

# 2023 年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

## 普高組 成果報告表單

<b>題目名稱：光與葉真的天作之合？</b>
<b>一、摘要</b>
本研究以水蘊草作為研究材料，探究紫外線傷害水蘊草之後產生的葉綠素 a、葉綠體發育、總體抗氧化活性、G-POD 與 CAT 活性改變，同時在受到紫外線傷害的水蘊草中加入抗氧化的維他命 C，研究其對於水蘊草抗氧化活性的改變。研究最後提出葉片細胞膜上具有維他命 C 受器，會受到紫外線傷害的時候被啟動，然後引起第二訊息傳遞刺激細胞核產生抗氧化酵素，提高抗氧化活性。
<b>二、探究題目與動機</b>
我們在新聞上聽到人體的皮膚曝曬在過度的陽光底下或產生皮膚病變，尤其是南半球的臭氧層破洞，讓澳洲曝露在過多的紫外線下而產生皮膚癌的比例較高。而讓我們思考倒是植物的葉片具有蠟質和角質層可以隔絕紫外光的傷害，若是植物體的葉片缺乏蠟質或豐富的角質層，紫外線會不會造成植物體的傷害呢?於是我們進行以接下來的實驗。
<b>三、探究目的與假設</b>
本研究主要的目的聚焦在水蘊草在接受不同種類的紫外光照射後，其體內的葉綠素和抗氧化活性酵素的相對活性變化，其研究問題如下： <ol style="list-style-type: none"><li>1. 探究經過不同種類紫外光照射後的水溶液中含氧量變化為何?</li><li>2. 探究經過不同種類紫外光照射後的水蘊草葉片中的葉綠體發育狀況為何?</li><li>3. 探究經過不同種類紫外光照射後的水蘊草中葉綠素 a 的相對含量變化為何?</li><li>4. 探究經過不同種類紫外線照射後的水蘊草葉片內總體抗氧化活性改變?</li><li>5. 探究經過不同種類紫外線照射後的水蘊草葉片內 G-POD 酵素相對活性改變?</li><li>6. 探究經過不同種類紫外線照射後的水蘊草葉片內 CAT 酵素相對活性改變?</li><li>7. 探究維他命 C 對於水蘊草而言是否可防止紫外線傷害?</li></ol>
<b>四、探究方法與驗證步驟</b>
<b>一、研究流程</b> <ol style="list-style-type: none"><li>(1)設立對照組(RO 水)、RO 水+50ppmVitC、UVA/B、UVA/B+50ppmVitC、UVC、UVC+50ppmVitC 等六組各 1000mL，放入約等量的水蘊草數株。</li><li>(2)之後經過 48 小時和 96 小時之後分別取樣，測量水中的溶氧量、觀察葉綠體發育、測量葉綠素相對含量、抗氧化活性測量。</li></ol>
<b>二、葉綠素 a 測量</b> <p>取 5 公克不同處理的葉片加入 20mLRO 水磨碎後，取其過濾液以分光光度計測量葉綠素 a。葉綠素 a 的測量我們主要採測量 660nm 吸光度計的吸光度值做為相對量的指標。</p>
<b>三、抗氧化學活性測定</b> <ol style="list-style-type: none"><li>(1)總體抗氧化活性<ol style="list-style-type: none"><li>1. 總體抗氧化分析我們採碘液澱粉滴定法。</li><li>2. 將澱粉 1 公克加入 999 公克水中配成重量百分濃度 0.1%的澱粉水溶液。</li></ol></li></ol>

3. 將市售碘液稀釋 500 倍。
4. 取 5 克的水蘊草莖葉，加入 20mL RO 水研磨濾出過濾液，放入試管中。
5. 在試管中加入 10 滴 0.1%的澱粉液，使用震盪機搖晃均勻。
6. 然後以滴管吸取稀釋後的碘液加入一滴於試管中，搖晃均勻後若繼續保持澄清，則繼續加入一滴稀釋的碘液再搖晃試管直到試管內液體顏色變成藍黑色，記錄當時所使用的碘液滴數，做為總體抗氧化活性的指標。
7. 滴入稀釋過的碘液越多滴，則代表總體抗氧化活性越高。

#### (2)磷酸鉀緩衝溶液配置

1. 配置 150mM 中性(pH=7)的磷酸鉀緩衝溶液 1000mL。
2. 配置 1M 的磷酸二鉀(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)和 1M 的磷酸鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。
3. 取 1M 的磷酸二鉀(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)約 2mL+1M 的磷酸鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)約 1.2mL，加水至 1000mL。

#### (3)蛋白質萃取過程

1. 以電子秤取 5 克水蘊草莖葉。
2. 以液態氮將水蘊草莖葉瞬間凍成固態。
3. 使用研鉢將樣本磨碎成粉末。
4. 加入 20mL 的蛋白質萃取液(磷酸鉀緩衝溶液:EDTA=50:1)。
5. 放入離心管，以最大轉速離心 10 分鐘，取其上清液放入冰箱備用。

#### (4) G-POD 相對濃度測量

1. 在試管內加入 5mL 的磷酸鉀緩衝液，再加入 2.5mL 的蒸餾水與 1mL 的 2.5%愈創木酚。
2. 承上，在試管內加入 20μL 的蛋白質萃取液，混和均勻。
3. 之後在試管內加入 1mL 的 10mM 過氧化氫，混和均勻。
4. 之後快速將試管內的混和液體倒入比色管中，測量 470nm 波長第一分鐘後的吸光度值。
5. 吸光度值越大，表示其 G-POD 活性越高。

#### (5) CAT 相對濃度測量

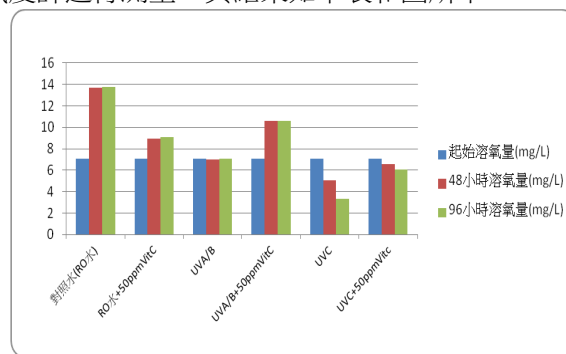
1. 取試管，在試管中加入 990μL 的 50mM 過氧化氫水溶液。
2. 加入 10μL 蛋白質萃取液，混和均勻。
3. 快速將混和均勻的液體倒入比色管中，以分光光度計測量 240nm 波長第一分鐘的吸光度值。
4. 吸光度其越大，表示其 CAT 活性越高。

## 五、結論與生活應用

### 壹、溶氧量比較

我們將不同組別處理的水蘊草燒杯，以溶氧度計進行測量，其結果如下表和圖所示：

	起始溶氧量(mg/L)	48 小時溶氧量(mg/L)	96 小時溶氧量(mg/L)
對照水(RO 水)	7.08	13.72	13.78
RO 水+50ppmVitC	7.08	8.92	9.11
UVA/B	7.08	7.01	7.05
UVA/B+50ppmVitC	7.08	10.58	10.62
UVC	7.08	5.08	3.3

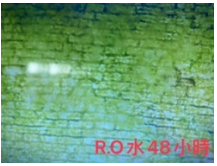
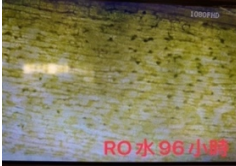




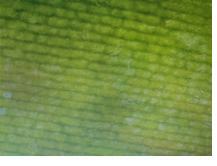


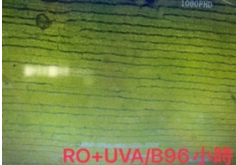




UVC+50ppmVitc	7.08	6.54	6.06
---------------	------	------	------

## 貳、葉綠體發育比較

此段分析中，以各組 48 小時和 96 小時的葉片中的顯微鏡攝影做為比較(放大倍率 200 倍)。

各組 48 小時和 96 小時的葉片顯微攝影比較

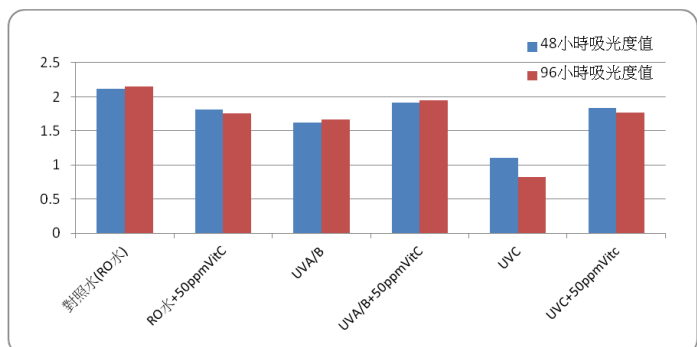
時間 組別	48 小時	96 小時	時間 組別	48 小時	96 小時
對照水 (RO 水)			UVA/B+ 50ppmVitC		
RO 水 +50ppm VitC			UVC		
UVA/B			UVC+ 50ppmVitc		

由上述比較表格可以發現經過紫外線傷害的水蘊草葉片在 48 小時與 96 小時，其葉綠體都有增生和濃綠的現象，而同時添加維他命 C 的紫外線組，葉綠體增生的狀況相較起來較不明顯。那我們分析到這邊產生一個疑問？葉綠體越多不是應該會產生更多的氧氣嗎？可是在上一段的分析中，除了對照組之外，其餘的溶氧量都下降，是否代表葉綠體雖然增生濃綠，可是其內的葉綠素卻是降低呢？請看下一段分析。

## 參、葉綠素 a 相對量比較

此段分析我們取 5 公克的不同處理葉片加入 20mL 的水，磨碎之後取過濾液，加入比色管中，以分光光度計測量 660nm 波長處的吸光度值，其結果如下表和圖所示。

	48 小時吸光度值	96 小時吸光度值
對照水(RO水)	2.12	2.15
RO水+50ppmVitC	1.81	1.76
UVA/B	1.62	1.67
UVA/B+50ppmVitC	1.92	1.95
UVC	1.11	0.82
UVC+50ppmVitc	1.84	1.77



由以上圖表我們可以發現：

1. 對照組的葉綠素 a 含量最高。
2. UVC 傷害的葉片，其葉綠素 a 含量最低。
3. 對於有經過紫外線傷害的葉片而言，有添加維他命 C 的葉綠素皆較高。
4. 結果顯示添加維他命 a 可能可以維持葉綠素 a 的含量。
5. 我們發現葉綠素 a 的吸光度值相對大小與水中的溶氧量相關。

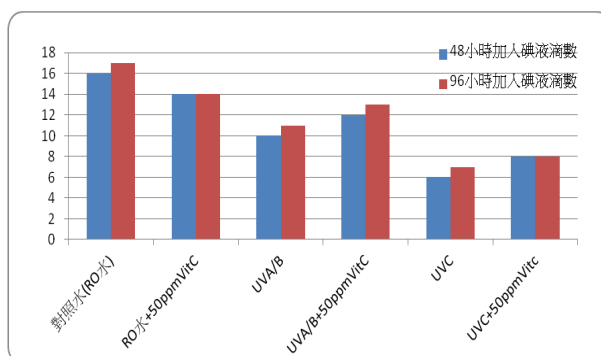
#### 肆、總體抗氧化活性比較

此段分析我們在葉片的過濾液中加入澱粉液，使用稀釋過的碘液滴入，若滴入的碘液滴數越多，則代表其總體抗氧化能力越高。

不同處理葉片之萃取液總體抗氧化活性表

組別	滴數	48 小時 加入碘液滴數	96 小時 加入碘液滴數
對照水(RO 水)		16	17
RO 水+50ppmVitC		14	14
UVA/B		10	11
UVA/B+50ppmVitC		12	13
UVC		6	7
UVC+50ppmVitc		8	8

不同處理葉片之總體抗氧化活性比較圖



在此段的結果我們發現：

1. 總體抗氧化活性以對照組最高。
2. 經紫外線傷害的組別，總體抗氧化活性下降。尤其以 UVC 的總體抗氧化活性最低。
3. 經過紫外線傷害的組別，若有添加維他命 C，則會提高總體抗氧化活性。顯示維他命 C 可提高經紫外線傷害的總體抗氧化活性。

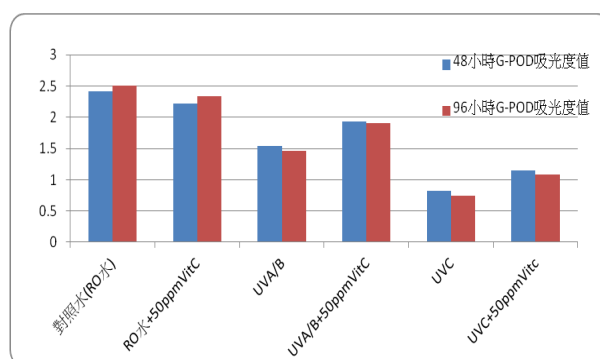
#### 伍、G-POD 相對活性比較

此段分析中，我們萃取出不同處理葉片的蛋白質，測量其 G-POD 於 470nm 波長第一分鐘後的吸光度值。其結果如下表與圖所示。

不同處理葉片之 G-POD 相對活性表

組別	吸光度值	48 小時 G-POD 吸 光度值	96 小時 G-POD 吸 光度值
對照水(RO 水)		2.42	2.51
RO 水+50ppmVitC		2.22	2.34
UVA/B		1.54	1.46
UVA/B+50ppmVitC		1.93	1.91
UVC		0.82	0.74
UVC+50ppmVitc		1.15	1.08

不同處理葉片之 G-POD 吸光度值



此段分析結果，我們發現：

1. G-POD 活性最高為對照組。

- G-POD 活性最低為照射 UVC 組別。
- 經過紫外線照射的組別其 G-POD 皆降低，顯示紫外光會造成 G-POD 下降。
- 經過紫外線照射的組別若有添加維他命 C，則會提高 G-POD 的活性。

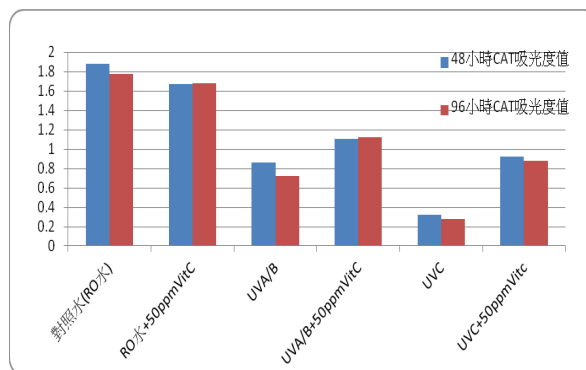
### 陸、CAT 相對活性比較

此段分析中，我們萃取出不同處理葉片的蛋白質，測量其 CAT 於 240nm 波長第一分鐘後的吸光度值。其結果如下表與圖所示。

不同處理葉片之 CAT 相對活性表

組別	吸光度值	48 小時 CAT 吸光度值	96 小時 CAT 吸光度值
對照水(RO 水)		1.88	1.78
RO 水+50ppmVitC		1.67	1.68
UVA/B		0.86	0.72
UVA/B+50ppmVitC		1.11	1.12
UVC		0.32	0.28
UVC+50ppmVitc		0.92	0.88

不同處理葉片之 CAT 吸光度值

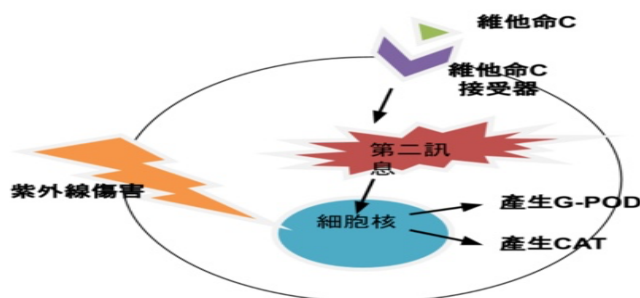


此段分析結果，我們發現：

- CAT 活性最高為對照組。
- CAT 活性最低為照射 UVC 組別。
- 經過紫外線照射的組別其 CAT 皆降低，顯示紫外光會造成 CAT 下降。
- 經過紫外線照射的組別若有添加維他命 C，則會提高 CAT 的活性。

### 柒、討論

- 受紫外線傷害的水蘊草，葉綠體產生濃綠現象，其葉綠素和光合作用是否會跟著增加？根據本研究結果，受到紫外線傷害的水蘊草葉片會產生葉綠體濃厚增生的現象，可是測出來的葉綠素 a 含量不高，且溶氧量也不大。
- 受到紫外線傷害的水蘊草，添加維他命 C 會提高其 G-POD、CAT 的可能機制為何？維他命 C 為水溶性物質，根據外在物質進入細胞的方式，我們推測可能機制如圖：



### 捌、結論

- 經過 48 小時、96 小時之後，以對照組的溶氧量最高。若比較紫外光傷害的組別，發現

UVA/B、UVC 皆會降低溶氧量，尤其以 UVC 下降最多。若比較紫外光傷害的組別，發現有添加維他命 C 的組別其溶氧量高過於沒有添加維他命 C 的同組。結果可能說明添加維他命 C 有助於協助水蘊草對抗紫外線的傷害。

2. 經過紫外線傷害的水蘊草葉片在 48 小時與 96 小時，其葉綠體都有增生和濃綠的現象，而同時添加維他命 C 的紫外線組，葉綠體增生的狀況相較起來較不明顯。
3. 對照組的葉綠素 a 含量最高。UVC 傷害的葉片，其葉綠素 a 含量最低。對於有經過紫外線傷害的葉片而言，有添加維他命 C 的葉綠素皆較高。結果顯示添加維他命 a 可能可以維持葉綠素 a 的含量。我們發現葉綠素 a 的吸光度值相對大小與水中的溶氧量相關。
4. 總體抗氧化活性以對照組最高。經過紫外線傷害的組別，其總體抗氧化活性下降。尤其以 UVC 的總體抗氧化活性最低。經過紫外線傷害的組別，若有添加維他命 C，則會提高總體抗氧化活性。顯示維他命 C 可提高經紫外線傷害的總體抗氧化活性。
5. G-POD 活性最高為對照組。G-POD 活性最低為照射 UVC 組別。經過紫外線照射的組別其 G-POD 皆降低，顯示紫外光會造成 G-POD 下降。經過紫外線照射的組別若有添加維他命 C，則會提高 G-POD 的活性。
6. CAT 活性最高為對照組。CAT 活性最低為照射 UVC 組別。經過紫外線照射的組別其 CAT 皆降低，顯示紫外光會造成 CAT 下降。經過紫外線照射的組別若有添加維他命 C，則會提高 CAT 的活性。
7. 我們推測細胞膜上有維他命 C 的受器，當細胞受到紫外線傷害的時候會啟動維他命 C 受器，啟動細胞內的第二訊息傳遞，促進細胞核產生抗氧化酵素，提高總體抗氧化活性。

#### 參考資料

- <https://www.hko.gov.hk/tc/education/weather/sunshine-and-uv/00127-harmful-and-beneficial-effects-of-uv-radiation.html>
- <https://baike.baidu.com/item/%E9%81%8E%E6%B0%A7%E5%8C%96%E7%89%A9%E9%85%B6/9921065>
- <http://cht.a-hospital.com/w/%E8%BF%87%E6%B0%A7%E5%8C%96%E6%B0%A2%E9%85%B6>
- <https://www.easyatm.com.tw/wiki/%E5%85%89%E5%90%88%E8%89%B2%E7%B4%A0>
- 巴洛克、王定澤、楊茜雯。粟之高禾—探討小米不為人知的耐鹽機密 (<https://www.ntsec.edu.tw/Science-Content.aspx?a=6822&fld=&key=&isd=1&icop=10&p=1&sid=13378>)
- 楊茜雯、巴洛克和陳奕婷(民 104 年)。養我育我的部落勇士—探討小米 (becenge) 的生存之秘。中華民國第 55 屆全國中小學科展國中組生物科。
- 蔡欣蓉、潘怡君、陳盈吉和鍾梅英(民國 105 年)。「重」「花」了喔!--探究花青素對於重金屬環境下的水生植物之抗氧化活性--。中華民國第 56 屆全國中小學科展國中組化學科。