
認識身旁的小傢伙(13)--利用血糖機探討 美洲蟑螂消化道分解纖維素的生理性質

徐慧心 林孟萱 蔡任圃*

臺北市立中山女子高級中學

壹、前言

目前的生質能源技術所利用的原料以澱粉與蔗糖為主，例如：美國使用的玉米、黃豆，以及巴西使用的甘蔗等(賀伯與戴爾，2009)，這些第一代生質燃料產量還不到已開發國家液態燃料需求量的一成。然而，為了獲取大量原料，反而使穀物、動物飼料等價格上漲，進而造成「與人爭糧」的問題。第二代生質燃料則是以纖維素為原料(木材廢料、穀類的莖桿等)，並且種植可迅速生長在貧瘠地區、不太需要水及肥料的草類和木本植物，例如：柳枝稷。據統計，在不影響生產食品、動物飼料或出口所需之原料的前提下，供應能源已超過全世界每年的石油消耗量，除了解決能源危機，也達到環境保護的效果(賀伯與戴爾，2009)。

在日常生活中，常可看到被蟑螂啃食後，留下許多缺口的書本、報紙。我們曾仔細觀察本校養殖的蟑螂，發現牠們會咬碎並吃下飼養箱中的紙片，甚至啃食木板留下許多咬痕、缺口(圖一)，我們對此現象感到疑惑，是否蟑螂可以消化纖維素？

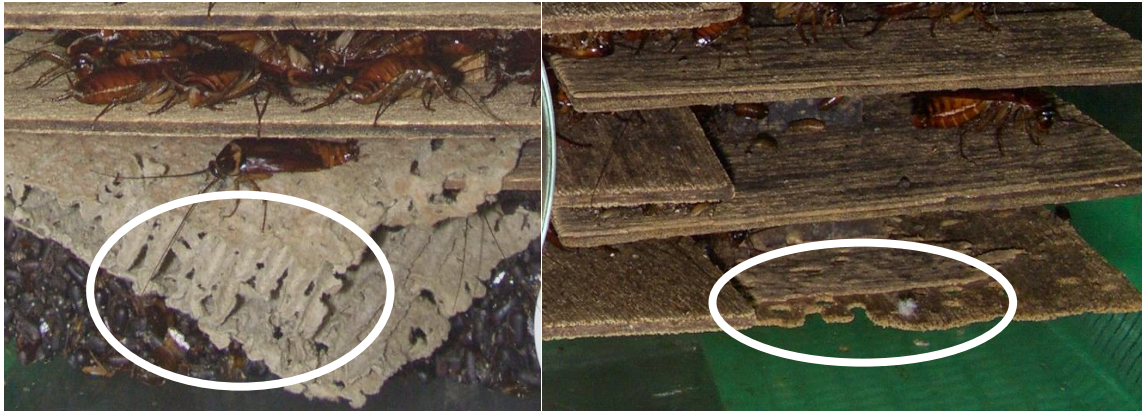
在生物課堂上，我們學到人體的消化系統可以分解食物中的大分子，吸收小分子養分，例如：唾液、胰液可以分解澱粉等多醣類。但另一種多醣類—纖維素，其含量在全球所有有機物中佔了極大比例，人體卻無法分解、吸收。另一方面，我們也學過白蟻體內的共生生物，可以分解白蟻所食入的纖維素(于，2009)，例如：白蟻腸道中的密螺旋體(*treponemes*)與絲狀桿菌(*fibrobacters*)。而其他種類的昆蟲亦具有分解纖維素的能力，例如：蝗蟲、天牛與家蠶(Shi, *et al.*, 2011)。蟑螂既然具有攝食纖維素的行為，牠是否具有消化纖維素的能力？是哪一段腸道進行此消化作用？我們又該如何探測分解纖維素的現象？便成為我們心中的疑惑與難題。

前人研究昆蟲消化道分解纖維素的過程，多利用葡萄糖和雙硝基水楊酸(3,5-dinitro-salicylic acid; DNS)進行呈色反應，再以分光光度計(540 nm 的吸光值)進行葡萄糖之定量分析，進而推論纖維素的分解速率(Gijzen, *et al.*, 1994; Haloi, *et al.*, 2011)。但此方法需進行化學反應、測量吸光值並建立標準曲線，對我們而言過於繁瑣、複雜，我們想到也許可以利用市售的

*為本文通訊作者

血糖機測量葡萄糖含量，使分析纖維素分解現象的研究工作更加簡易、方便。本文基於以上目的，擬利用市售血糖機建立測量蟑螂消化道纖維素酶活性的研究方法，

用以驗證蟑螂消化道是否具有纖維素酶之活性，探討蟑螂各段消化道(前腸、中腸、後腸)在分解纖維素過程中的角色。



圖一 遭蟑螂啃食的木板或紙板(白色圓圈顯示啃咬的痕跡)

貳、研究過程與方法

一、研究器材與設備(表一)：

表一 實驗裝置器材

編號	名稱	型號或規格	備註
1	解剖顯微鏡	Primo Star	ZEISS
2	照相機	Super Steady Shot DR-SR11	Sony
3	血糖機	福爾語音型血糖機(TD-4227)	FORA
4	甲基纖維粉末	4B.326663	關東化學株式會社 (KANTO TAIWAN CORP.)
5	解剖器材	解剖刀(小剪)、鑷子	保鮮膜
6	載玻片、蓋玻片		
7	塑膠小盒		
8	微量滴管	吸取量：1 至 5 mL 吸取量：0.1 至 1 mL	MicroOne(Star Lab)
9	電子秤	EQ-1200	臺灣怡先 SNOWREX
10	量筒	100 mL	
11	燒杯	100 mL	
12	計時器	Timer(NK-168)	NIKIN

二、蟑螂消化道標本之製備

將本校所飼養之蟑螂中挑選色澤明亮、身體外表無破損之成蟲，以二氧化碳麻醉後，剪去六隻腳，由腹面中央進行解剖，分離其消化道(包含前腸、中腸與後腸)，將前腸、中腸與後腸以小剪刀剪開分離，分別置於不同的塑膠小盒中。美洲蟑螂的各段消化道型態與功能請見何等人(民 101)。

三、纖維素液之製備

以電子秤與量筒，將甲基纖維粉末(Carboxymethyl cellulose)以蒸餾水配製成百分濃度 1.25%的纖維素液備用，每次實驗皆重新配置新鮮的纖維素液。

四、利用血糖機測量葡萄糖濃度

本研究利用血糖機測量纖維素液經纖維素酶分解後產生的葡萄糖濃度(單位為 mg/dL)。本研究所使用的血糖機，其原理為利用葡萄糖氧化酶進行葡萄糖的氧化作用時，藉由血糖機測得其所產生之微弱電流，由所產生的電流強度進而換算成葡萄糖濃度。

五、蟑螂血糖之測量

為驗證血糖機的準確度，將蟑螂剪去一隻步足後，取出其血淋巴，利用血糖機測量蟑螂血淋巴中的葡萄糖濃度，再與文獻的數據比較，以驗證血糖機的準確度。

六、蟑螂消化道纖維素酶活性的測量方法

(一)各區段消化道的纖維素酶活性測量

將分置於不同塑膠小盒中的前腸、中腸、後腸以鑷子撕開成碎片，各塑膠小盒再加入 2 mL 之纖維素液，以血糖機測量葡萄糖濃度(0 分鐘時)，而後每 10 分鐘測量一次溶液中的葡萄糖濃度。

(二)各區段消化液的纖維素酶活性測量

以鑷子抓起蟑螂，常可發現蟑螂由口吐出唾液(圖二)；若以鑷子輕壓腹部，亦可由肛門擠出泥狀糞便(圖三)。將唾液、泥狀糞便以及分別由前腸、中腸與後腸刮下之消化液，分別置於不同之塑膠小盒，再各加入 2 mL 之纖維素液，以血糖機測量連續經過若干時間後的葡萄糖濃度。



圖二 以鑷子將蟑螂抓起，可引發蟑螂吐出唾液。



圖三 以鑷子輕壓蟑螂腹部，可由肛門擠出泥狀糞便

七、後腸微生物分解纖維素能力之測量

蟑螂消化道中內共生的纖毛蟲 (*Nyctotherus ovalis*) 為一厭氧之原生動物，我們將美洲蟑螂後腸取出，把腸子平分後分裝在不同小盒中，其中一個加入 2 mL 雙氧水(抑制纖毛蟲活性)，另一個加入 2 mL 純水後，再各加入 2 mL 纖維素液，以探討纖毛蟲在分解纖維素中扮演的角色。

參、研究過程與方法

一、蟑螂血糖之測量

利用血糖機測量蟑螂血糖，測得蟑螂血淋巴中葡萄糖濃度為 60.5 ± 7.28 mg/dL (平均 \pm 標準誤, 4 隻個體, 共測量 10 次)。

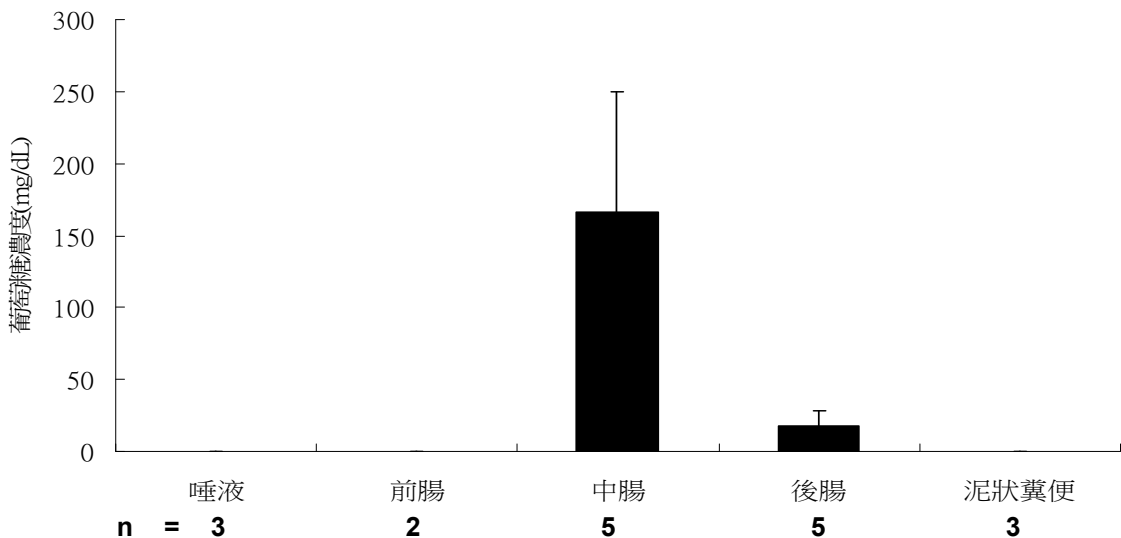
二、各區段消化液的葡萄糖濃度測量

測量蟑螂唾液、前腸消化液、中腸消化液、後腸消化液與泥狀糞便中的葡萄糖濃度，發現只有中腸與後腸消化液含有葡萄糖(圖四)。

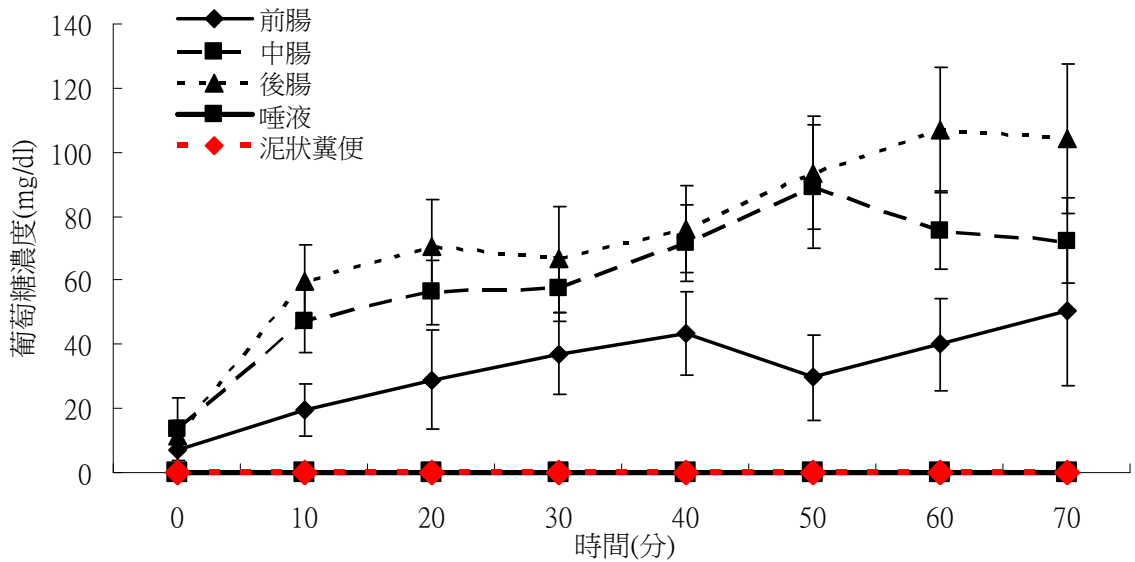
三、蟑螂各區段消化道纖維素酶活性測量

若將蟑螂唾液、前腸組織、中腸組織、後腸組織與泥狀糞便分別置於纖維素液中，測量其產生的葡萄糖濃度，發現中腸與後腸組織所產生的葡萄糖濃度較高，前腸組織較低，而唾液與泥狀糞便皆無纖維素酶的活性(圖五)。

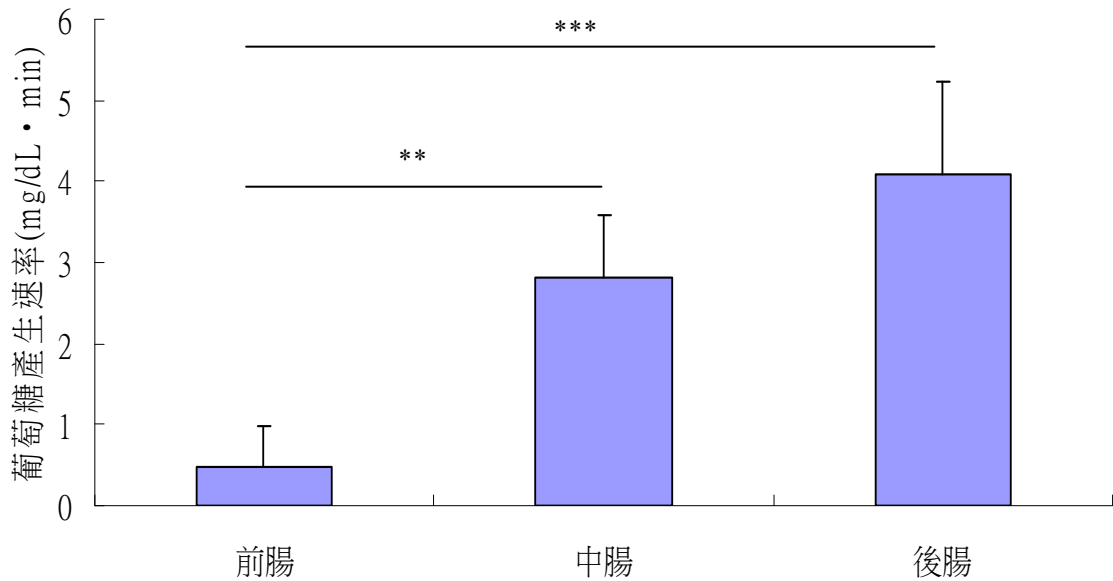
比較其產生產生葡萄糖的速率，後腸組織分解纖維素產生葡萄糖的速度最快，中腸次之，前腸較慢(圖六)。



圖四 蟑螂各區段消化道消化液中的葡萄糖濃度(平均 \pm 標準誤, n=隻數)



圖五 蟑螂唾液(n=3)、前腸組織(n=13)、中腸組織(n=13)、後腸組織(n=13)與泥狀糞便(n=3)的纖維素酶活性(平均±標準誤, n=隻數)。

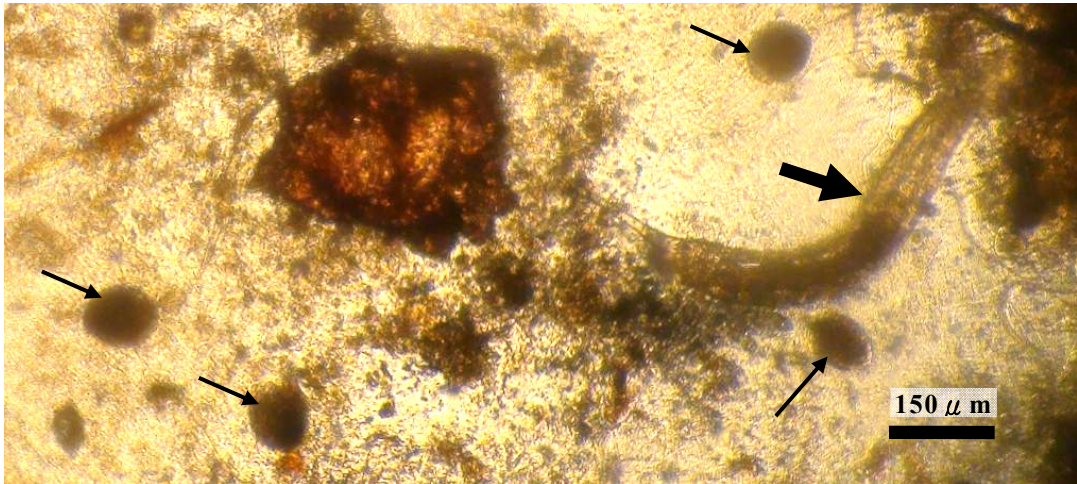


圖六 蟑螂前腸組織(n=13)、中腸組織(n=13)、後腸組織(n=13)於纖維素液中產生葡萄糖的速率(平均±標準誤, n=隻數)。

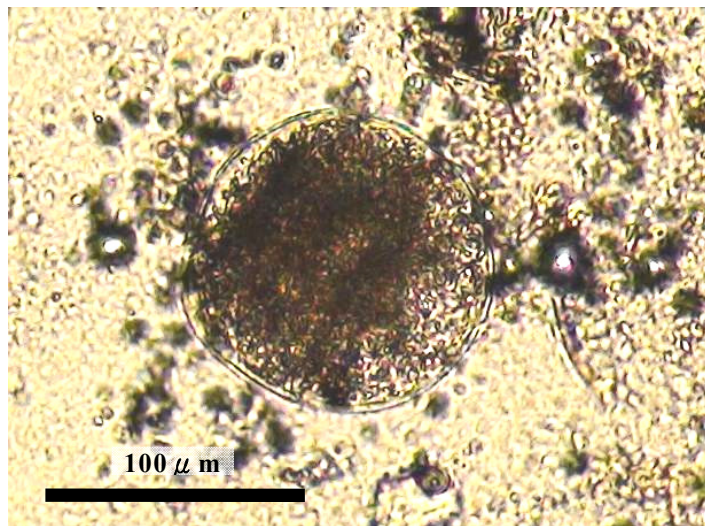
** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.005$ (單尾 t 檢定)。

四、蟑螂後腸與泥狀糞便中的微小生物觀察

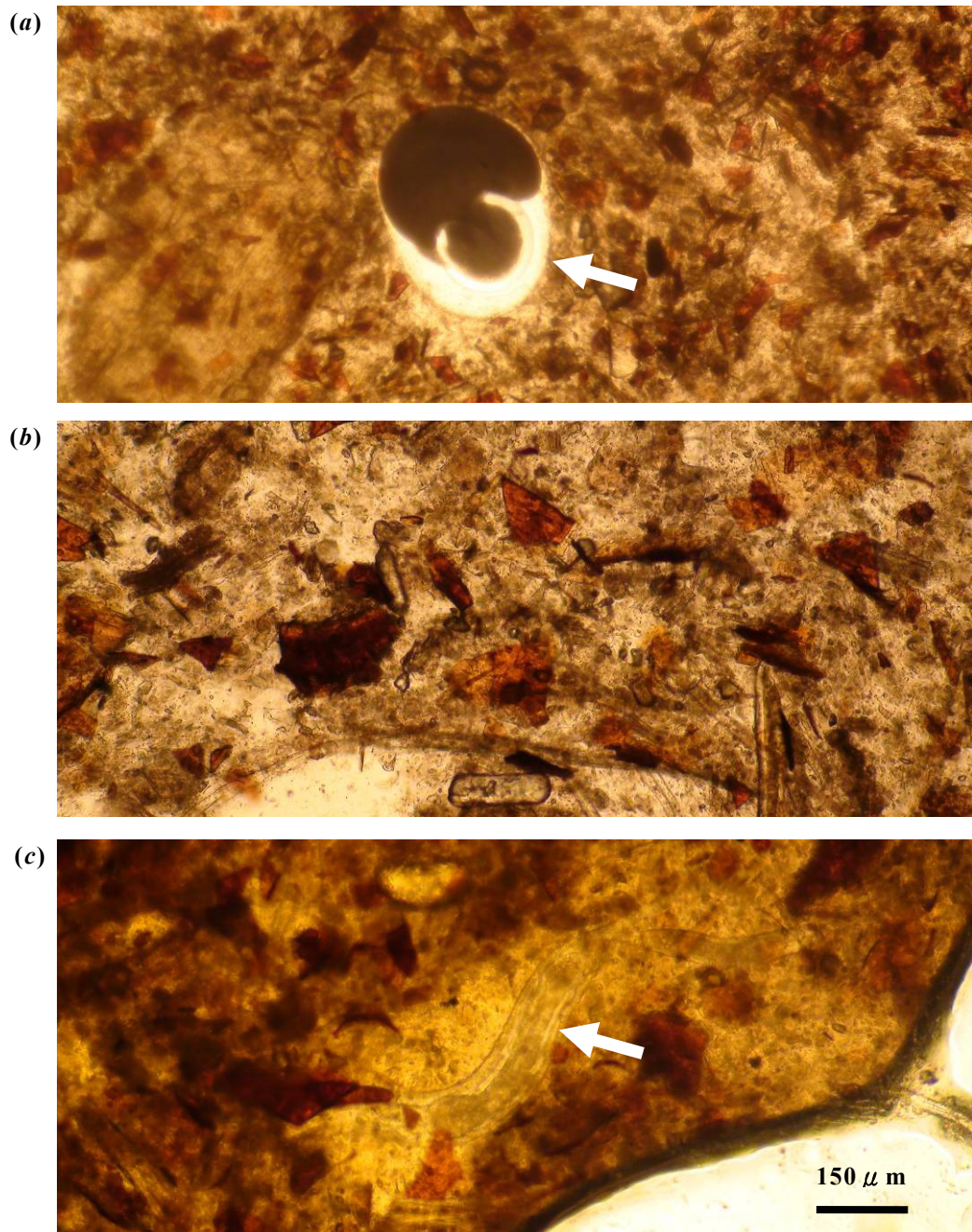
觀察蟑螂後腸中的內容物，發現蟑螂後腸含有許多種類的微小生物，其中包含線蟲與許多纖毛蟲(*N. ovalis*) (圖七)，但在蟑螂排出的泥狀糞便中，雖仍有線蟲甚至線蟲卵的蹤跡，但無纖毛蟲(圖八、九)。



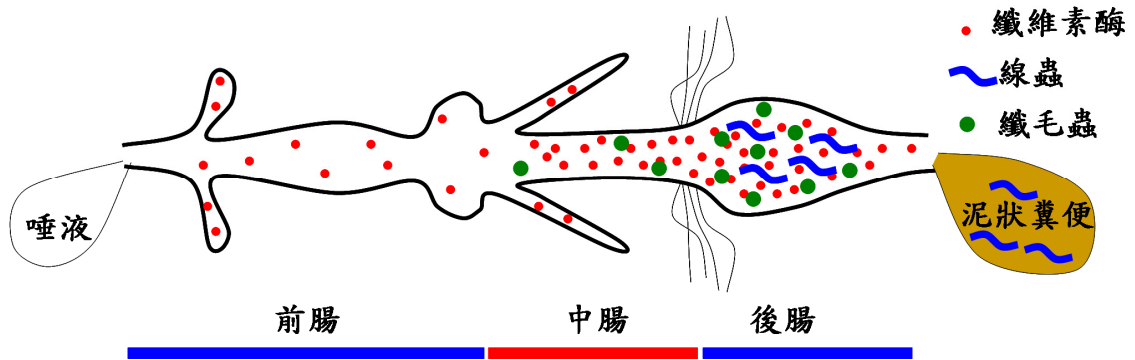
圖七(a) 蟑螂後腸中的線蟲(粗箭頭所指)與許多纖毛蟲(*N. ovalis*, 細箭頭所指)



圖七(b) 蟑螂後腸中的纖毛蟲(*N. ovalis*)。



圖八 蟑螂泥狀糞便的顯微鏡觀察。
(a)線蟲卵(箭頭所指)。
(b)食物殘渣。
(c)線蟲(箭頭所指)。比例尺標於(c)。



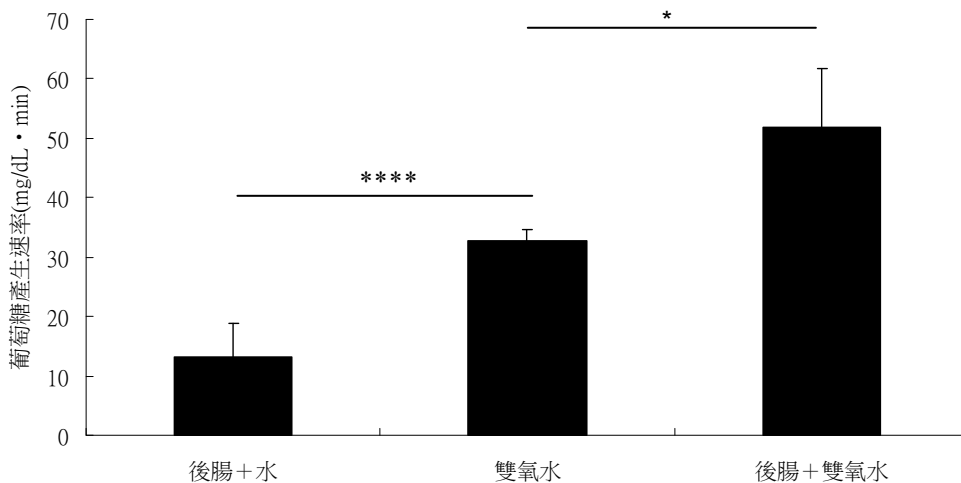
圖九 蟑螂唾液、消化道與泥狀糞便中，纖維素酶活性與微生物的分佈情形

五、後腸微小生物分解纖維素能力之測量

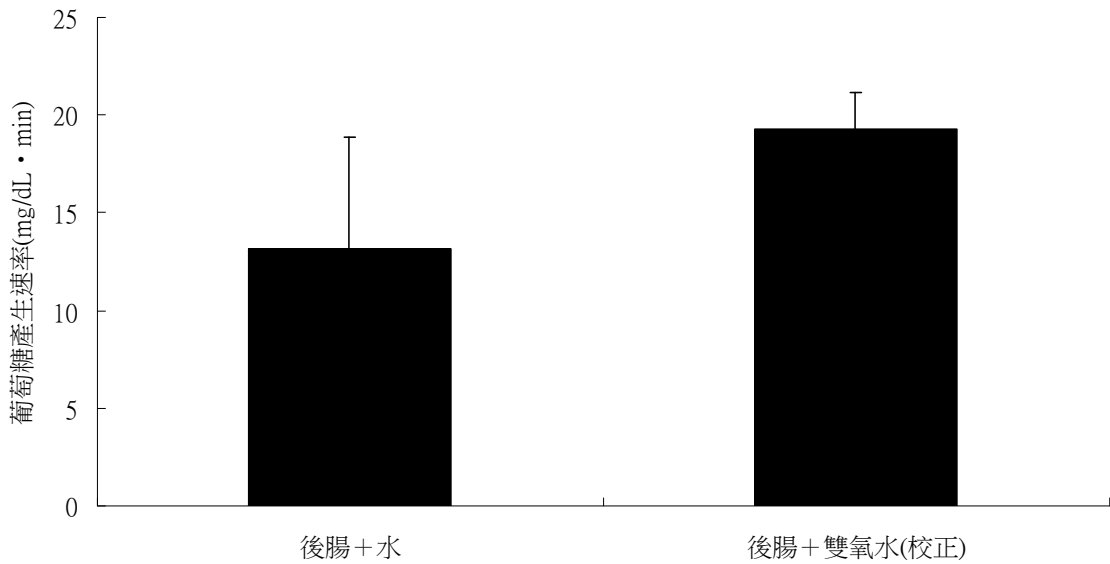
纖毛蟲為一厭氧原生動物，我們推測在蟑螂腸道組織加入雙氧水後，應可降低纖毛蟲的活性，但實驗結果發現蟑螂腸道加入雙氧水後，其分解纖維素的能力不減反增。若纖維素液單獨加入雙氧水進行作用，其纖維素分解活性大於後腸組織；如果將後腸和雙氧水同時放入，纖維素分解活性則會更大(圖十)。也許雙氧水會破壞

纖維素的結構，具有分解纖維素的作用。

為了避免雙氧水的纖維素分解作用影響探討「抑制纖毛蟲的活性後是否會降低蟑螂腸道組織的纖維素酶活性」，我們將「(後腸組織+雙氧水)活性-(後腸組織)活性」代表「去除纖毛蟲活性的後腸組織」活性，再與「未去除纖毛蟲活性的後腸組織」活性比較(圖十一)，發現兩者活性未達統計上的差異，代表纖毛蟲活性對後腸組織的纖維素酶活性貢獻不大。



圖十 雙氧水對纖毛蟲作用(平均±標準誤, n=12)。* : $p < 0.05$; **** : $p < 0.001$ (單尾 t 檢定)。



圖十一 比較去除纖毛蟲活性前、後之後腸組織纖維素酶的活性(平均±標準誤，n=12)。未達統計差異(單尾 t 檢定)。

肆、討論

本研究所建立的葡萄糖濃度測量方法(利用血糖機)，測量蟑螂血淋巴中的葡萄糖濃度為 60.5 ± 7.28 mg/dL，與 Fell(1990)所測量的 60 至 75 mg/dL 一致，證明本研究的偵測方法具有可信的精準度。

本研究證明蟑螂消化道中，前、中、後腸皆具纖維素酶的活性，其中後腸最佳，前腸最弱，其中前腸、中腸與後腸的纖維素酶活性為 1:6:8.69 此現象與 Haloi 等人(2011)於前腸與中腸的研究相似(前腸：中腸纖維素酶活性 = 1:6.76)。我們測得前、中腸分解纖維素產生葡萄糖的速率分別為 0.47 ± 0.52 、 2.82 ± 0.77 mg/dL · min，而後腸分解纖維素產生葡萄糖的速率為 4.08 ± 1.16 mg/dL · min(平均±標準誤)，介於 Gijzen 等人(1994)利用不同的測定方法所測出的後腸纖維素酶活性

(2.7 ± 0.72 與 9.18 ± 1.98 mg/dL · min)之間，證明本研究所使用的測量方法確實為準確，而本文同時分析、比較前、中、後腸纖維素酶的活性，研究結果比文獻更完整。

我們也發現蟑螂後腸含有許多纖毛蟲(*N. ovalis*)，而纖毛蟲已被證實與纖維素分解與產生甲烷有關(Gijzen, *et al.*, 1994)，故本研究所發現的纖維素酶活性，可能肇因於蟑螂的共生微小生物—纖毛蟲對纖維素的分解作用。Potts 與 Hewitt(1973)認為白蟻分解纖維素是肇因於鞭毛蟲與白蟻本身腸道的纖維素酶活性，故我們認為蟑螂前腸與中腸的纖維素酶活性，可能是由蟑螂本身或其他仍未知的共生微小生物所產生。

比較各段消化道中內容液的葡萄糖濃度後(圖四)，我們發現中腸內的液體含有葡萄糖，而後腸內的葡萄糖含量較少，

我們認為可能來自於食物中的葡萄糖，或是食物中的纖維素經分解形成的葡萄糖，可經中腸與後腸的吸收(主要在中腸進行吸收)，在糞便中則無葡萄糖的蹤跡。

Wharton 與 Wharton(1965)發現蟑螂的唾腺亦具有纖維素酶活性，但我們所取樣的唾液中卻不具纖維素酶活性，也許所取樣的唾液，不是直接取自唾液腺，而是蟑螂受驚嚇時排出，供進行防衛之用，並非作為消化之用，故此種唾液不含纖維素酶。我們也發現，雌蟑螂受驚嚇時多會由口排出大量唾液(唾液體積幾乎與頭部一樣大)，但雄蟲幾乎無此反應(不排出唾液)，相關原因值得進一步研究。

經解剖與顯微鏡觀察，我們發現與分解纖維素息息相關的纖毛蟲(大小約 80 至 100 μm)主要分佈於蟑螂的後腸中，偶而可於中腸內發現，但蟑螂所排出的泥狀糞便中則無發現，但泥狀糞便中可發現線蟲與線蟲的卵，以及其他許多微小的生物(大小約 1 μm)，故與蟑螂共生的纖毛蟲可能並不隨泥狀糞便或糞便排出。

在生質能源的生產過程中，若以纖維素為原料，常需先將其分解成寡糖，再由酵母菌行酒精發酵，但因纖維素的分子結構成晶格狀，不僅堅硬，而且難以分解。如何將纖維素轉化成可用的原料，成為解決能源危機的重要關鍵。目前常見的技術是先以熱、酸或鹼處理原料，解開木質素和半纖維素交纏的組織，但此方法不符合經濟效益且易造成環境污染，故未被廣泛使用。本文探討蟑螂是否具有分解纖維素

的能力，未來或許能由此發展分解纖維素的新技術。

伍、結論

- 一、本研究建立利用血糖機測量蟑螂消化道纖維素酶活性的快速方法。
- 二、蟑螂的前、中、後腸皆具有纖維素酶的活性，其產生葡萄糖的速率分別為 0.47 ± 0.52 、 2.82 ± 0.77 、 4.08 ± 1.16 $\text{mg/dL}\cdot\text{min}$ 。
- 三、蟑螂後腸內富含共生微生物，包含纖毛蟲(*N. ovalis*)與線蟲，其中纖毛蟲有助於纖維素的分解。
- 四、蟑螂受刺激所排出之唾液，與腹部受擠壓所排出的泥狀糞便，皆無纖維素酶活性。

陸、致謝

本文部分實驗由臺北市 101 年度中等學校學生科學研究獎助計畫(高中職組生物科編號 B08)支持經費，本研究曾獲得第 45 屆臺北市中小學科展高中組生物科優等、研究精神獎及團隊合作獎，謹此致謝。

參考資料

- 于宏燦(民 98.08.17)。腸道菌解析／白蟻腸道菌 可解人類能源荒。聯合報。(全文網址:http://mag.udn.com/mag/campus/storypage.jsp?f_ART_ID=208416)
- 何孟寬、李忻、蔡任圃(民 101)。認識身旁的小傢伙(十一)—味覺刺激對蟑螂口器的影響與前腸的前饋作用。科學教育月刊，352，42-54。
- 賀伯(George W. Huber)、戴爾(Bruce E. Dale)，2009。以草煉油。科學人，90，36-43。

- Fell, R. D. 1990. The qualitative and quantitative analysis of insect hemolymph sugars by high performance thin-layer chromatography. *Comp. Biochem. Physiol.* 95A(4): 539-544.
- Gijzen, H. J., van der Drift, C., Barugahare, M. and op den Camp, H, J. M. 1994. Effect of host diet and hindgut microbial composition on cellulolytic activity in the hindgut of the american cockroach, *Periplaneta americana*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(6): 1822-1826.
- Haloi, D. J., Borkotoki, A. and, Mahanta, R. 2011. Comparative study of cellulase activity in *Periplaneta americana*, *Odontotermes obesus* and *Philosamia ricini*. *WJLSMR.* 1(6): 111-116.
- Potts, R. C and Hewitt, P. H. 1973. The distribution of intestinal bacteria and cellulase activity in the harvester termite *Trinervitermes trinervoides* (Nasutitermitinae). *Insectes Soc.* 20(3): 215-220.
- Shi, W. B., Ding, S. Y. and Yuan, J. S. 2011. Comparison of insect gut cellulase and xylanase activity across different insect species with distinct food sources. *BioEnerg. Res.* 4(1): 1-10.
- Wharton, D. R., Wharton, M. L. 1965. The cellulase content of various species of cockroaches. *J. Insect Physiol.* 11(10): 1401-1405.