【2021 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：木瓜中的溶菌酶對於金黃色葡萄球菌的抑菌

一、摘要：

為了改善抗生素對人體所產生的副作用（腸道內正常菌失調），我們從天然的植物中萃取溶菌酶，觀察是否能夠有效的抑制細菌的生長。我們藉由自製的培養基來提供金黃色葡萄球菌的生長環境並萃取出木瓜的溶菌酶，每天隔 1 小時紀錄並拍攝，維持一星期後，比較每天溶菌酶對金黃色葡萄球菌是否有抑制的情況出現。

二、探究題目與動機

從報章及科學雜誌中，我們發現人們常在不對的時間服用抗生素或服用過量的抗生素，而導致抗生素對人體產生副作用（腸道的正常菌失調）。為了減少抗生素所造成的副作用，我們想要找尋可以抑菌細菌生長的天然物質。

在詢問老師並上網找資料，發現有些天然物質中（木瓜、無花果等植物）含有溶菌酶，可以抑制細菌生長的效果，進而減少人們不當使用抗生素而產生副作用的情況。因此我們就要來實驗看看到底溶菌酶是否真的能夠抑制細菌的生長，並觀察每天抑制細菌的情況。

三、探究目的與假設

1. 決定細菌物種。
2. 自製培養基供金黃色葡萄球菌生長。
3. 觀察從木瓜萃取的溶菌酶對金黃色葡萄球菌的抑制效果。

四、探究方法與驗證步驟

一、研究流程：

1. 萃取木瓜中的溶菌酶：

方法一：

（1） 將半顆木瓜切片放入果汁機，再加入$200ml$的蒸餾水（木瓜與水重量比 1：1）。

（2） 將榨完的木瓜汁取出放入燒杯，並使用紗布過濾。

（3） 將過濾完的濾液使用滴管取$10ml$加入是管，再將$2ml$的丙酮加入試管，此時試管上方析出和丙酮不互溶的蛋白酶。

（4） 將取出的蛋白酶放入微量離心試管中，再加蒸餾水至$1.5ml$。

（5） 放入小型離心機中，以$10000rmp$的轉速，$5200 \times g$ 的離心力來離心10分鐘去分離溶菌酶。

（6） 將萃取出的溶菌酶儲存至6℃的培養箱中，來維持溶菌酶的活性。

方法二：

（1） 將木瓜榨成汁，取出$200ml$後放入燒杯。

（2） 將木瓜汁過濾後，加入硫酸銨$30g$至燒杯中。

（3） 加入5％氫氧化鈉水溶液至燒杯中。

（4） 將燒杯以$10000rmp$的轉速，$5200 \times g$的離心力去離心10分鐘。

（5） 將離心後的溶菌酶存放於6℃的培養箱中維持溶菌酶的活性。

2. 製作金黃色葡萄球菌培養基：

（1） 先將$4g$的硫酸銨($(NH_4)_2SO_4$)及$100ml$的水倒入錐形瓶中。

（2） 將錐形瓶用鋁箔紙封住開口，以121℃的高溫下殺菌 30 分鐘。

（3） 加入$0.1g$的醋酸鈉進入錐形瓶中。

（4） 使用微量吸管取 2ml 的C_2H_5OH加入錐形瓶內，將製作培養基溶液倒入培養皿中，並用UV燈管照培養皿使其培養基凝固。

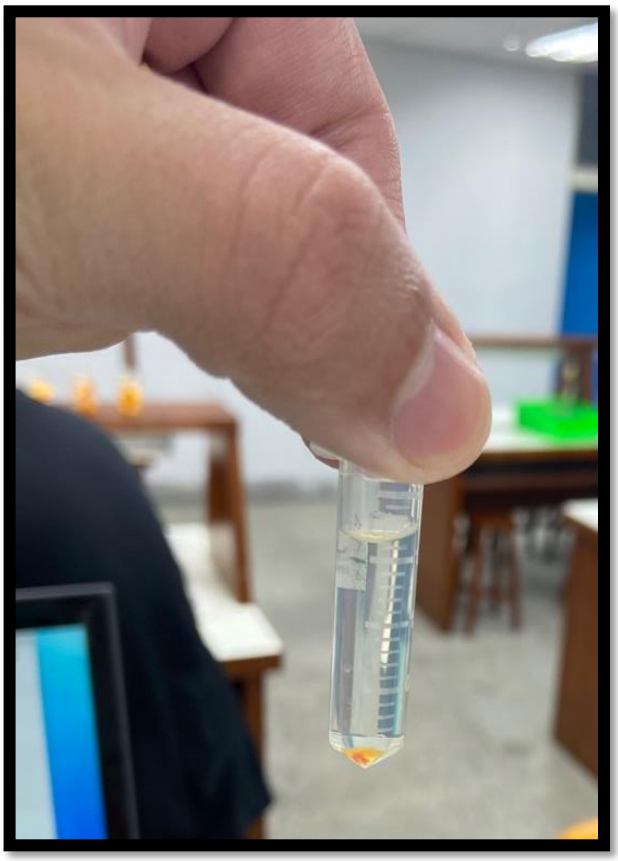
（5） 等待兩天確定無汙染後，使用棉棒從鼻腔中取得細菌並放入培養基中。

（6） 觀察一週後，將培養基中的金黃色葡萄球菌篩選出來並移至新的培養基保存。

二、 研究結果：

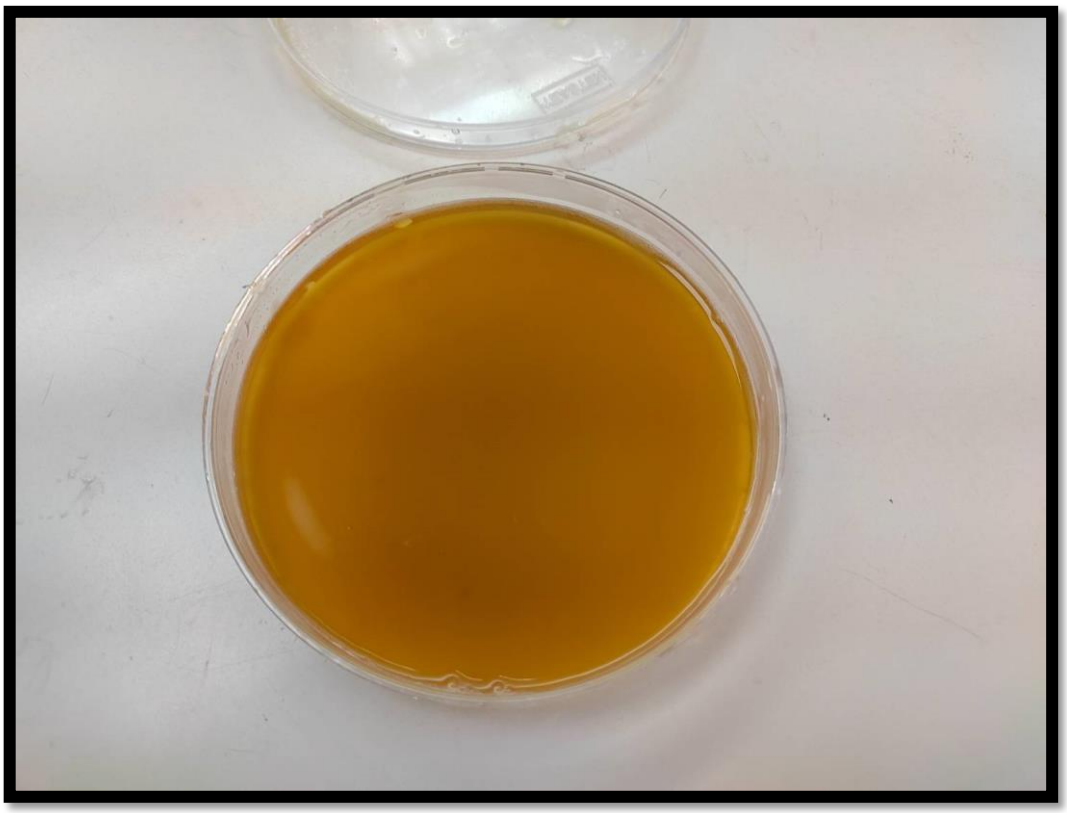
根據我們方法一的實驗步驟，我們利用和蛋白酶不互溶的丙酮分離出蛋白酶，並根據蛋白酶和榮俊沒的密度與重量不同，使用高速離心機成功將木瓜的溶菌酶萃取出來（如下圖一、圖二、圖三所示）。而我們方法二目前還在製作中，未能再本報告中展示。而會使用兩種方法來萃取木瓜中的溶菌酶是為了比較不同的萃取方式與抑制細菌的效果是否有差別。

圖（一）：分離出的蛋白酶（圖片來源：研究者拍攝）



圖（二）：溶菌酶水溶液及蛋白質沉澱（圖片來源：研究者拍攝）

再來我們一樣根據實驗步驟也成功地將培養基給製作出來（如下圖三），但由於時間因素，我們還未能夠培養金黃色葡萄球菌。而為何我們要培養金黃色葡萄球菌來當我們的細菌對象呢？原因是細菌的細胞壁中，革蘭氏陽性菌（肉毒桿菌，金黃色葡萄糖菌等）有60%是肽聚糖所形成的，而革蘭氏陰性菌（大腸桿菌，綠膿桿菌，克雷伯氏肺炎菌等）則佔10%以下。因此抗生素適用於對付革蘭氏陽性菌。知道了金黃色葡萄球菌所需的生長環境，因此本研究使用了生活中最常見金黃色葡萄球菌來當抑制的物種。



圖（三）：培養基完成圖（圖片來源：研究者拍攝）

由於我們還未能夠觀察到木瓜的溶菌酶對金黃色葡萄球菌的抑制效果，因此我們決定尋找先前他人製作的資料來幫助我們了解，我們從資料中了解到，溶菌酶可水解細菌中的肽聚醣，而肽聚醣中的乙醯鏈結則會經由溶菌酶水解，去達到阻止細菌中的肽聚醣的行成，抑制細菌的生長。而在去除掉細胞壁和酶的活性後，發現了對抑制G菌的能力有下降的現象將溶菌酶中的 Asn106 基因突變為 Arg106 後，發現對於細菌的抑制效果有比先前的結果更高，他們所推出的可能是，由於溶菌酶的活性端為在於溶菌酶的上面位置，而用其C端穿透，使其細菌壁中的肽聚醣遭到破壞，就可以使其內部的物質外洩，使其整個細菌體死亡，達到抑制細菌生長的目的。綜合上述，可推論出溶菌酶對於金黃色葡萄球菌具有抑菌的功能，且對革蘭氏陽性菌（金黃色葡萄球菌）比陰性菌的效果還要好很多（溫賽、劉懷然、續丹丹（2015））。

五、結論與生活應用

現在抗生素的使用不當，導致金黃色葡萄球菌一直變異，現今大多數的抗生素皆有副作用，使腸道的正常菌失調。在未來希望成功培養金黃色葡萄球菌，並且觀察木瓜對金黃色葡萄球菌的抑制效果，也想利用其他含有溶菌酶的植物水果，比較哪種植物水果能夠最有效的抑制金黃色葡萄球菌，減少大家因服用抗生素而產生副作用。

本研究能夠將其應用在醫療衛生的情況，因為溶菌酶可在體內的溫度維持活性。並且達到殺菌的效果，現在所使用的抗生素，因為是由細菌所提煉出來的。如果使用不當的話則會引起副作用，但如果是使用從天然物質中所萃取出來的溶菌酶，本身的副作用也不會較大，並且也是一種酵素，對於人體是好的酵素（吞噬細菌）。因此希望可應用在醫療上，彌補抗生素的缺點。

參考資料

1. Murray Rosenthal&Kobayyaski Pealler（2003）。Medical Microbiology，出版社：藝軒。
2. 口服抗生素（時間不詳）。香港：衛生署，2021 年 2 月 4 日，取自：https://www.drugoffice.gov.hk/eps/do/tc/consumer/news_informations/dm_09.html。
3. 王三郎（2017）。應用微生物學。出版社:藝軒。
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，2021 年 2 月 3 日取自：http://www.chnfood.cn/storage/upload/rykj/200606002.pdf。
5. 溫賽、劉懷然、續丹丹(2015)。溶菌酶及其分子改造研究進展，中國生物工程雜誌，2 月 5 日取自：http://html.rhhz.net/ZGSWGCZZ/html/20150817.htm。
6. 潘瑞熾（2006）。植物生理學。出版社：藝軒。