

農業光敏劑素材- 菠菜葉綠素衍生物之開發

農試所鳳山分所 楊淑惠 洪千雅

一、前言

光敏劑 (Photosensitizer) 是具有光活性的化合物，為光動力療法 (Photodynamic therapy; PDT) 的重要材料，PDT最早被研發用於治療實體腫瘤及非癌症的疾病，其原理是對細胞與組織注射或塗抹無毒性的光感藥物 (光敏劑) 會短暫累積在病變組織，利用特定波長光照來激發光感藥物，使其產生具有細胞毒性的活性氧 (Reactive Oxygen Species; ROS)，如圖一所示，進而達到選擇性殺死細胞的功效 (Hong et al. 2016)。近年來，由於抗菌藥物的不當使用，造成抗藥菌株的出現與自然微生物群落的失衡，使得成分天然、對環境友善、能夠有效抑制/殺滅有害菌，又不傷及鄰近環境的光動力抑菌化學療法 (Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy; PACT) 的應用受到關注 (Hamblin 2016)。

葉綠素是天然綠色色素，降解過程中會衍生出葉綠酸 (Chlorophyllide)、脫鎂葉綠素及脫鎂葉綠酸均等成分，為

具有卟啉 (Porphyrin) 類結構的光敏物質，但在植物中很少積累，不易分離取得 (Ryana et al. 2015)。本研究開發菠菜葉綠素降解技術，製備葉綠素衍生物，生產光敏物質，並探討光敏物質對細胞及細菌的影響，藉以開發農作物的新利用性。

二、葉綠素光敏物質對細胞及細菌的影響

萃取自菠菜的葉綠素，經酸或鹼的化學前置處理，所獲得之衍生物質以高效液相層析儀 (HPLC) 分析並與標準品比對，衍生產物以脫鎂葉綠素 (Pheophytin; phytin) 或脫鎂葉綠酸 (Pheophorbide; phorbide) 為主的混合物。再以LED白光或LED藍光為發光光源進行後續光敏試驗，波長如圖二所示。

以小鼠胚胎纖維細胞 (STO cell) 進行MTT細胞存活率試驗，探討細胞光過敏反應。如圖三所示，與未照光對照組 (PC) 比較，用LED白光 (照度 123.6 j/cm²) 或藍光 (照度 5.6 j/cm²) 照光60 min處理，照光對照組 (CK) 的細胞存活率分別下降為79.6%及69.8%，顯示長時間照光對細胞造成的傷害，而添加濃度1 μg/

作者：楊淑惠副研究員
連絡電話：07-7310191-408

mL光敏物質，葉綠素a (chloro a) 標準品，衍生物phytin或phorbide 則顯著增加小鼠胚胎纖維細胞對照光的敏感性，細胞存活率下降為13.3% – 34.3%。

本研究利用葡萄球菌 (Staphylococcus sp.) 為格蘭氏陽性菌 [Gram-positive, G (+)]，進行光敏劑抑菌試

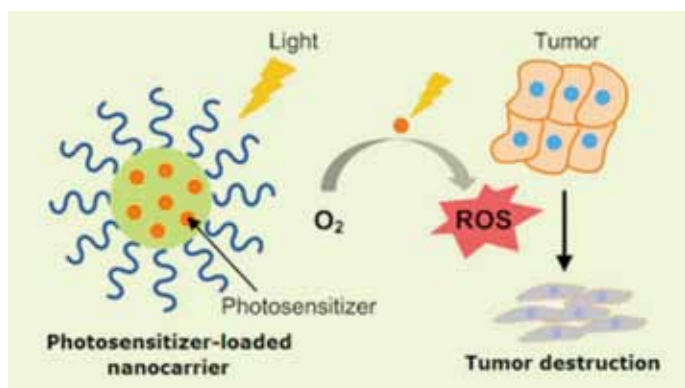
驗，結果顯示，未照光對照組 (PC) 葡萄球菌於培養48 h即可計算生菌數，而照光對照組 (CK) 及添加光敏劑試驗組 (LED 藍光照度 2.8 j/ cm²) 照光30 min，細菌需培養96 h 才可能長出可被計算，比較PC組生長延遲2天；菌落存活率也下降為 53.2% – 68.3%，試驗顯示藍光LED具有抑

制葡萄球菌功效，而添加光敏劑可增加9% – 11% 抑菌效益，如圖四所示。當光照強度不變，而照光時間延長至60 min，葡萄球菌菌落存活率會下降至10%以下。

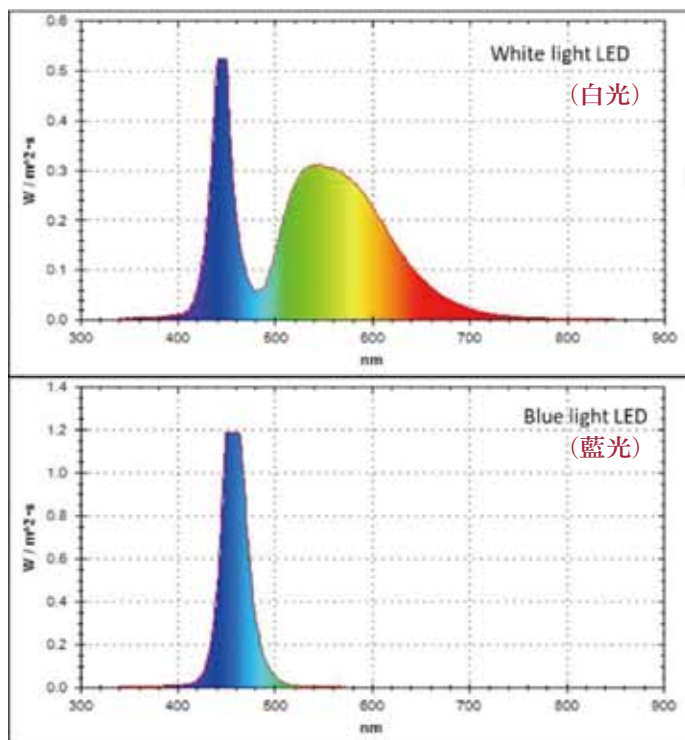
大腸桿菌 (Escherichia coli) 為格蘭氏陰性菌 [Gram-negative, G (-)]，同樣進行光敏劑抑菌試驗，結果顯示，與未照光對照組 (PC) 比較，照光 (LED藍光照度 2.8 j/ cm²) 30 min，照光對照組 (CK) 的存活率為 95.1%，添加濃度0.5 μg/mL葉綠素衍生物試驗組，大腸桿菌存活率為47.9% – 69.8%，與照光控制組比較，添加光敏劑可增加25% – 47% 的抑菌率效益 (圖五)。

三、展望

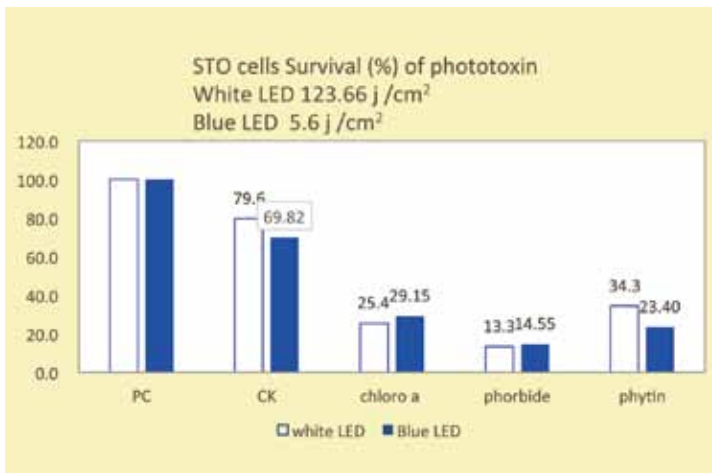
國內冷凍外銷菠菜每年產生約1,600公噸廢棄物，原料潔淨、規模量大而集中且相對安全。初期研究顯示，葉綠素衍生物具有光敏性，



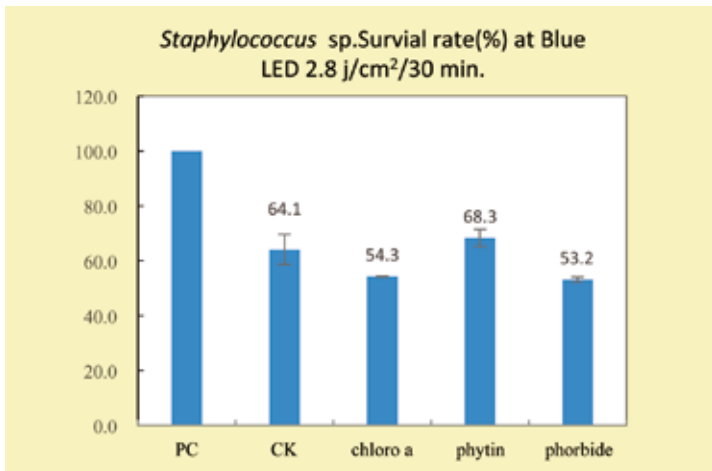
圖一、光動力療法原理 (Hong et al. 2016)。



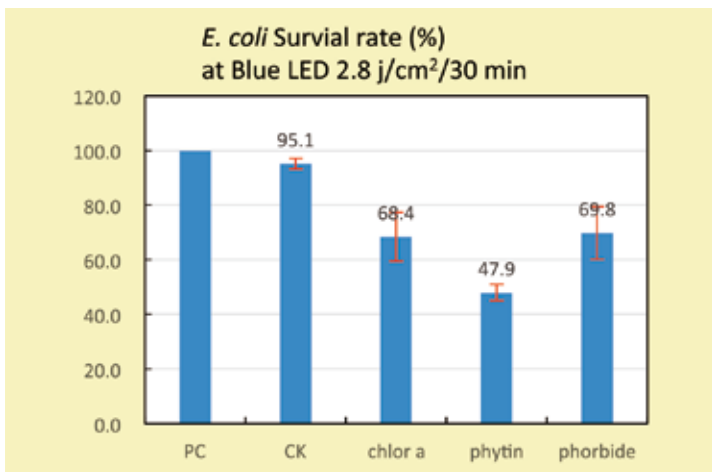
圖二、用於試驗之白光LED(上)及藍光LED波長(下)。



圖三、光源及光敏劑對小鼠胚胎纖維STO細胞存活率的影響。



圖四、藍光光源及光敏劑對葡萄球菌存活率的影響。



圖五、藍光光源及光敏劑對大腸桿菌存活率的影響。

對細胞及細菌的生長確實造成影響，可應用為抗菌光敏劑。建立葉綠素衍生物技術，量化生產可被廣泛使用的農業光敏劑素材，能減少農作廢棄量、提高作物產值。並期待結合葉綠素光敏劑與照光設備，在微生物殺/抑菌、青春痘治療、皮膚感染治療有跨領域的發展。

四、引用文獻

Hong, E. J., D. G. Choi, and M. S. Shim. 2016. Targeted and effective photodynamic therapy for cancer using functionalized nanomaterials. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(4):297–307.

Hamblin, M. R. 2016. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr Opin Microbiol*. 33: 67–73.

Ryana, A. A. and M. O. Senge. 2015. How green is green chemistry? Chlorophylls as a bioresource from biorefineries and their commercial potential in medicine and photovoltaics. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 14(4):638–660.