

2022 年【全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

高中（職）組 成果報告表單

題目名稱：植物性溶菌酶對於大腸桿菌的抑菌效果

一、摘要：

現今人們生病後未正確使用抗生素療程，而引發一些副作用（如腸內正常菌失調），於是打算找尋替代抗生素的物質來抑制細菌的生長。在搜尋文獻後發現有一種天然無毒的酵素稱為溶菌酶（Lysozyme），可有效破壞細菌細胞壁中的乙醯胞壁酸和乙醯葡萄糖胺間的糖鍵，溶菌酶存在於眼淚、蛋清和一些植物（如：木瓜和鳳梨）。本實驗提取木瓜中的溶菌酶，比較植物性溶菌酶和蛋清溶菌酶對於大腸桿菌的抑菌效果。

二、探究題目與動機

為了改善抗生素所造成的副作用，我打算找尋可以代替抗生素的物質來去抑制細菌的生長。在搜尋資料中發現溶菌酶本身為一種天然且無毒的一種蛋白質酵素稱為溶菌酶（Lysozyme），可以有效的破壞細菌細胞壁中的肽聚糖層，防止細菌的生長。而溶菌酶的種類也分成了動物性溶菌酶跟植物性的溶菌酶，目前的溶菌酶來源主要從蛋清中進行提取的動物性溶菌酶。而植物性溶菌酶除了可以破壞肽聚糖層之外，對於幾丁質糖層也有破壞的效果。因此我決定提取植物性溶菌酶，來和蛋清（動物性）溶菌酶做比較，比較植物性溶菌酶和動物性溶菌酶對於大腸桿菌的抑菌效果。

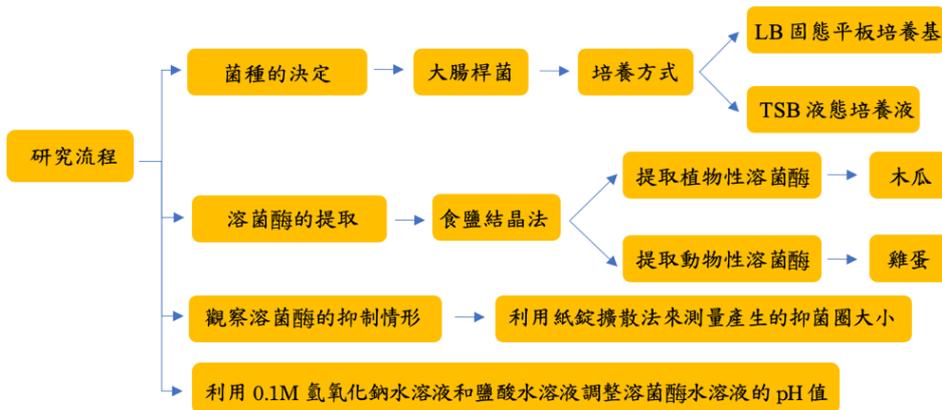
三、探究目的與假設

1. 比較植物性溶菌酶和蛋清溶菌酶對於大腸桿菌的抑菌效果。

溶菌酶本身為胞壁酸水解酶，可以破壞細菌的細胞壁。而植物性溶菌酶和動物性溶菌酶都可以有效的破壞細胞壁，因此我們推測兩者均能有效的破壞大腸桿菌的細胞壁，且抑菌效果也差不多。

四、探究方法與驗證步驟

研究流程：



本實驗利用 LB 培養基和 TSB 培養液來進行大腸桿菌的培養，並且使用鹽析法來提取溶菌酶。

木瓜溶菌酶的提取方式如下：

1. 將 300g 的木瓜切成小片狀之後放入果汁機，接著加入 300ml 的蒸餾水和少許冰塊。
2. 接著使用果汁機低速運轉每打一分鐘需休息三分鐘（重複三組）。
3. 接著將打完的木瓜汁移至燒杯當中，並且使用四層紗布過濾大型雜質（果肉纖維等）。
4. 將過濾完的木瓜汁放入兩管離心管中各 40ml，並且使用 RCF：1000xg 離心十分鐘。
5. 離心後取上清液倒至燒杯當中，並且冰浴至碎冰中五分鐘，使蛋白質維持活性。
6. 接著將冰浴完的木瓜汁取出 50ml，加入 0.1M 的碳酸鈉水溶液（ $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{aq})$ ）5ml。
7. 再來利用 0.1M 的氫氧化鈉水溶液（ $\text{NaOH}(\text{aq})$ ），使用 pH 儀將木瓜汁調至 pH 值為 9.0~10.5。
8. 接著將調完的木瓜汁用鋁箔紙封住開口，於 4°C 靜置一週，會析出結晶狀的溶菌酶。

（一） 蛋清溶菌酶的提取

1. 首先將雞蛋中的蛋白倒出，且至於燒杯當中。
2. 接著利用四層紗布過濾蛋清中的雜質。

3. 接著將蛋清液 5%重的氯化鈉磨成粉末，加入過濾完的蛋清中。
4. 再來利用 0.1M 的氫氧化鈉水溶液 ($\text{NaOH}_{(\text{aq})}$) 調整 pH 值至 9.5~10.5。
5. 最後使用鋁箔紙進行封口，置於 4°C 靜置一週，會析出結晶狀的溶菌酶。



圖一：pH 值為 9.62 (9.5 ± 0.20) 時所沈澱的木瓜溶菌酶

資料來源：研究者拍攝



圖二：pH 值為 9.84 時的蛋清溶菌酶沉澱

資料來源：研究者拍攝

在提取完木瓜溶菌酶和蛋清溶菌酶後，接著配置重量百分濃度為 5% 的溶菌酶水溶液，觀察對於大腸桿菌的抑菌效果。本實驗分別各用三組 plate，各組加入四個加了溶菌酶的紙錠。分別有木瓜 1A、木瓜 1B、木瓜 1C 和蛋清 1A、蛋清 1B、蛋清 1C 以及一組加了水的紙錠來進行抑菌測試。以下為加入溶菌酶水溶液 17 小時後，所產生的抑菌圈大小。



圖三：加入溶菌酶後 17 小時後的木瓜 1A 所產生的抑菌圈

資料來源：研究者拍攝

接著將各組所產生的抑菌圈製作成表格，以下表一為所統整出的數據

表一：統整出的抑菌圈大小

組別	產生的抑菌圈大小(mm)	組別	產生的抑菌圈大小 (mm)
木瓜溶菌酶 1A	10.5mm	蛋清溶菌酶 1A	10.0mm
	8.5mm		10.1mm
	8.0mm		10.1mm
	6.0mm		9.9mm
平均抑菌圈大小	8.25mm	平均抑菌圈大小	10.025mm
木瓜溶菌酶 1B	8.1mm	蛋清溶菌酶 2A	8.9mm
	8.1mm		8.0mm
	8.2mm		10.5mm
	7.0mm		8.5mm

平均抑菌圈大小	7.85mm	平均抑菌圈大小	8.975mm
木瓜溶菌酶 1C	6.5mm	蛋清溶菌酶 3A	7.9mm
	6.9mm		8.1mm
	6.9mm		7.8mm
	8.0mm		7.0mm
平均抑菌圈大小	7.075mm	平均抑菌圈大小	7.7mm
水	6.5mm		
	6.9mm		
	8.1mm		
	6.9mm		
平均抑菌圈大小	7.1mm		

討論：

本實驗調配了重量百分濃度為 0.05%的木瓜溶菌酶水溶液和蛋清溶菌酶水溶液，利用紙錠擴散法來觀察對於大腸桿菌的抑菌效果。觀察抑菌圈之後發現木瓜溶菌酶的三組中（1A、1B、1C），平均抑菌圈直徑為 8.25mm、7.85mm 和 7.075mm。而蛋清溶菌酶的三組（1A、1B、1C）的平均抑菌圈直徑為 10.025mm、8.975mm 和 7.7mm，而只加水的抑菌紙錠那組平均抑菌圈為 7.1mm。根據數據結果，得知蛋清溶菌酶相較於木瓜溶菌酶對於大腸桿菌有較佳的抑制效果。而根據汪文忠（2014），可知木瓜溶菌酶三組中的十二個抑菌圈中，只有一個是有輕度抑菌效果的。而蛋清溶菌酶三組中的十二個抑菌圈，則有四個是有輕度抑菌效果，且蛋清 1A 則平均抑菌圈是有達到輕度抑菌效果。

五、結論與生活應用

在本實驗中，加入溶菌酶的 17 小時後，觀察了溶菌酶所產生的抑菌圈大小。發現了蛋清溶

菌酶比木瓜溶菌酶對於大腸桿菌有較佳的抑菌效果，木瓜的三組中則有一個抑菌圈達到輕度抑菌效果。而蛋清的三組中則有四個抑菌圈達到輕度抑菌效果，且蛋清 1A 那組則有達到輕度抑菌效果。

本計畫主要想用於醫療方面藥物治療，目前溶菌酶通常都被用於食品工業中，作為防腐劑，延長保存食物。除此之外，目前溶菌酶也有作為口腔噴霧，來消炎消腫。但是溶菌酶本身的特性其實遠遠不止是這樣，溶菌酶除了無毒之外。溶菌酶本身也有良好的耐高溫及不易被破壞性，此外還可以維持活性。由於植物性溶菌酶除了可以分解胾聚糖層之外，對於幾丁質層也有破壞效果。所以認為植物性溶菌酶是有機會可以代替抗生素的，並且對於人體相較之下無害，希望能夠減緩抗生素與超級細菌彼此間的惡性循環。

參考資料

1. 汪蕙蘭 (2020) 。醫用微生物及免疫學第三版。新北市：新文京。
2. 李逢振 (2017) 。蛋殼殘留蛋清中溶菌酶高效提取技術的研究。取自：China Academic Journal Electronic Publishing House 農產品加工 2017 年 12 月第 12 期。
3. 朱德艷 (2009) 。用食鹽鹽析和離子交換法從雞蛋清中提取溶菌酶及其比較。取自：China Academic Journal Electronic Publishing House 食品發酵科技 2009 年第 45 卷第 3 期。
4. 車振明、萬國福 (2006) 。溶菌酶在食品工業中的應用，乳液科學與技術第六期。取自：<http://www.chnfood.cn/storage/upload/rykj/200606002.pdf>。
5. 林宏軒 (2018) 。細菌為什麼會有抗藥性？原來都是人類自找的。每日健康報導取自：<https://healthylives.tw/Art/細菌為什麼會有抗藥性？原來「超級細菌」都是人類自找的> | 每日健康 Health-3hryeaXVBrl.html 。