	復原時間(小時)		標準差
0.1%	12 隻平均	86.2	2.8	0.1%	12 隻平均	87.5	2.7
0.5%	12 隻平均	85.5	2.8	0.5%	12 隻平均	86.5	2.6
1.0%	12 隻平均	85.0	2.6	1.0%	12 隻平均	86.2	3.0

此附表(十六)為金狗毛蕨萃取液對渦蟲尾段進行再生試驗長出眼點復原的時間



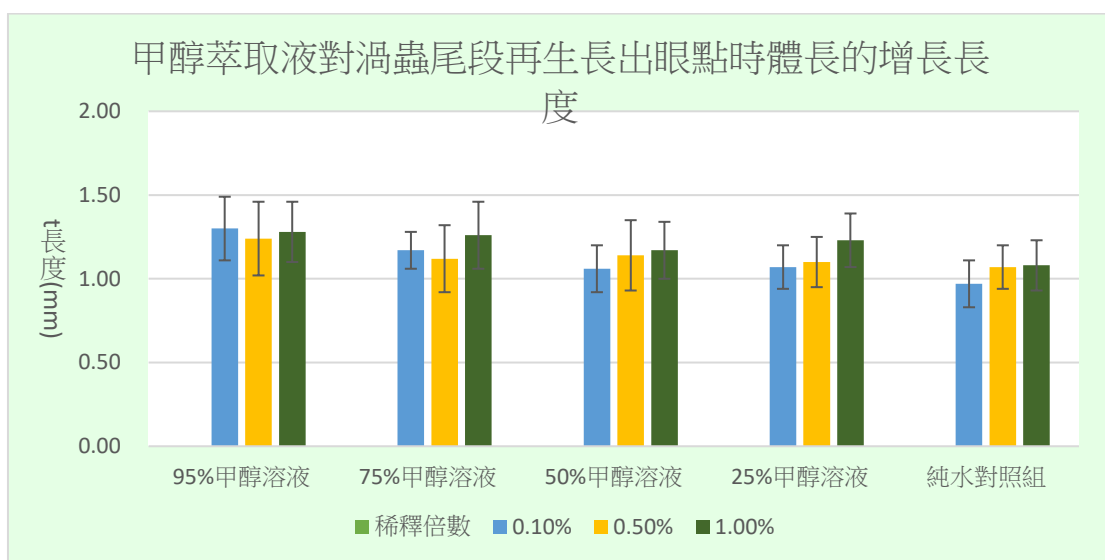
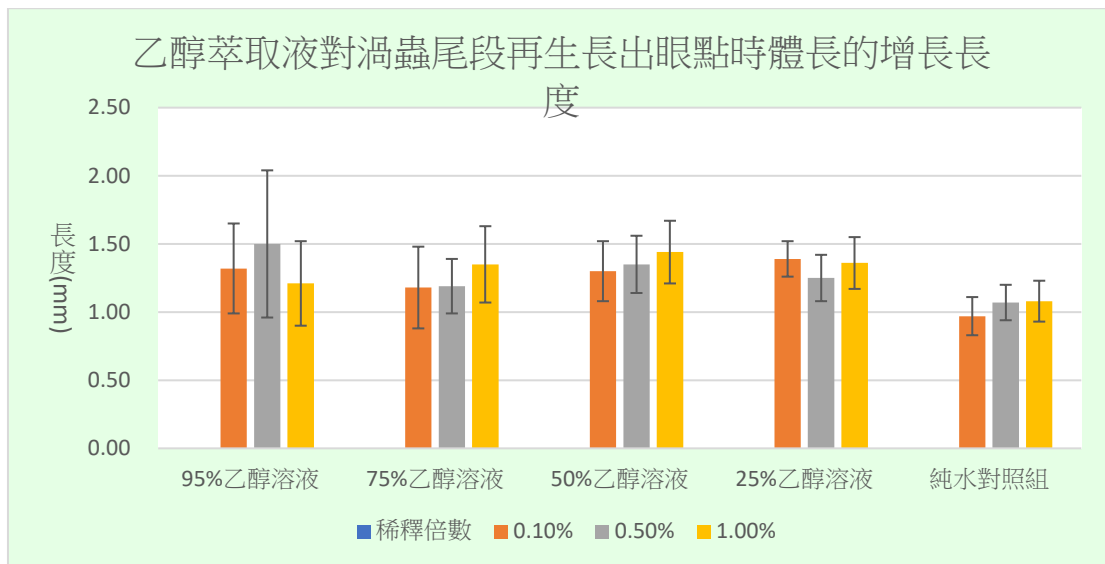
此附圖 (十四) 為金狗毛蕨萃取液實驗組渦蟲再生試驗尾段再生長出眼點復原之照片

(三)金狗毛蕨萃取液對渦蟲尾段再生長出眼點時體長的增長長度紀錄表

金狗毛蕨萃取液對渦蟲尾段再生長出眼點復原的時間					
95%乙醇金狗毛蕨液組			75%乙醇金狗毛蕨液組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	1.32	0.33	0.1%	1.18	0.30
0.5%	1.50	0.54	0.5%	1.19	0.20
1.0%	1.21	0.31	1.0%	1.35	0.28
50%乙醇金狗毛蕨液組			25%乙醇金狗毛蕨液組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	1.30	0.22	0.1%	1.39	0.13
0.5%	1.35	0.21	0.5%	1.25	0.17
1.0%	1.44	0.23	1.0%	1.36	0.19

純水金狗毛蕨液組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	0.97	0.14
0.5%	1.07	0.13
1.0%	1.08	0.15

99%甲醇金狗毛蕨液組			75%甲醇金狗毛蕨液組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	1.30	0.19	0.1%	1.17	0.11
0.5%	1.24	0.22	0.5%	1.12	0.20
1.0%	1.28	0.18	1.0%	1.26	0.20
50%甲醇金狗毛蕨液組			25%甲醇金狗毛蕨液組		
稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差	稀釋倍數	平均增長長度(mm)	標準差
0.1%	1.06	0.14	0.1%	1.07	0.13
0.5%	1.14	0.21	0.5%	1.10	0.15
1.0%	1.17	0.17	1.0%	1.23	0.16



小結：純水及各種濃度的金狗毛蕨萃取液做為試驗組，對渦蟲尾段再生長出眼點復原的時間，各種乙醇濃度的金狗毛蕨萃取液的再生復原的時間縮短 5.0 至 8.9 小時，各種甲醇濃度的金狗毛蕨萃取液的再生復原的時間縮短 3.7 至 9.0 小時，而純水的金狗毛蕨萃取液的再生復原的時間縮短最少在 1.5 至 3.0 小時；金狗毛蕨萃取液對對渦蟲尾段再生增長長度，與純水對照組相比再生增長可以增長 0.29 毫米到 0.82 毫米之間。

伍、討論

一、實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液

- (一) 金狗毛蕨萃取液中顏色最深的是使用純水加熱萃取的方式，顏色呈現褐色，相較於含水量較少的乙醇或甲醇萃取溶液為淺褐色；純水萃取因為有加熱的因素，使得水溶性的物質被萃取出更多，造成純水萃取液體的顏色最深。
- (二) 含有乙醇或甲醇的萃取溶液皆未加熱，只用浸泡方式萃取，含水量最低的 95%乙醇或 99%甲醇溶液及含水量較低的萃取溶液，萃取液體的顏色較淺為淡黃色，可能在醇類與

水能溶解出的物質不同，所以用醇類與用水萃取的溶液顏色完全不同。

(三) 總結來說，含水量越高的萃取溶液顏色越深，越接近褐色，含水量越低，顏色越淺。

二、實驗二：總酚類化合物含量分析

(一) 以 50%乙醇萃取的金狗毛蕨溶液，含有最高的總酚類化合物萃取量，參考相關的研究結果(張晏慈，2020)桑椹在 40%乙醇濃度下有最佳的總酚類萃取率，乙醇濃度過高或過低效率都不佳。

(二) 在 30°C~70°C的溫度下萃取沒有太大差異，另外萃取時間則是在 3 小時有較佳的總酚類萃取率，時間長或短萃取效率都較低。

(三) 如果以含水量較低的 50%乙醇溶液萃取金狗毛蕨，並延長萃取時間至 3 小時，推測應該會使總酚類化合物萃取量更高。

三、實驗三：總類黃酮類化合物含量分析

(一) 以含水量較高的 50%乙醇或純水溶液萃取，金狗毛蕨含有較高的總類黃酮類化合物萃取量，推測總類黃酮類化合物的水溶性較高。

(二) 參考相關的研究結果(張晏慈，2020)桑椹在含水量較高的乙醇溶液下萃取有較高的總類黃酮類萃取率，乙醇濃度越高效率降低。

(三) 若我們以含水量較高的醇類溶液萃取金狗毛蕨，並延長萃取時間至 3 小時，推測應該會使總類黃酮類化合物萃取量會更高。

四、實驗四：清除 DPPH 自由基能力之測定

(一) 本實驗藉由清除 DPPH 自由基的能力來判別金狗毛蕨的抗氧化力，DPPH 含有的自由基是非常穩定，用乙醇溶解後的顏色為藍紫色，在波長 517nm 具有很強的吸光值；假設某一種化合物會提供氫離子，並與 DPPH 做反應，溶液的顏色會從藍紫色轉變為黃色；顏色越淡代表著清除自由基的能力越強，即代表抗氧化能力越強。

(二) 由附圖中可知維生素 C 在 2000ppm 時的自由基清除能力為 75.8%，而達成 50%自由基清除能力的濃度大約在 300ppm。

(三) 以 95%乙醇的金狗毛蕨溶液在達成 50%的清除率效果時的原液含量約為 32%，代表原液濃度*32%等同 300ppm 維生素 C，推算原液濃度約等同於 937.5ppm。

(四) 以 50%乙醇的金狗毛蕨溶液在達成 50%的清除率效果時的原液含量約為 46%，代表原液濃度*46%等同 300ppm 維生素 C，推算原液濃度約等同於 652.2ppm。

(五) 以 99%甲醇萃取的金狗毛蕨溶液，可以用最少體積達成 50%的清除率效果，的原液含量約為 31%，代表原液濃度*31%等同 300ppm 維生素 C，推算原液濃度約等同於 967.7ppm。

(六) 以純水萃取的金狗毛蕨溶液，其 DPPH 自由基的清除能力是最差的，可能是水溶性的萃取物質其自由基的清除能力較低，或是水溶液中含有更多的妨礙清除自由基的物質，這可能還需要進一步試驗。

五、實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗

(一) 本實驗使用各種不同金狗毛蕨的萃取溶液，試驗萃取溶液中的活性物質，對於渦蟲傷口的再生是否有增進傷口癒合以及細胞再生的效果，但在初期試驗較高濃度(大於2%以上)的萃取液時，會造成渦蟲本體死亡，推測因為高濃度的酒精會對渦蟲造成刺激，進而促使渦蟲死亡。

(二) 在進行渦蟲試驗前所進行的前期試驗，將各種濃度的乙醇與甲醇萃取溶液試驗渦蟲對於萃取溶液的耐受性，由結果得知將各種濃度的乙醇與甲醇萃取溶液再稀釋 100 倍(1.0%)、200 倍(0.5%)與 1000 倍(0.1%)，對渦蟲再生無顯著影響，皆與不含醇類的水相似。

(三) 再生試驗主要觀察尾段長出眼點的時間點為準，藉由電腦連接解剖顯微鏡攝像鏡頭，用攝影軟體觀察並拍下照片記錄長出眼點的時間點並做成表格比較。

(四) 以解剖顯微鏡攝像鏡頭觀察渦蟲再生，可以不用每次都將渦蟲從飼養的小盒子中取出，減少觸碰渦蟲本體所造成的刺激與二次傷害，進而影響渦蟲再生；另外半透明的飼養小盒也能透過底下的格線進行測量體長。

(五) 渦蟲再生試驗主要觀察尾段的再生，經由觀察得知：渦蟲在被切割得當下傷口會緊縮顏色變深，頭段會奮力游動跑走，尾段會縮成一塊留在原地，在經過 2-4 小時尾段就能夠四處游動；在 24-48 小時後頭、尾段都會長出新的組織，顏色接近白色；最後尾段長出眼點是最容易判斷的時間點，但還不是完成再生的時間點，因為還未長出耳突的構造。

			
傷口會緊縮顏色變深	尾段會縮成一塊留在原地，頭段會奮力游動跑走	頭、尾段都會長出新的組織，顏色接近白色	尾段長出眼點，還未長出耳突的構造

(六) 金狗毛蕨萃取液稀釋成為濃度 0.1%、0.5%、1.0%的渦蟲再生試驗測試液，將渦蟲切成頭、尾兩段後浸泡再生測試液，再取出以清水飼養於在小盒子中觀察渦蟲尾段眼點再生時間與體長增長長度；觀察渦蟲再生試驗尾段長出眼點的數據得知，各種萃取液稀

釋後(0.1%、0.5%、1.0%)對渦蟲尾段眼點平均的再生時間縮短都比對照組為佳，各種乙醇濃度的金狗毛蕨萃取液的再生復原的時間縮短 5.0 至 8.9 小時，各種甲醇濃度的金狗毛蕨萃取液的再生復原的時間縮短 3.7 至 9.0 小時，而純水的金狗毛蕨萃取液的再生復原的時間縮短最少，只有 1.5 至 3.0 小時。

(七) 純水及各種濃度的金狗毛蕨萃取液對渦蟲尾段再生增長長度，各種乙醇濃度的金狗毛蕨萃取液的再生增長長度在 0.50 毫米至 0.82 毫米之間，各種甲醇濃度的金狗毛蕨萃取液的再生復原的再生增長長度在 0.38 毫米至 0.62 毫米之間，而純水的金狗毛蕨萃取液的再生復原的再生增長長度較低在 0.29 毫米至 0.40 毫米之間。

陸、結論

一、金狗毛蕨在 50%乙醇溶液萃取，含有最高的總酚類化合物萃取量，若萃取時間延長至 3 小時，會使總酚類化合物萃取量更高。

二、使用 50%乙醇或純水溶液萃取，含有較高的總類黃類化合物萃取量，若以含水量較高的乙醇溶液萃取，並延長萃取時間至 3 小時，會有較佳的總類黃酮類萃取率。

三、以 95%乙醇或 99%甲醇溶液萃取金狗毛蕨，在達成 50%的清除率效果時的原始液含量約為 32%與 31%，代表此時原液含量約等同 300ppm 維生素 C，推算原液濃度約等同於 937.5ppm 與 967.7ppm 的維生素 C，顯示此兩種的金狗毛蕨萃取液中的總化合物有極佳抗氧化能力。

四、將渦蟲放入半透明的小盒子飼養，並使用解剖顯微鏡攝像鏡頭觀察渦蟲再生，可以避免每次將渦蟲從小盒子中取出觀察，以及因為觸碰渦蟲本體所造成的刺激與二次傷害，進而影響渦蟲再生；而且能夠透過底下的格線進行體長的測量。

五、採用渦蟲尾段長出眼點的時間為再生試驗主要觀察重點，因為眼點是最容易觀察與判斷的時間點，但此時還未完成再生，因為還未長出完整渦蟲的耳突的構造。

六、各種金狗毛蕨萃取液稀釋成為濃度 0.1%、0.5%、1.0%的渦蟲再生試驗測試液，平均再生時間都比對照組為佳，其中以 95%乙醇萃取液以及 99%甲醇萃取液的渦蟲再生效果最好，分別縮短再生時間 7.7 小時與 8.5 小時；而純水萃取液的渦蟲再生效果最差，縮短再生時間為 2.4 小時，幾乎與前期試驗清水對照組的渦蟲再生增長相當。

未來展望

1. 【萃取得物成分分析】：進一步對金狗毛蕨萃取得物的成分進行分析，確認其主要活性成分。了解哪些特定的化學成分是對渦蟲傷口再生有影響的關鍵成分。

2. 【機制研究】：進一步探討金狗毛蕨萃取物如何影響渦蟲傷口的再生過程，了解其作用的生物機制，以及是否具有開發為新型傷口治療藥物的可能。
3. 【應用其他模型生物】：考慮將此研究擴展到其他模型生物，如線蟲、斑馬魚等，觀察金狗毛蕨萃取物是否也對其他生物的傷口再生有所幫助。
4. 【臨床試驗】：在進行足夠的基礎研究和動物模型驗證後，可以考慮進行初步的臨床試驗，探討金狗毛蕨萃取物在人體傷口治療上的可能效果和安全性。

柒、參考文獻資料

- 一、鍾佩軒(2003)。渦蟲生態初探。第三屆旺宏科學獎 成果報告書。Planaria Regeneration Activity。Howard Hughes Medical Institute 2006 Holiday Lectures On Science。2022/09/22 取自：
https://media.hhmi.org/biointeractive/activities/planaria/planaria_regen_activity.pdf
- 二、Yunn Wen Henga , Jun Jie Bana , Kong Soo Khoob , Nam Weng Sit (2020)。Biological activities and phytochemical content of the rhizome hairs of Cibotium barometz (Cibotiaceae)。2022/09/25 取自↳<https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112612>
- 三、Olivia Lazorik (2019)。The effect of caffeine on the regeneration of Brown Planaria (*Dugesia tigrina*)。Journal of Emerging Investigators • emerginginvestigators. 10/5/ 2019。VOL 2-4。
- 四、A Aziz Aboobaker (2011)。Planarian stem cells; a simple paradigm for regeneration。09/25 自
↳<https://sci-hub.se/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0962892411000158>
- 五、陳良宇（2012）。鹼催化對Folin-Ciocalteu 試劑檢測總多酚含量的影響。銘傳大學健康科技學院生物科技學系。↳
- 六、張晏慈（2020.7）。桑椹類黃酮和總酚類化合物最適化萃取及其抗氧化特性分析。化學工程與材料科技系。
- 七、Claire G. Stevenson , Wendy Scott Beane(2010)。A Low Percent Ethanol Method for Immobilizing Planarians。2022/10/31 取自
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3001876/>
- 八、沈馨仙,郭旻奇,張思平,鍾佳玲(2010)。抗氧化劑及常見之抗氧化活性評估方法。藥學雜誌。2022/10/31 取自↳<https://www.taiwan-pharma.org.tw/magazine/103/132-137.pdf>
- 九、Yunn Wen Heng a, Jun Jie Ban a, Kong Soo Khoo b, Nam Weng Sit(2020)。Biological activities and phytochemical content of the rhizome hairs of Cibotium barometz (Cibotiaceae) 取自
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669020305288>

【評語】 032909

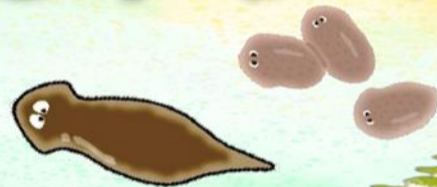
該研究基於對金狗毛蕨自然治療力量的好奇心，探討其對渦蟲傷口再生的影響，研究蒐集相關文獻，建立金狗毛蕨萃取技術、有效成分分析與渦蟲生長特性等背景知識，並依此建構實驗方法與參數設定。研究中測定總酚與總類黃酮，並討論抗氧化活性與傷口復原的關係，對分析結果進行三次獨立重覆測量，渦蟲實驗也作到 12 隻，注意到科學的客觀性，該研究對台灣中草藥的特性鑑定應有貢獻。唯實驗結果雖有劑量效應的趨勢，但要確認萃取物有比控制組(水)好的效應，仍需在老師的協助下進行統計的評估方能下結論，此外，渦蟲的再生能力強，本作品在部分限制營養的情形下有助於觀察與對照組有更強烈對比的結果。報告中的文獻回顧可將重要結果點出來，除分析方法外，可說明分析原理基礎，圖表需有對應圖說與表說，以明確圖表內容。

作品海報



探討金狗毛蕨之根莖茸毛萃取物

對渦蟲傷口再生之效果



摘要

本研究在探討台灣金狗毛蕨萃取物對於渦蟲傷口再生的影響，中醫認為金狗毛蕨具有抗菌效果，因此本研究同時分析了其根莖與茸毛中的醣類和酚類成分含量，並測試了其抗氧化能力。研究發現：

1. 50%乙醇萃取液，金狗毛蕨具有最高的總酚類化合物萃取量。
2. 其含有豐富的總類黃酮類化合物，特別是在50%乙醇或純水溶液萃取情況下。
3. 95%乙醇或99%甲醇萃取的金狗毛蕨溶液，顯示出極佳的抗氧化能力。萃取液在稀釋至0.1%後，對渦蟲傷口的再生效果特別顯著，尤其是95%乙醇與99%甲醇萃取液。
4. 渦蟲再生試驗主要觀察尾段長出眼點的時間，以95%乙醇萃取液以及99%甲醇萃取液的渦蟲再生效果最好，能夠明顯縮短眼點的再生時間。

壹、研究動機

一、研究動機

在一次登山活動中，一位長輩分享了他的經驗：在童年受傷時，利用金狗毛蕨的茸毛覆蓋傷口可迅速止血且傷口復原快速，這種神奇的自然治療力量引起了我的好奇心，並成為我進行這項實驗的動機，期望從科學角度解析金狗毛蕨的療效。

二、目的

- (一) 實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液
- (二) 實驗二：總酚類化合物含量分析
- (三) 實驗三：總類黃酮類化合物含量分析
- (四) 實驗四：清除DPPH自由基能力之測定
- (五) 實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗



三、文獻回顧(請參考科展說明書詳細內文)

包含國內文獻二篇：渦蟲生態初探、桑椹類黃酮和總酚類化合物最適化萃取及其抗氧化特性分析；國外文獻三篇包含：渦蟲再生活動、咖啡因對渦蟲再生影響與金狗毛蕨之根莖茸毛的生物活性和植物化學含量。

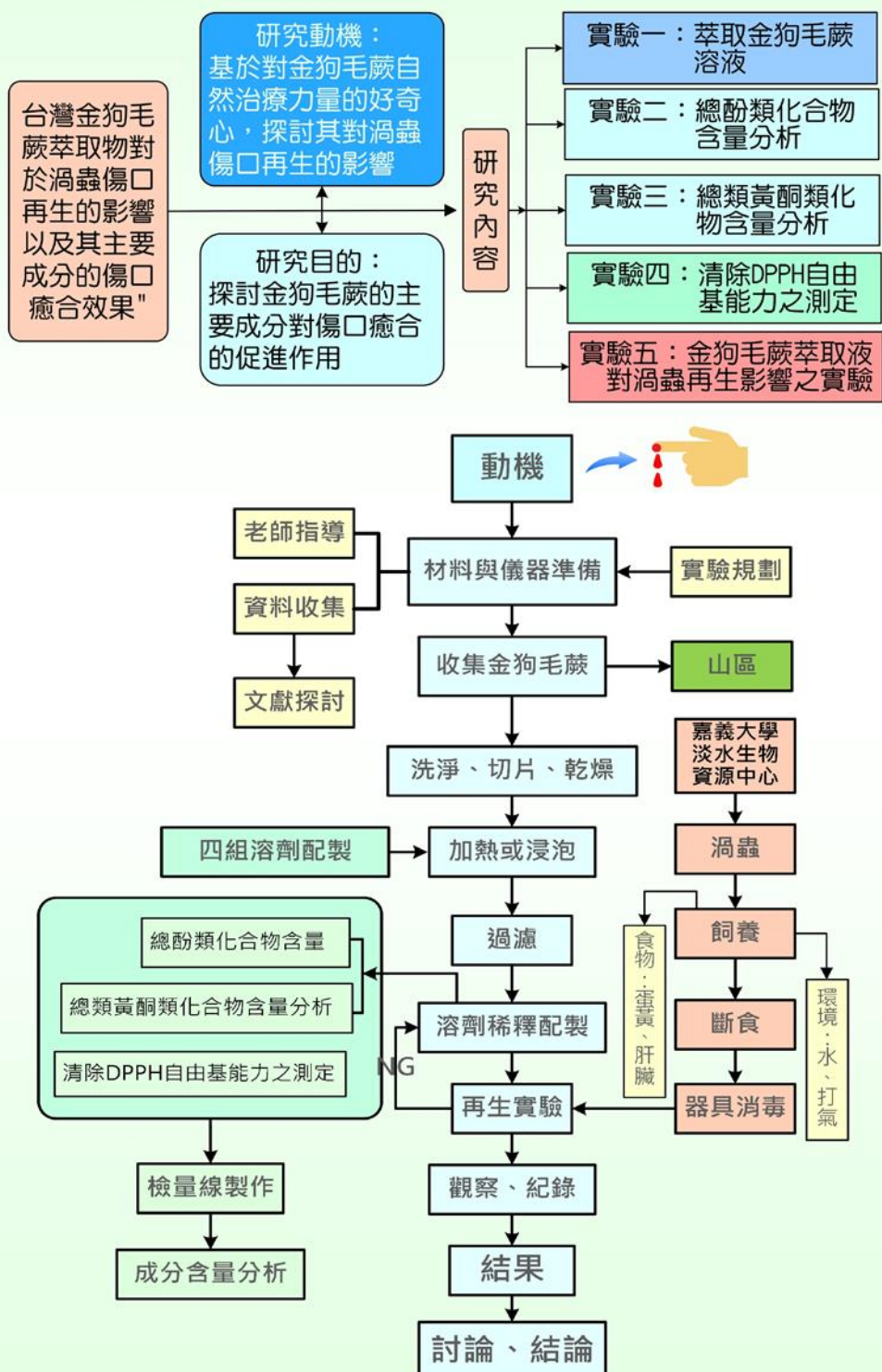
貳、研究設備及器材



(略，請參考科展說明書)

參、研究過程或方法

一、實驗架構及流程圖



二、實驗準備：

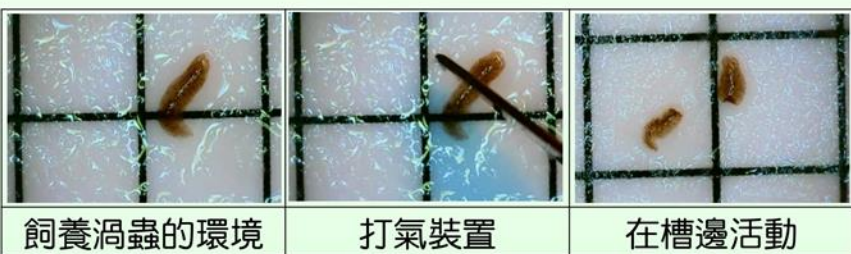
(一) 了解渦蟲的習性：

1. 知道渦蟲 (Planaria) 是生活在淡水中的扁形動物。喜好陰暗的環境，這是由於它們的眼睛對光線有感應。
2. 肉食性習性：主要以小型無脊椎動物為食，如昆蟲幼蟲和蠕蟲等。在實驗室中，接受其他食物，如肝、蛋黃。
3. 再生能力：當渦蟲的身體被切割成幾個部分時，每一個部分都能再生出一個新的渦蟲。



(二) 實驗注意事項：

1. 工具和技術：使用鋒利的工具，如手術刀，要確保工具在使用前後都被徹底地消毒，以避免感染。
2. 溫度和燈光：需要考慮切割後的渦蟲可能對環境變化更敏感，需要確保溫度穩定，並避免強光照射。
3. 紀錄與觀察：實驗過程中，需要定期記錄和觀察渦蟲的狀況，包括再生進程，眼點與行為變化等。

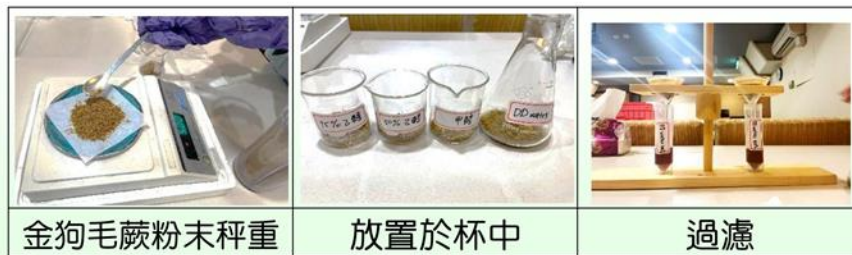


三、實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液

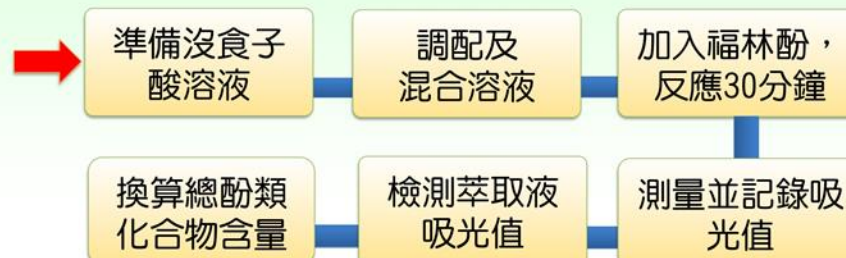
(一) 金狗毛蕨：



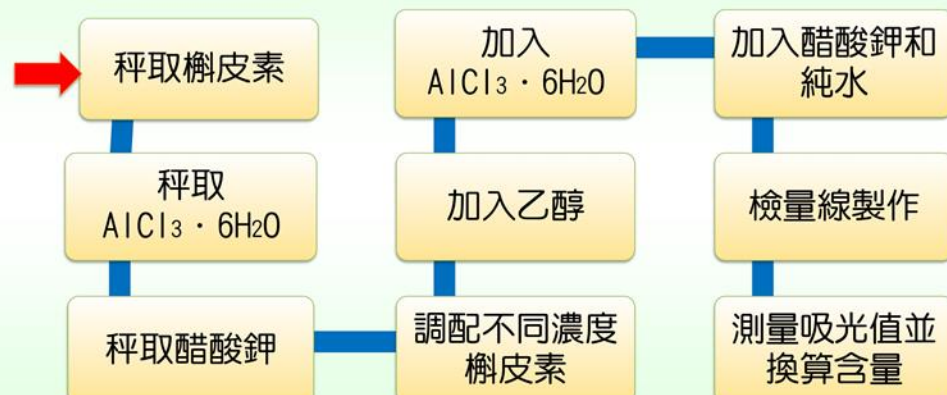
(二) 萃取液：



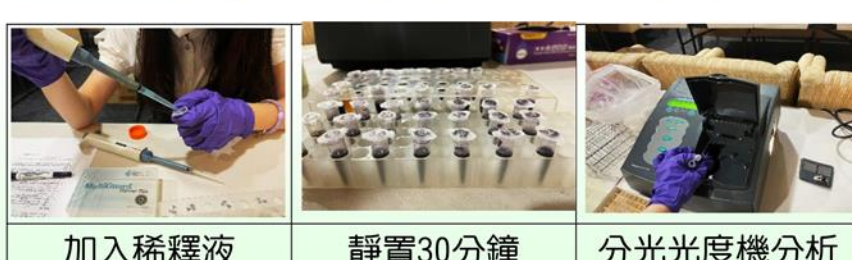
四、實驗二：總酚類化合物含量分析



五、實驗三：總類黃酮類化合物含量分析



六、實驗四：清除 DPPH 自由基能力之測定



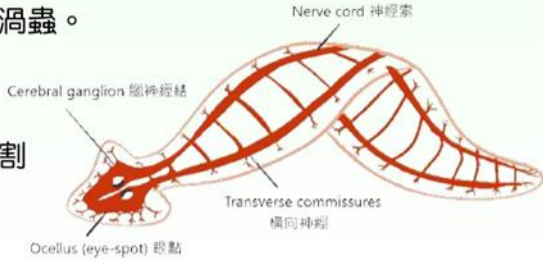
七、實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗



(一) 萃取液準備：將金狗毛蕨原始萃取液分別稀釋為1.0%、0.5%、和0.1%的溶液。

(二) 實驗物種的準備：用滴管將事先禁食五天的渦蟲轉移到無菌水潤濕濾紙上，每組需要12條渦蟲。

(三) 渦蟲切割：用已消毒的手術刀片在渦蟲身體的中間腰部位置進行橫向切割，形成兩部分。



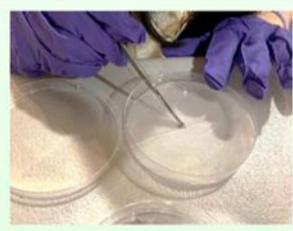
(四) 傷口閉合：利用鑷子將濾紙轉移到新的含無菌水的培養皿中，待約三分鐘以讓切割的傷口閉合。閉合狀態可以通過觀察傷口的變黑與壓縮來判斷。

(五) 浸泡實驗：將渦蟲用滴管轉移到待測的金狗毛蕨萃取液的小盒子中，使其完全浸泡。在室溫下(24°C)靜置15分鐘，同時蓋上鋁箔紙以避光。

(六) 清洗步驟：浸泡15分鐘後，利用滴管將待測萃取液全部吸光，然後加入清水以浸泡清洗渦蟲，此步驟重複三次。

(七) 後期飼養：清洗過後的渦蟲，使用新鮮的清水進行飼養，並保持在室溫下進行，期間不再進行餵食。

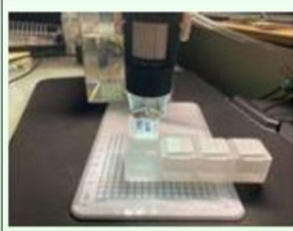
(八) 觀察與記錄：將小盒子上加上格線，然後用解剖顯微攝像鏡頭觀察渦蟲尾端傷口的復原情況以及新的眼點出現的時間，並進行拍照紀錄；每天進行一次觀察與記錄。



切割實驗



分割後

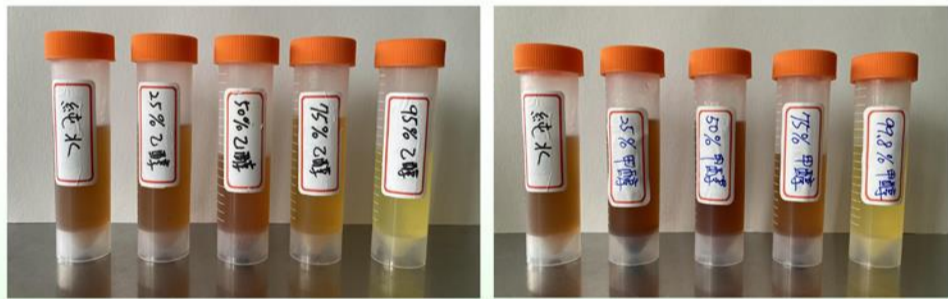


各組實驗

肆、研究結果

一、實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液

四種萃取液中顏色最深的是使用純水加熱萃取的方式，為褐色；而水分含量由高至低的萃取溶液，顏色由淺褐色到淺黃色。



小結：使用含有甲醇或乙醇溶液萃取，為避免因為加熱造成酒精揮發，使得酒精濃度變低而採取浸泡方式萃取，萃取溶液顏色為淡黃色。

二、實驗二：總酚類化合物含量分析



小結：經測量，以50%乙醇萃取的金狗毛蕨溶液，含有最高的總酚類化合物萃取量。

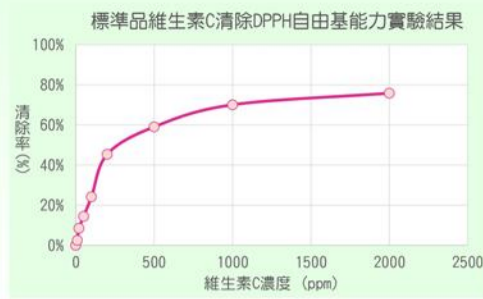
三、實驗三：總類黃酮類化合物含量分析



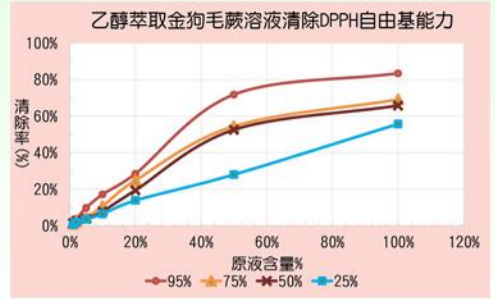
小結：經測量，以50%乙醇或純水萃取的金狗毛蕨溶液，含有較高的總類黃酮類化合物萃取量。

四、實驗四：清除DPPH自由基能力之測定

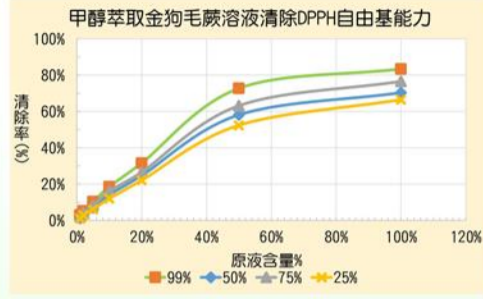
(一) 標準品維生素C清除DPPH自由基能力之實驗結果



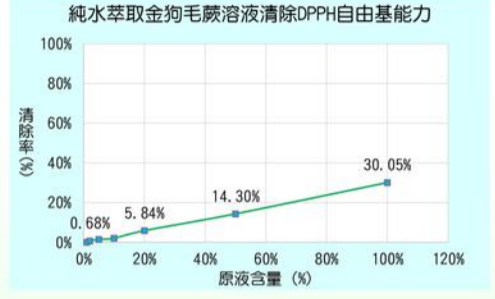
(二) 95%、75%、50%、25%乙醇萃取金狗毛蕨溶液清除DPPH自由基能力



(三) 99%、75%、50%、25%甲醇萃取金狗毛蕨溶液清除DPPH自由基能力



(四) 純水萃取金狗毛蕨溶液清除DPPH自由基能力之實驗結果



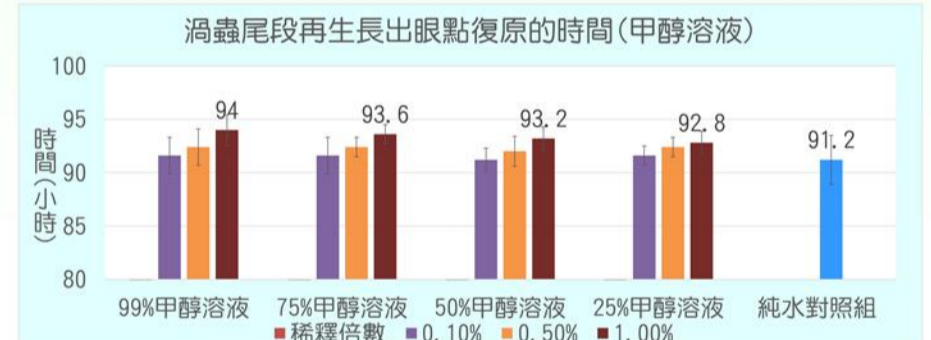
小結：

- 清除DPPH自由基能力之實驗結果，以清除率(%)圖示代表清除能力高低，原液含量(%)代表稀釋倍數，含量越高代表稀釋倍數越低，稀釋數越高表示能以越少的溶液達成相同的清除效果。
- 經測量，以95%乙醇或100%甲醇萃取的金狗毛蕨溶液，可以以較低的萃取液體積達成50%的自由基清除率效果。

五、實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗

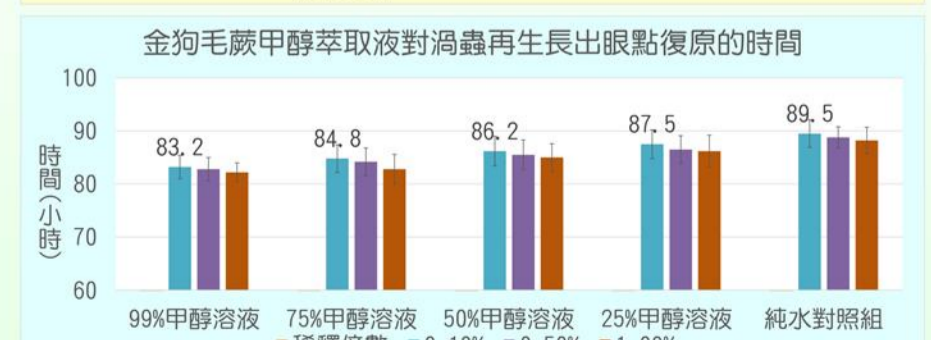
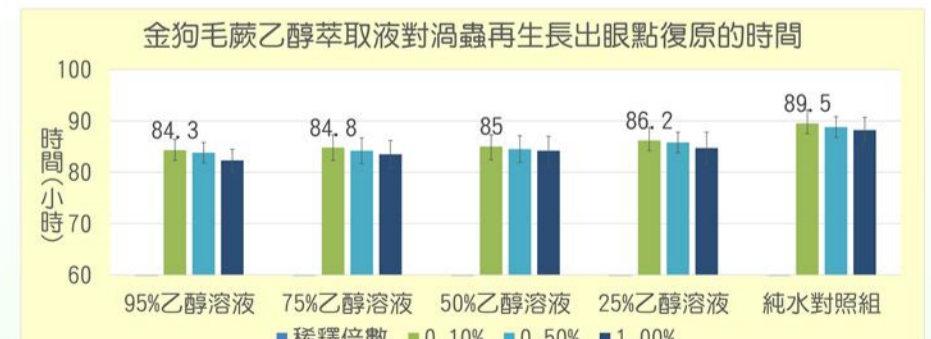
(一) 渦蟲再生試驗：空白對照組

時間	0小時	24小時	48小時	72小時	90小時
觀察	無眼點	眼點初現	眼點明顯	眼點清晰	眼點完全復原



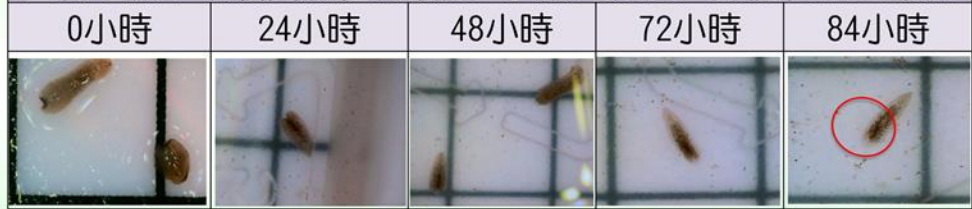
小結：在接近長出眼點的時間以每2小時間隔觀察記錄，眼點再生復原的時間約為92小時，其他各種濃度的萃取溶液的再生復原的時間也都在92小時前後，顯示萃取液在相同稀釋倍數下對渦蟲影響甚小。

(二) 渦蟲再生試驗：金狗毛蕨萃取液試驗組



小結：各濃度的萃取液均縮短渦蟲尾段再生眼點的復原時間，乙醇萃取液縮短5.0至8.9小時，甲醇萃取液縮短3.7至9.0小時，而純水萃取液縮短最少，僅1.5至3.0小時。此外，這些萃取液亦促進渦蟲尾段的再生增長，與純水對照組相比，增長長度可達0.29至0.82毫米。

金狗毛蕨萃取液實驗組渦蟲再生試驗尾段長出眼點復原之觀察



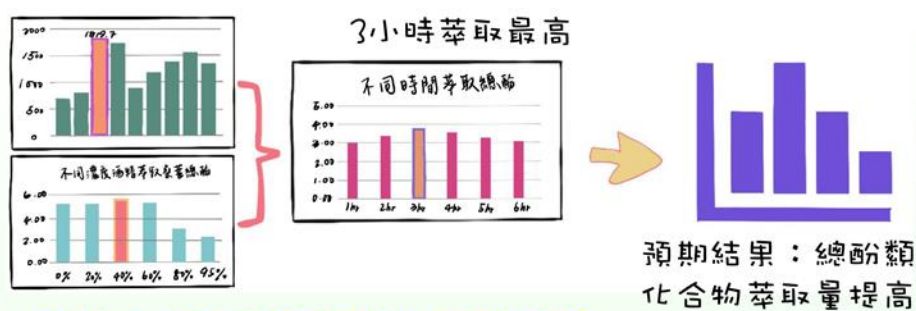
伍、討論

一、實驗一：萃取金狗毛蕨之溶液

- (一)水是極性很高的溶劑，能夠溶解許多極性化合物；純水熱萃取液呈深褐色，加熱導致更多物質被萃取出。
- (二)乙醇與甲醇具較低極性，其萃取液未加熱，色彩為淡黃色，因醇類與水溶解物質不同。
- (三)總結，含水量越高的萃取液，顏色越深，越褐，反之，顏色越淺。

二、實驗二：總酚類化合物含量分析

50%乙醇溶液在萃取金狗毛蕨時，能達到最高的總酚類化合物萃取量，此結果與桑椹在40%乙醇濃度下達到最佳酚類萃取率的研究相吻合(張晏慈, 2020)，顯示乙醇濃度過高或過低皆會影響萃取效率。再者，萃取溫度在30°C至70°C之間變化不大，而3小時是最佳的萃取時間。因此，以50%乙醇溶液萃取金狗毛蕨並將萃取時間延長至3小時，可預期將使總酚類化合物的萃取量提升。

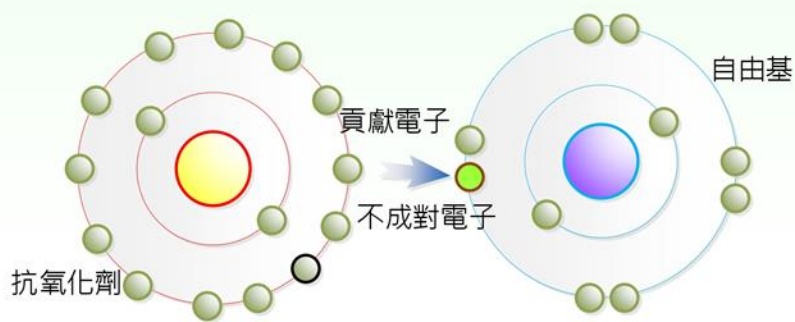


三、實驗三：總類黃酮類化合物含量分析

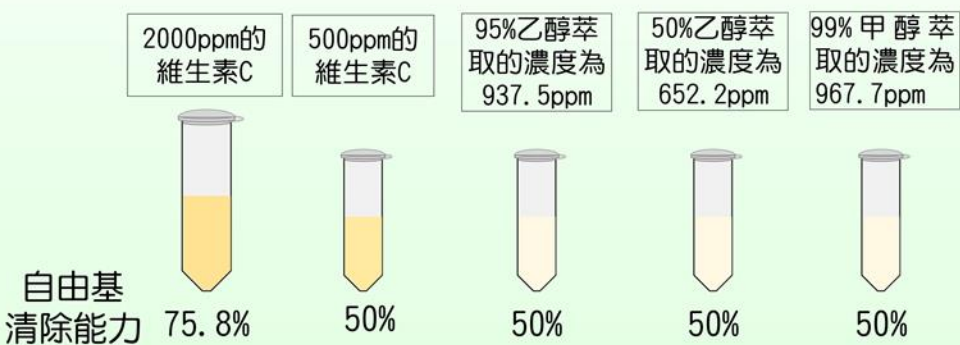
含水量較高的50%乙醇或純水溶液萃取，能使金狗毛蕨達到更高的總類黃酮類化合物萃取量，這可能源於總類黃酮類化合物的水溶性較高。此結果與桑椹在含水量較高的乙醇溶液下有較高總類黃酮類萃取率的研究結果一致(張晏慈, 2020)，而乙醇濃度過高則會降低萃取效率。因此，使用含水量較高的醇類溶液萃取金狗毛蕨且延長萃取時間至3小時，將有提升總類黃酮類化合物的萃取量。

四、實驗四：清除DPPH自由基能力之測定

- (一)本實驗藉由清除DPPH自由基的能力來判別金狗毛蕨的抗氧化力，DPPH含有的自由基是非常穩定，用乙醇溶解後的顏色為藍紫色，在波長517nm具有很強的吸光值；若某一種化合物會提供氫離子，並與DPPH做反應，溶液的顏色會從藍紫色轉變為黃色；顏色越淡代表著清除自由基的能力越強，表示抗氧化能力越強。



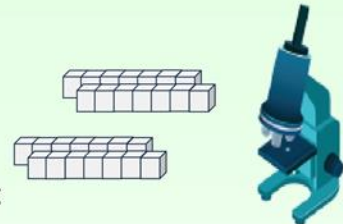
- (二)2000ppm的維生素C具有75.8%的自由基清除能力，並在約300ppm時達到50%的清除率；金狗毛蕨溶液在達到相同效果時，以95%乙醇萃取的濃度約為937.5ppm(32%原液含量)，50%乙醇萃取的濃度約為652.2ppm(46%原液含量)，99%甲醇萃取的濃度約為967.7ppm(31%原液含量)。純水萃取的清除能力最差，可能是由於水溶性物質的清除能力較低或含有更多妨礙自由基清除的物質，需要進一步研究。



五、實驗五：金狗毛蕨萃取液對渦蟲再生影響之實驗

- (一)試驗萃取溶液中的活性物質，在初期試驗以大於2%以上的萃取液時，會造成渦蟲死亡，推測因為高濃度的酒精所致。
- (二)前期耐受性試驗，由結果得知將各種濃度的乙醇與甲醇萃取溶液再稀釋100倍(1.0%)、200倍(0.5%)與1000倍(0.1%)，對渦蟲再生無顯著影響。

- (三)以解剖顯微鏡觀察渦蟲再生，以小盒子飼養不用取出；另外半透明的小盒可透過底下的格線測量體長。



- (四)渦蟲再生試驗主要觀察尾段的再生：

1. 被切割後傷口緊縮顏色變深，頭段會游動，尾段會縮留原地

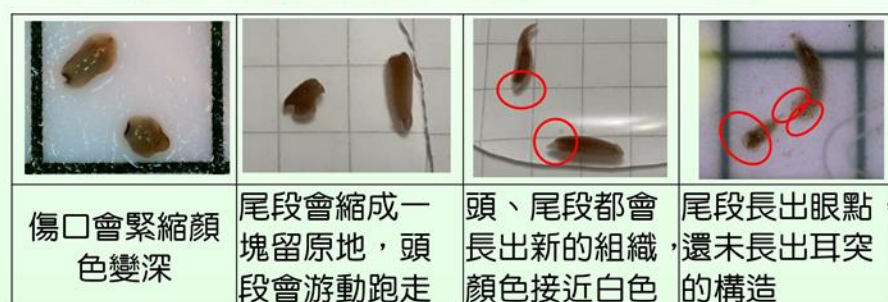
2. 經過2-4小時之後，尾段可凹處游動

3. 在24-48小時之後，頭、尾段長出白色奇傷新組織

4. 尾段長出眼點，此非完成再生的時間點，耳突還未長出

- (五)各乙醇與甲醇濃度的萃取液稀釋後(0.1%、0.5%、1.0%)能有效縮短渦蟲尾段眼點再生時間約3.7至9.0小時，相較於純水萃取液的縮短時間1.5至3.0小時，表現出更佳效果。

- (六)尾段再生長度：各乙醇濃度的萃取液效果最佳，增長長度在0.50~0.82毫米；次為甲醇萃取液，增長長度在0.38~0.62毫米；純水萃取液效果最小，增長0.29~0.40毫米。



傷口會緊縮顏色變深

尾段會縮成一塊留原地，頭段會游動跑走

頭、尾段都會長出新的組織，顏色接近白色

尾段長出眼點，還未長出耳突的構造

陸、結論

- 一. 金狗毛蕨在50%乙醇溶液萃取能獲得最高的總酚類化合物萃取量。使用50%乙醇或純水溶液萃取有較高的總類黃酮類化合物萃取量，含水量高且延長萃取時間能提升萃取率。
- 二. 95%乙醇或99%甲醇萃取的金狗毛蕨具有出色的抗氧化能力，其清除率效果等同於937.5ppm與967.7ppm的維生素C。
- 三. 解剖顯微鏡攝像鏡頭觀察渦蟲再生可以減少對渦蟲的傷害並進行精確的體長測量。眼點的出現是再生過程中重要且容易觀察的指標，此時渦蟲尚未完全再生。
- 四. 金狗毛蕨萃取液能加速渦蟲再生，以95%乙醇與99%甲醇萃取液效果最佳，分別縮短再生時間7.7小時與8.5小時；而純水萃取液效果相對較差與前清水對照組相當。

未來展望

- 一. 初步將進一步分析金狗毛蕨萃取物的成分，以確認影響渦蟲傷口再生的主要活性成分。
- 二. 其次，將深入研究金狗毛蕨萃取物如何影響渦蟲傷口再的生物機制，並探討其是否有開發為新型傷口治療藥物的潛力。
- 三. 考慮將研究擴大至其他模型生物，例如線蟲、斑馬魚等，以觀察金狗毛蕨萃取物對其傷口再生的影響。
- 四. 最後，在完成基礎研究和動物模型驗證後，進行臨床試驗，以探討金狗毛蕨萃取物對人體傷口治療的效果和安全性。

柒、參考文獻資料

- [1] 鍾佩軒(2003)。渦蟲生態初探。第三屆旺宏科學獎 成果報告書。
- [2] *Planaria Regeneration Activity*. Howard Hughes Medical Institute 2006 Holiday Lectures On Science. 2022/09/22 取自：https://media.hhmi.org/biointeractive/activities/planaria/planaria_regeneration_activity.pdf
- [3] Yunn Wen Henga, Jun Jie Bana, Kong Soo Khoob, Nam Weng Sit (2020)。Biological activities and phytochemical content of the rhizome hairs of *Cibotium barometz* (Cibotiaceae)。2022/09/25取自Sci-hub | Biological Activities and phytochemical content of the ... (n.d.). Retrieved March 13, 2023, from <https://sci-hub.se/10.1016/j.indcrop.2020.112612>
- [4] A Aziz Aboobaker (2011)。Planarian stem cells; a simple paradigm for regeneration。2022/09/25取自<https://sci-hub.se/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0962892411000158>
- [5] 張晏慈(2020.7)。桑椹類黃酮和總酚類化合物最適化萃取及其抗氧化特性分析。化學工程與材料科技系。