

# 2024 年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

## 普高組 成果報告表單

題目名稱：「氧」老之謎——穿心蓮與原兒茶酸的抗氧化能力之別

### 一、摘要

近年來，人口老化已成為全球面臨的重大挑戰。多項研究顯示，延緩老化與抗氧化密切相關。本研究從日常生活中的觀察出發，探討洛神花茶對蘋果汁氧化的影響。透過參考文獻，發現使洛神花茶具有抗氧化效果的成分為原兒茶酸，並進一步比較原兒茶酸（PCA）和穿心蓮（AND）在相同濃度下的抗氧化能力。我們藉由細胞培養培育 AML12 細胞，利用蛋白質電泳技術測量 HO-1 含量，並使用 RGB 色碼量化實驗結果，最後得出 AND 的抗氧化能力優於 PCA。在查詢文獻並分析後，我們從不同角度切入，探討可能導致兩項實驗結果差異的因素。期待未來能持續了解不同的植物萃取物，探索它們多樣的生物活性，從而提供未來開發有效治療藥物的線索。

### 二、探究題目與動機

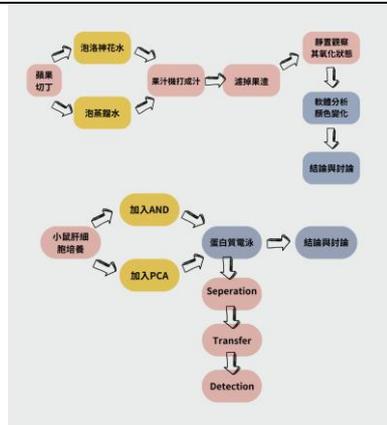
人口老化是全球面臨的一個重大挑戰，尤其是在許多已開發國家中。老年人口的增加不但增加了壯年人口的負擔，對醫療和保健系統、社會安全網和勞動力系統等方面都產生了不容忽視的壓力。雖然現今藥物無法停止人的老化，更是無法逆轉人口老化，但可以幫助緩解與老年人健康相關的問題。

因此，本研究從洛神花茶對蘋果氧化的影響下手，探討其中的抗氧化成分是否真的有助於延緩蘋果氧化，並更進一步將穿心蓮和原兒茶酸作為研究題材，探討與比較其抗氧化效果。

### 三、探究目的與假設

本實驗研究目的有三：一、探討添加洛神花茶對蘋果氧化狀態的影響，二、利用蛋白質電泳檢測穿心蓮（AND）與原兒茶酸（PCA）的 heme oxygenase-1（HO1）的含量，三、利用 RGB 色碼探討與比較穿心蓮（AND）與原兒茶酸（PCA）之抗氧化能力。

### 四、探究方法與驗證步驟



在此實驗中，我們將實驗內容分為兩個子實驗，其一為探討添加洛神花茶對蘋果氧化狀態的影響，其二為探討與比較原兒茶酸和穿心蓮之抗氧化能力。

一、探討添加洛神花茶對蘋果氧化狀態的影響

二、探討與比較原兒茶酸和穿心蓮之抗氧化能力

(一) 觀察本次實驗所需的細胞：AML12 (alpha mouse liver 12)

(二) 細胞計數數出來的細胞數除以數的格數，乘以稀釋倍數 (染劑) 再乘以十的四次方 (每毫升的細胞數)

(三) 細胞配置

(四) 加入藥物 - PCA/AND

(五) 蛋白質電泳——製作凝膠 (上下層膠差在下層膠的四甲基以二胺濃度較大)

(六) Separation

(七) Transfer

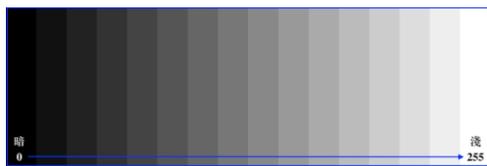
1. 順序為:正極、海綿、濾紙、膜、膠、濾紙、海綿、負極
2. 留下想要看的片段 Actin 組 (分子量 42kDA) /HO-1 組 (分子量 32kDA)

(八) Detection

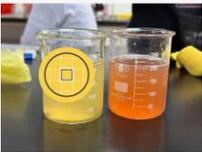
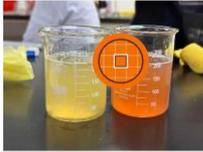
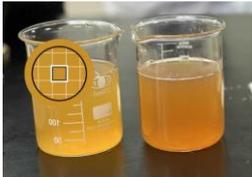
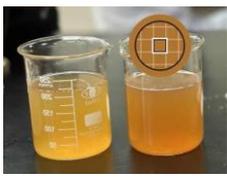
五、結論與生活應用

一、洛神花茶抗氧化能力測試

為了探討市面上常見的洛神花茶是否如所說的一般，有極好的抗氧化能力。我們將蘋果切丁後，分別加入洛神花茶或蒸餾水，取 5g 的蘋果丁並且分別加入 200ml 的蒸餾水和 200ml 的洛神花茶中，並將其打成果汁並靜置 10 分鐘，並且利用 RGB 色碼量化實驗結果，以下為數據結果及計算方式。RGB 色彩模式是一種用於電子顯示器上的色彩表示方式，當三種顏色的值都為 0 時，顯示的顏色為黑色；當三種顏色的值都為 255 時，顯示的顏色為白色。由下列數據可知，顏色愈淺，其 RGB 數值總和越大，因此我們以靜制前和靜置後蘋果汁 RGB 總和之差為其氧化程度的評判標準。



圖三：色碼示意圖 (圖源：Color Presentation 介紹 (RGB, LAB, HSV). (n.d.). Cupoy.

實驗與對照組	蒸餾水蘋果汁 ( 靜置前 )	洛神花茶蘋果汁 ( 靜置前 )
照片		
色碼	#f8d049	#f56d00
RGB 數值	(248, 208, 73)	(245, 109, 0)
RGB 數值和	$248+208+73=529$	$245+109+0=354$
實驗與對照組	蒸餾水蘋果汁 ( 靜置 10 分鐘 )	洛神花茶蘋果汁 ( 靜置 10 分鐘 )
照片		
色碼	#ca9128	#ae7532
RGB 數值	(202, 145, 40)	(174, 117, 50)
RGB 數值和	$202+145+40=387$	$174+117+50=341$

靜置前和後	142	13
RGB 總和之差		

圖四：靜置前後的蒸餾水蘋果汁和洛神花茶蘋果汁

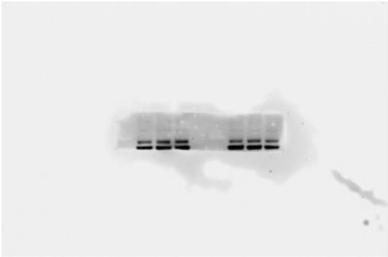
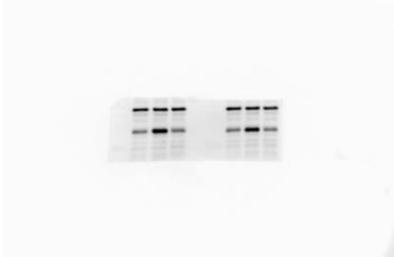
如先前所說，RGB 數值總和愈高，代表其顏色越深，而從以上數據來看，蒸餾水蘋果汁的顏色變化量比洛神花茶蘋果汁的顏色變化量高出許多。因此，我們能夠推論，相較於蒸餾水，洛神花茶的抗氧化能力較佳。

## 二、穿心蓮 (AND) 與原兒茶酸 (PCA) 抗氧化能力之探究

在此實驗中，為了得知穿心蓮 (AND) 與原兒茶酸 (PCA) 抗氧化能力，我們將樣本細胞 (AML12) 加入 AND 與 PCA，並使用蛋白質電泳 (Western Blotting) 檢測 heme oxygenase-1 (HO-1)，在此實驗中，我們將以 heme oxygenase-1 (HO-1) 之含量代表抗氧化能力，並以 Actin 骨架蛋白作為細胞數目差距不大的證明。

我們在此採用西方點墨法 (Western Blotting) 作為鑑驗蛋白質的方法。Western blotting 為蛋白質分析的常規技術。由於抗體-抗原交互作用的特異性，實現在複雜的蛋白質混合物中識別目標蛋白並產生關於目標蛋白質的定性與半定量數據。

在以下圖片中，第一格放 control 組 10micro litter，第二格放 AND 組 10micro litter，第三格放 PCA 組 10micro litter，在經過多次實驗後，結果皆相同如下：

Actin 骨架蛋白	heme oxygenase-1 (HO-1)
 <p>圖八：骨架蛋白蛋白質電泳結果</p>	 <p>圖九：HO-1 蛋白質電泳結果</p>

在以上實驗結果中，透過 western blotting 的半定量特性，我們可以從三格 Actin 骨架蛋白之顏色深淺判讀不同類組的細胞含量並無顯著差異，並不影響實驗結果。而從圖片九可知，AND組和PCA組的顏色深淺有顯著的差異，並且根據 western blotting 的半定量特性，顏色越深，蛋白質量越多。不過受限於 western blotting 的半定量特性，我們無從量化此次實驗結果，為更精確並深入的探究其奧秘，我們利用 RGB 數值協助我們量化並比較

其差異。

### 三、穿心蓮 (AND) 與原兒茶酸 (PCA) 抗氧化能力探究之量化數值：

在上述實驗中，我們利用 Western Blotting 測定實驗解果，但因其特性，只能提供定性與半定量之數據。為了進一步比較穿心蓮 (AND) 與原兒茶酸 (PCA) 抗氧化能力，我們利用 RGB 數據進行定量。正如先前所敘述，顏色愈淺，其 RGB 數值總和越大，而依照蛋白質電泳的半定量特性，顏色越深，其含量越多，所以我們將以 RGB 數值總和為蛋白質含量多寡的評判標準。

以四次實驗數據之平均值 (四捨五入至整數位) 為 RGB 的取樣樣本，其結果如下：

	控制組	AND	PCA
Actin 骨架蛋白(1)	(0,0,0)	(0,0,0)	(0,0,0)
Actin 骨架蛋白(2)	(115,115,115)	(109, 109, 109)	(167, 167, 167)
heme oxygenase-1(1)	(0,0,0)	(0,0,0)	(0,0,0)
heme oxygenase-1(2)	(81, 81, 18)	(0,0,0)	(76, 76, 76)

綜觀上述實驗，在洛神花茶抗氧化能力測試中，我們以蒸餾水蘋果汁為對照組，洛神花茶蘋果汁為實驗組，並且導入 RGB 數值以量化實驗結果。在此實驗中，我們以實驗組和對照組 RGB 數值差做比較，因為洛神花茶蘋果汁的色差較小，所以我們推斷並量化了洛神花茶的抗氧化特性，此實驗也引起了我們對於洛神花茶的興趣，並進行穿心蓮 (AND) 與原兒茶酸 (PCA) 抗氧化能力之探究。在此實驗中，我們以蛋白質電泳的方式，成功證明無論是對照組、組還是 PCA 組，細胞中都含有有抗氧化能力的蛋白質，也就是 heme oxygenase-1 (HO-1)。不過透過 western blotting 的半定量特性，我們得知了 AND 組的蛋白質含量較高，且為了做更精確的定量，我們利用 RGB 數值對蛋白質電泳實驗進行定量。從以上數據來看，PCA 組之蛋白質含量和只加入蒸餾水的對照組在 heme oxygenase-1 (HO-1) 無顯著差別，且比不上 AND 組，也顯示 PCA 並無顯著的抗氧化功效。這導致兩者實驗結果並不相符，在洛神花茶抗氧化能力測試中，我們證明了洛神花茶含有抗氧化能力，但在穿心蓮 (AND) 與原兒茶酸(PCA)抗氧化能力之探究中，原兒茶酸 (PCA) 對 heme oxygenase-1 (HO-1) 含量的增加並無顯著效果。推測為抗氧化能力的蛋白質並非只有 heme oxygenase-1 (HO-1)，而其他的抗氧化蛋白質影響了實驗結果，不過這也是令我們更加好奇且想進一步探究的主題。

根據實驗數據，我們得出以下結論：

一、洛神花茶的抗氧化能力優於蒸餾水。我們透過 RGB 色碼量化實驗結果，發現洛神花茶蘋果汁的顏色變化量遠低於蒸餾水蘋果汁的顏色變化量。因此，我們能夠推論，相較於蒸餾水，洛神花茶擁有較佳的抗氧化能力。根據文獻探討，洛神花中的 PCA、AND 均顯示出抗氧化作用，因此我們選擇了這兩種成分來進行 heme oxygenase-1 (HO-1) 含量的檢測。

二、我們將樣本細胞 (AML12) 分別加入穿心蓮 (AND) 和原兒茶酸 (PCA)，並且成功地利用蛋白質電泳證明兩者皆含有 heme oxygenase-1 (HO-1)。雖然透過 Western Blotting 的半定量特性，我們得知了 AND 組的蛋白質含量較高，為了更精確的定量，我們利用 RGB 數值對蛋白質電泳實驗進行定量。

三、在相同濃度下，穿心蓮 (AND) 的抗氧化能力較原兒茶酸 (PCA) 佳。透過文獻資料，我們已知 AND 在 7.5micro mole 下的抗氧化效果最好，因此，我們利用 RGB 色碼比較 AND 與 PCA 的抗氧化能力。結果顯示，PCA 組的蛋白質含量和僅加入蒸餾水的對照組在 heme oxygenase-1 (HO-1) 含量無顯著差別，且不及 AND 組。因此，我們發現除 AND 外，PCA 與控制組對 heme oxygenase-1 (HO-1) 的含量增加並無顯著效果，推測 AND 抗氧化能力優於 PCA。

現今社會中，老化是多數人會遇到的現象，老化與氧化密不可分的聯繫，使我們注意到抗氧化的重要性。選擇植物萃取物像是 PCA 作為實驗對象，是因為 PCA 富含於日常生活的蔬菜水果中，就如同我們希望抗老化是簡單普遍的。研究結果讓我們了解 PCA 與 AND 的抗氧化能力，期望在未來能探索更多不同的植物萃取物，因為他們針對不同的分子靶點具有多種多樣的生物活性，因此，也期望能更深入研究其抗發炎、抗菌、抗病毒等作用，藉此提供未來開發出更有效治療的藥物的線索。

#### 參考資料

鍾富 李良東 黃志華 熊麗嬌 曾靖 (2010)。

穿心蓮內酯對大鼠心肌肥厚及抗氧化作用的影響。時針國醫國藥，1，226-227。

<https://reurl.cc/3eKe99>

韓伊涵 (2011)。

原兒茶酸抑制紫外線 B 誘發黑色素及膠原蛋白降解之研究。中華醫事科技大學碩士論文。

<https://reurl.cc/QYZop>

*Western Blot Method*

<https://www.youtube.com/watch?v=OkH8u84t84M>

莊佳樺 (2019)。

14-脫氧-11,12-二去氫穿心蓮內酯透過提升抗氧化能力改善非酒精性脂肪肝炎。中國醫學大學碩士論文。

<https://reurl.cc/37jNwV>

Campbell.Reece (2019)。生物學 (第十版) (鍾楊聰譯)。出版地點：偉明出版社。

萊斯特派克 Lester Packer, 卡羅科曼 Carol Colman (2021)。抗氧化的奇蹟 (陳方智譯)。出版社：原水。