

中華民國第四十八屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

040707

看不見的保鮮膜 —— 幾丁聚醣的萃取與應用

學校名稱：國立嘉義高級中學

作者：

高二 王笠安

高二 黃彥樺

高二 陳彥蒲

高二 蘇宸瑩

指導老師：

鄒宏鑫

關鍵詞： 幾丁聚糖、保鮮

壹、摘要

蝦蟹殼主要由幾丁質、蛋白質、礦物質三種成分組合而成，重量大約各佔三分之一，本實驗以蝦蟹殼為原料，經由洗淨、乾燥、磨碎之後，再以強酸強鹼處理，提煉出幾丁質，幾丁質再經去乙酰化反應，製得幾丁聚醣，由於幾丁聚醣可溶於弱酸，因此其應用性較為廣泛。實驗中將幾丁聚醣溶於醋酸溶液，觀察不同濃度的幾丁聚醣對肉類保鮮程度的影響，結果顯示，肉類浸置於過高濃度（5%）的醋酸溶液會造成表面蛋白質的變性，且浸置幾丁聚醣溶液後若沒蔭乾，肉類會因滲透壓的差異而開始滲水發臭。將幾丁聚醣溶於3%醋酸溶液，並將浸置過溶液的肉類蔭乾，72小時後所有的處理皆有發黑、發黴的現象出現，顯示幾丁聚醣的處理對肉類的保鮮並無明顯的成效。

貳、研究動機

現今地球資源經過人類無止盡的開發之後已所剩無幾了，科學家們也努力在尋找其他能源來防止地球資源匱乏的那一天。最近生物科技成為大眾紛紛討論的問題，有一次看見電視在廣告蝦子的甲殼素，當時晚餐也正在吃蝦子，就想說蝦子的殼對我們除了丟掉吃後還能有什麼功用呢？於是就和同學討論和看書上網找資料，我們就得知蝦子的殼中具有豐富的幾丁質，而且它可以用來保護蝦子。那身為區區學生的我們是否也能找到另一樣東西來代替現在正大量使用的某物呢？剛好看見課本裡面有「幾丁質」一詞，給人一種無堅不摧的防護罩一般的感覺，於是便突發奇想：不知道它是否能拿來當作一種保鮮的材料呢？和同學互相分享後就我們就決定更深入研究幾丁質對食物保鮮的功用，我們的科展題目也從此訂定。這激發出我們的鬥志和挑戰心。於是，我們朝著這些列出來的大方向前進，雖然有一段不短的路要走，但在老師的大力支持和幫助之下，使我們有信心來完成這個科展。

參、研究目的

- 一、 幾丁聚醣對肉類保鮮是否有影響？
- 二、 如何測定鮮度，建立保鮮指標？
- 三、 要多少量的幾丁聚醣可以使肉類不那麼快腐敗？
- 四、 幾丁聚醣溶於多少濃度的醋酸？

肆、研究設備及器材

一、主要器材：

1. 肉（新鮮的豬肉）
2. 幾丁聚醣（蝦殼製成）
3. 醋酸（3%）
4. 蒸餾水
5. pH 計
6. 電導度計
7. 恆溫箱（25°C）
8. 鹽酸
9. 氫氧化鈉
10. 烘乾機
11. 攪拌器
12. 電磁爐

二、次要器材：

1. 燒杯
2. 洗滌瓶
3. 培養皿
4. 滴管
5. 量杯
6. 鑷子
7. 紙巾
8. 電扇
9. 鋁箔紙
10. 電腦
11. 紙
12. 筆
13. 磅秤
14. 相機

伍、研究過程或方法

幾丁質 (chitin) 俗稱甲殼質，由 N-乙醯葡萄糖胺的單元體組成，是一種結構類似植物纖維素的直鏈多醣化合物。幾丁質有分子內與分子間的氫鍵，所以不溶於水，也不溶於有機或無機溶液中，蝦蟹等甲殼類動物的外殼、昆蟲的外骨骼、菌物界生物的細胞壁中，都含有幾丁質的成分，在自然界中是含量僅次於纖維素的高分子聚合物，估計每年自然界可合成約 1×10^{11} 噸。

幾丁質經去乙醯化反應，可得幾丁聚醣，俗稱甲殼素。幾丁聚醣是將幾丁質中 N-乙醯葡萄糖胺所含的部份或全部乙醯基轉變成胺基所得的異聚合體，所以幾丁質是高度乙醯化的聚葡萄糖胺，而幾丁聚醣則是高度去乙醯化的葡萄糖胺，一般要分別幾丁質與幾丁聚醣，可用能否溶於弱酸溶液作為判別標準，可溶的是幾丁聚醣，不溶的是幾丁質，由於幾丁聚醣可溶於稀有機或無機酸中，因此大大提升其在各方面的應用性。

幾丁聚醣具有相當顯著的抗菌效果，去以醯化程度越高，抗菌效果越顯著，同時能促進血小板的凝血作用，加速傷口的初期癒合，因此適合開發為止血和傷口的被覆材料，以應用於燒燙傷、植皮部位的保護，這些傷口被覆材料目前已被商品化，臨床上的驗證也得到相當不錯的效果。在農業上，幾丁聚醣可用於處理植物種子，可形成一層保護膜，不但可抑制種子周圍病原體的生長，也可藉由幾丁聚醣的刺激，增加植物本身幾丁質酶的活性，有助於抵抗入侵的病原體。

目前幾丁聚醣在食品加工的應用方面備受矚目。因為幾丁質和幾丁聚醣具有無毒、無味等優點，所以大量被應用於食品加工工業。幾丁聚醣在食品工業上大部分的用途可以分成三種，一種是從液體產品中除去懸浮顆粒，以增加透明度、提高液體產品品質或提高固體產品的回收率；一種用途是處理廢水，回收蛋白質作為動物飼料使用，以減少水污染；另一種是作為食品包裝材料，如保鮮膜、香腸腸衣等，因為它具有抑菌作用，保存食品的時間可以更長，是跟人工保存劑比起來，比較健康的食品保存劑。此外，幾丁聚醣也可以做成水果保鮮劑，把它噴灑在水果上形成一層半透明的膜，降低水果與大氣的接觸，保持水果的新鮮度的時間可達九個月。若再加冷藏，儲存期可以延長至兩倍。

看了許多相關的資料後發現，目前很少將幾丁質和幾丁聚醣用於肉類的保鮮，大多是應用於蔬果類保鮮。與老師討論之後，我們決定將幾丁質透過強鹼加工製成幾丁聚醣，再溶解於 2~6% 的醋酸當中，當它乾燥自然形成一層保護膜。第一要思考的就是保鮮的對象，究竟是蔬果，亦或是肉類較佳？就生食而言，似乎最難保存的就是肉類了，於是我們便以肉類為觀察對象，進而將肉品浸置在溶有幾丁聚醣的弱酸溶液中，再以各種不同的測定保鮮之方法，來觀察幾丁聚醣對食物的保鮮之影響。

一般常用於肉類鮮度的指標有感官分析、生菌數分析、保水力、pH 值變化、電導度變化……等等，本實驗主要採用感官分析與 pH 值、電導度的變化做為鮮度指標。

一、 實驗方法與步驟

(一) 萃取幾丁質：

用化學法製備幾丁質的最適合條件，是先將蝦蟹殼以 120°C 烘乾兩小時，磨碎後以每公克粉末加入 9ml 鹽酸水溶液的比例，以 1.7N 鹽酸水溶液在常溫下攪拌處理 6 小時，離心後，沉澱物以去離子水反覆沖洗離心三次，再以每公克沉澱物添加 5ml 氫氧化鈉水溶液的比例，加入 2.5N 氫氧化鈉水溶液在 75°C 下攪拌處理 6 小時，離心後，沉澱物以去離子水反覆沖洗離心三次，再以乙醇加熱環流處理，最後將沉澱物置於烘箱烘乾，所得白色粉末狀產物即為幾丁質。由於一般蝦蟹殼主要是由幾丁質、蛋白質、礦物質（主要為碳酸鈣）三種成分組合而成，重量大約各佔三分之一，因此上述處理方法中，加入鹽酸的目的是要去除礦物質，加入氫氧化鈉是要去除蛋白質，而加入乙醇是為了去除色素和脂質。

1. 收集餐廳和家庭丟棄之蝦蟹殼，洗淨並曬乾



2. 鹽酸脫灰

100g 蝦蟹殼粉末



加入一公升 1.7N 的鹽酸浸漬



室溫下浸漬 6 小時(初期反應會起泡，同時用玻棒攪拌，使浮起的蝦蟹殼下沉)



換新的鹽酸



室溫下再浸 6 小時



撈起固體物



以蒸餾水洗淨多次使其呈中性



乾燥 (以 60°C 在烤箱中烘乾)

3. 去除蛋白質

脫灰後的乾燥蝦蟹殼



放入 500ml 2.5N 的氫氧化鈉浸漬



加熱至 75°C 浸置 6 小時 (有時候攪拌之, 如果水分蒸發可用蒸餾水補充, 使液面保持一定)



以蒸餾水洗淨多次使其呈中性



乾燥(以 60°C 在烤箱中烘乾)

(二) 製備幾丁聚醣：

由於幾丁質分子鏈間有許多氫鍵，結構很緊密，因此需要利用高溫強鹼的反應環境進行去乙酰化反應，不同溫度、不同濃度的氫氧化鈉水溶液與不同的處理時間，所得幾丁聚醣的去乙酰化程度也不相同，例如 130°C、40% 氫氧化鈉水溶液攪拌處理 1 小時，可得到約 90% 去乙酰化的幾丁聚醣，而處理 3 小時後，去乙酰化程度可達約 95%。



本實驗以每公克幾丁質加入 26ml 氫氧化鈉水溶液的比例，在 100°C 下加入 60% 氫氧化鈉水溶液，攪拌處理 6 小時，可得到超過 90% 去乙酰化的幾丁聚醣產物。

(三) 幾丁聚醣用於肉類保鮮實驗步驟

第一天

1. 前置作業

- (1) 將燒杯、滴管、量杯、紙巾、培養皿、洗滌瓶、pH 計、導電計準備好
- (2) 將肉類用蒸餾水沖洗去一些會影響實驗數據的雜質（右圖一）
- (3) 用紙巾將水分擦乾放在一旁備用



圖一

2. 配製溶液

- (1) 用磅秤秤量幾丁聚醣（右圖二）
- (2) 配製醋酸溶液
- (3) 將幾丁聚醣溶於醋酸中
- (4) 裝蒸餾水、幾丁聚醣溶液、醋酸溶液各 20ml（浸泡肉類的）（右圖三）
- (5) 裝蒸餾水 50ml（測定 pH 值和電導度的）（右圖三）



圖二

3. 正式實驗

- (1) 將肉類浸泡在 20ml 的各溶液中，等 2 分鐘（下圖四）
- (2) 丟入 50ml 的各溶液中，等 1 分鐘
- (3) 測定 50ml 水溶液的 pH 值和電導度
- (4) 將肉類再次丟入 20ml 溶液中，等 2 分鐘
- (5) 放入 25°C 恆溫箱中，靜置一天
- (6) 分析所得的數據和製成圖表



圖三



圖四



將肉吹乾 ↑

第二天

1. 前置作業
 - (1) 將燒杯、滴管、量杯、紙巾、培養皿、洗滌瓶、pH 計、導電計準備好 (右圖五)
 - (2) 將肉從恆溫箱拿出來 (右圖六)
2. 配製溶液
 - (1) 裝蒸餾水 50ml (測定 pH 值和電導度的)
3. 正式實驗
 - (1) 丟入 50ml 的各溶液中，等 1 分鐘
 - (2) 測定 50ml 水溶液的 pH 值和電導度
 - (3) 分析所得的數據和製成圖表
 - (4) 討論前後兩天的數據



圖五



圖六



幾丁聚醣溶液與清水 ↑



測定過程 ↑



一天後的肉片 ↑



用 pH 計測定的溶液 ↑

(四) 幾丁聚醣用於肉類保鮮實驗步驟 (改良版)

在獲得全國賽的資格後，我們再接再厲的進行我們的實驗，今天我們決定採用其他種測定 pH 值的方法以求實驗的更準確性，我們在書籍上和前人的經驗中找到新的測定方法：

第一天

1. 前置作業

- (1) 將燒杯、滴管、量杯、紙巾、培養皿、洗滌瓶、pH 計、導電計準備好
- (2) 將肉類用蒸餾水沖洗去一些會影響實驗數據的雜質，盡量確保每塊肉片狀況相同
- (3) 用紙巾將水分擦乾放在一旁備用
- (4) 和先前實驗相同，配置 5 杯溶液
- (5) 選取重量相近的肉片為一組，選五組分別對應之，並量取待測肉片的重量，乘以 9 即為搭配的水量 (重量百分比 10%)

2. 正式實驗

(1) 將水連同肉片丟入果汁機中絞碎

(2) 測定水溶液的 pH 值，剩下肉片再以相近重量分組，浸過各溶液等 2 分鐘後蔭乾，放入 25°C 恆溫箱中，靜置一天

(3) 分析所得的數據和製成圖表

第二天

1. 前置作業

- (1) 將燒杯、滴管、量杯、紙巾、培養皿、洗滌瓶、pH 計、導電計準備好
- (2) 量取配合各片肉所需的水量 (乘以 9)

2. 正式實驗

(1) 將水連同肉片丟入果汁機中絞碎

(2) 測定水溶液的 pH 值

(3) 分析所得的數據和製成圖表

(4) 討論前後兩天的數據



陸、 研究結果

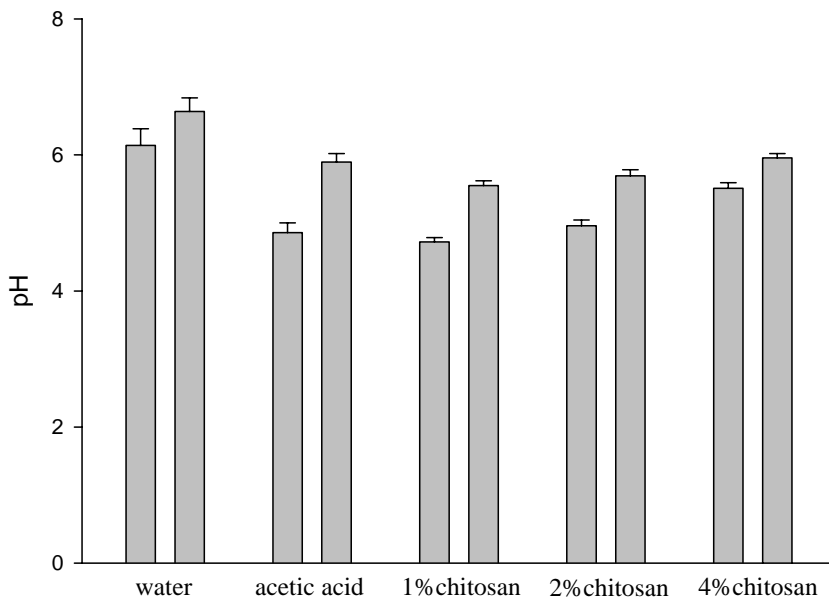


Fig 1.豬肉以不同溶液處理前後 pH 值的變化，相鄰兩組數據分別代表相同處理前後的 pH 值。pH 數值取得方式是將豬肉置入蒸餾水中 1 分鐘後，以 pH 計測定。

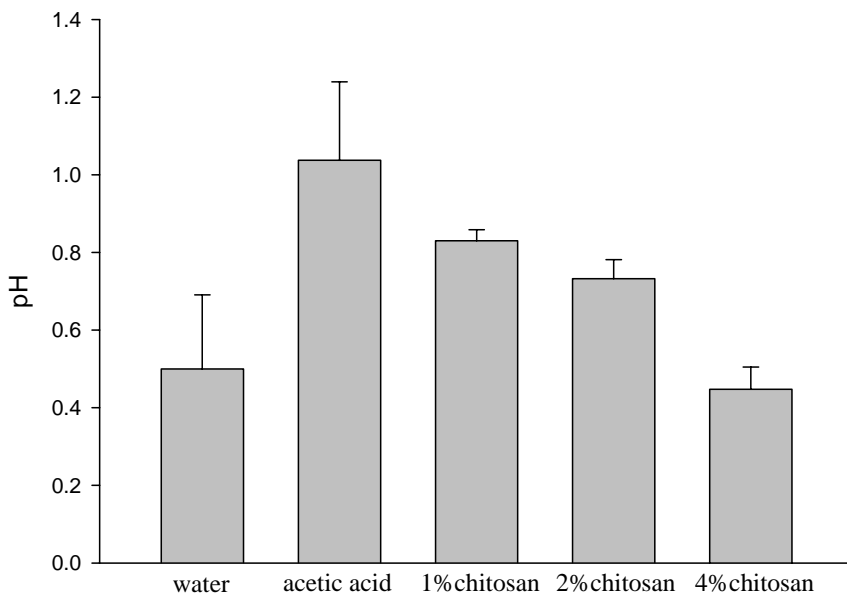


Fig 2.豬肉以不同溶液處理前後 pH 的相差值，數據為反應後 pH 值減反應前 pH 值。pH 數值取得方式是將豬肉置入蒸餾水中 1 分鐘後，以 pH 計測定。

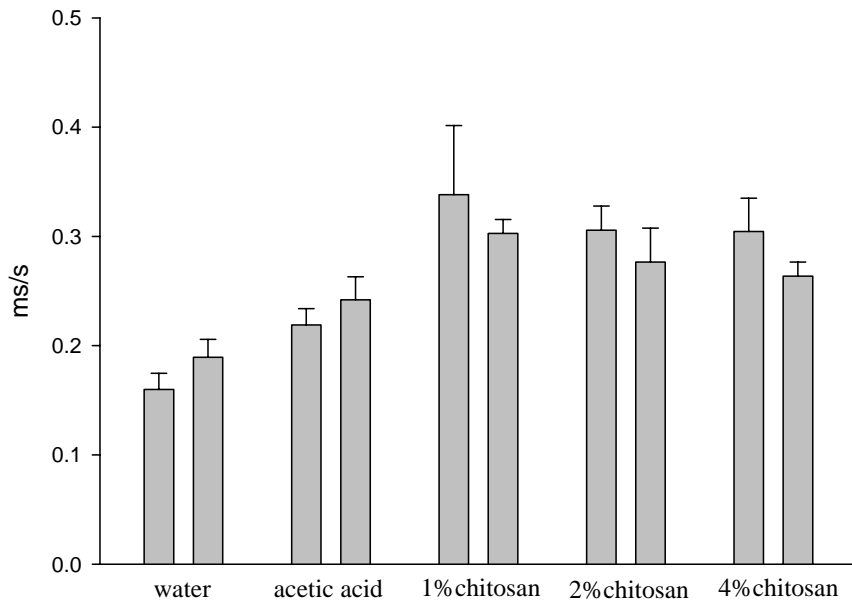


Fig 3. 豬肉以不同溶液處理前後電導度數值的變化，相鄰兩組數據分別代表相同處理前後的電導度數值。電導度數值取得方式是將豬肉置入蒸餾水中 1 分鐘後，以電導度計測定。

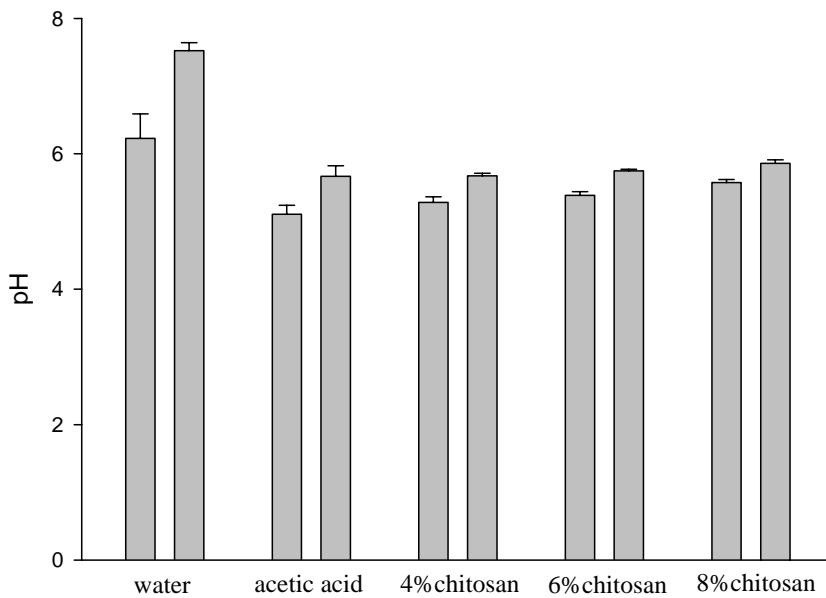


Fig 4. 豬肉以不同溶液處理前後 pH 值的變化，相鄰兩組數據分別代表相同處理前後的 pH 值。pH 數值取得方式是將豬肉置入蒸餾水中 1 分鐘後，以 pH 計測定。

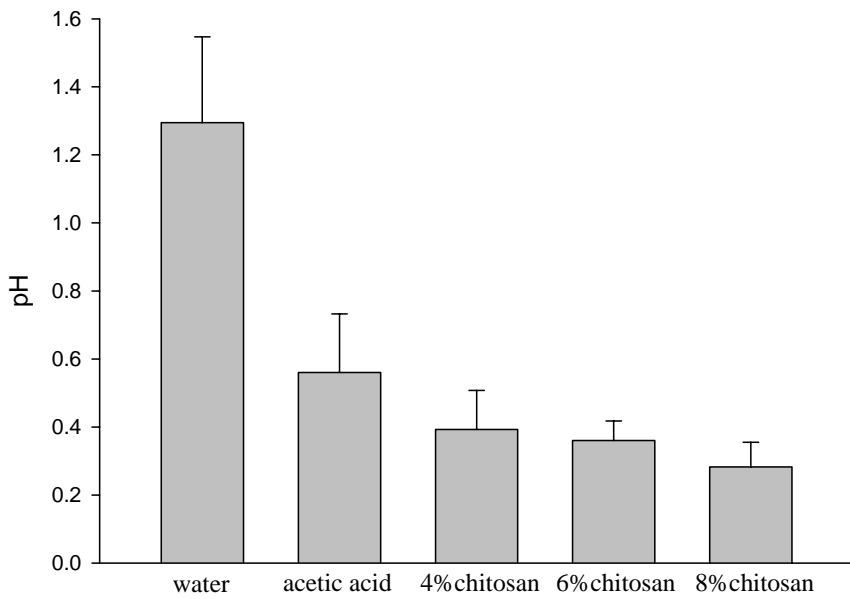


Fig 5. 豬肉以不同溶液處理前後 pH 的相差值，數據為反應後 pH 值減反應前 pH 值。pH 數值取得方式是將豬肉置入蒸餾水中 1 分鐘後，以 pH 計測定。

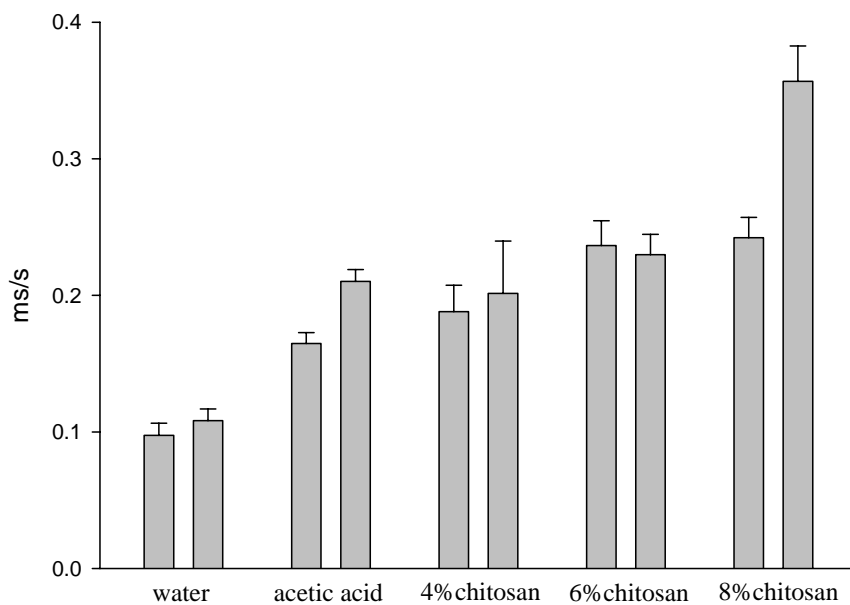


Fig 6. 豬肉以不同溶液處理前後電導度數值的變化，相鄰兩組數據分別代表相同處理前後的電導度數值。電導度數值取得方式是將豬肉置入蒸餾水中 1 分鐘後，以電導度計測定。

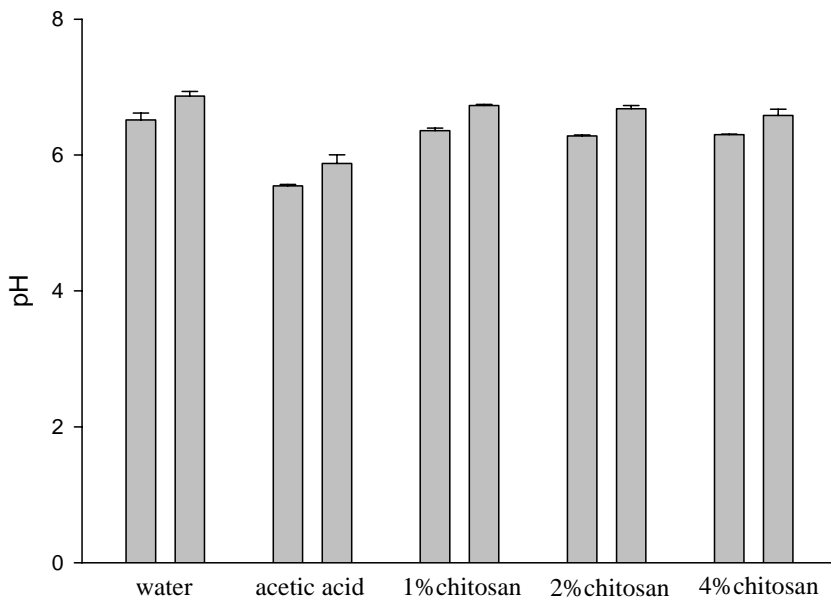


Fig 7. 豬肉以不同溶液處理前後 pH 值的變化，相鄰兩組數據分別代表相同處理前後的 pH 值。pH 數值取得方式是將豬肉與蒸餾水（重量比 1：9）以果汁機打碎後，再以 pH 計測定。

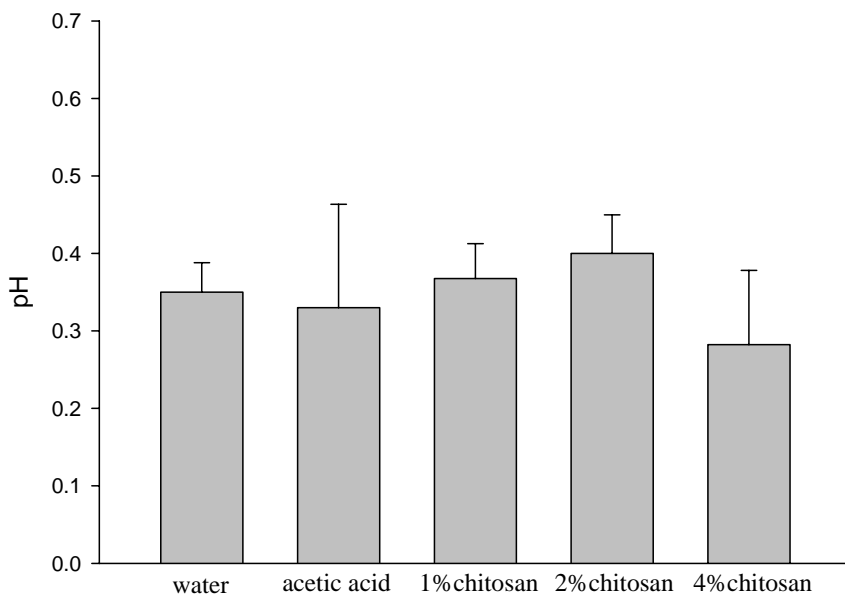
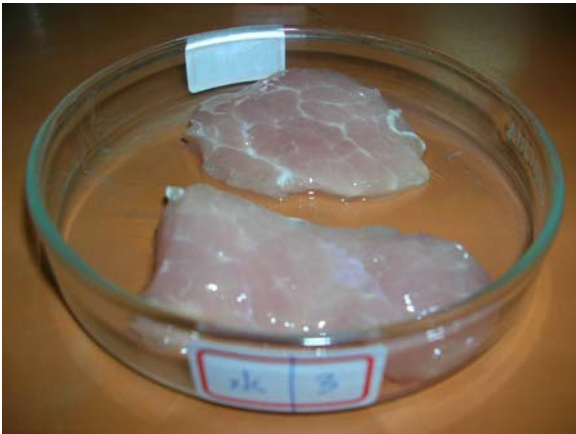


Fig 8. 豬肉以不同溶液處理前後 pH 的相差值，數據為反應後 pH 值減反應前 pH 值。pH 數值取得方式是將豬肉與蒸餾水（重量比 1：9）以果汁機打碎後，再以 pH 計測定。

下圖的肉類因浸過高濃度(5%)的醋酸使得肉表面上的蛋白質變質，讓表面呈現不新鮮的白色，不像剛買時的紅潤，呈現出蛋白質變性的結果。而浸泡其他溶液的肉卻還是維持原本的鮮紅。

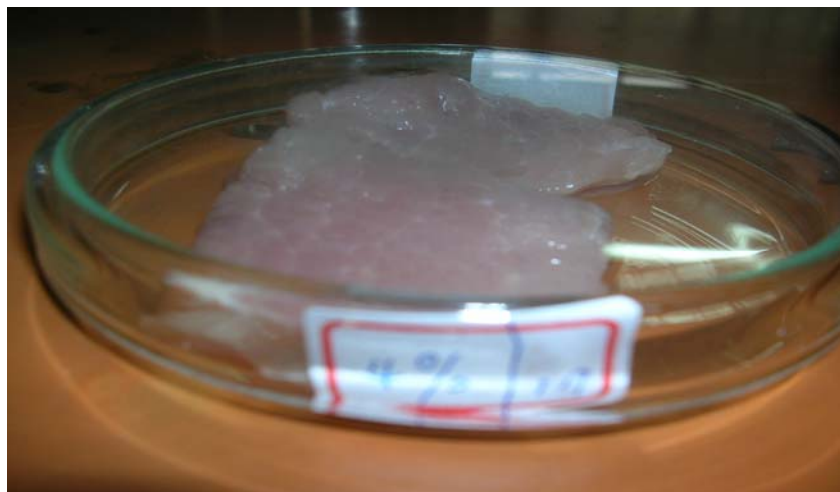
此外，因為沒有將浸泡過溶液的豬肉完全吹乾，而使殘存的溶液讓肉類的滲透壓有所改變，造成肉類的出水嚴重，無法將幾丁聚醣形成一層膜來保護肉類，影響到幾丁聚醣的保鮮程度，在一天後拿出來就有嚴重的發臭情形，所以在之後的實驗我們將會用電風扇將它吹乾，增加它的保鮮效果。



未經電風扇吹乾處理↑



浸泡太高濃度的醋酸↑



經過改進後的浸置4%幾丁聚醣溶液的肉片↑，看起來不但沒有出水且顏色也是新鮮的紅色，在pH值的變化值也相差很小，可說比其他處理方式的肉有更好的保鮮效果。

右圖為我們配製的更高濃度之幾丁聚醣溶液，由左到右分別是蒸餾水、3%醋酸、4%幾丁聚醣溶液、6%幾丁聚醣溶液、8%幾丁聚醣溶液，和水的外觀的差別很明顯。→



右圖為我們用電風扇吹乾肉類上的溶液，以利幾丁聚醣形成一層保護膜包裹在肉類外層，提高它的保鮮效果。這次我們將肉類放置2小時，讓它蔭乾的更完全，之後來看就真的形成了一層膜了。→



右圖為我們嘗試將肉放置三天後的成果，本來認為做了那麼多改良之後會有很好的成效，所以才將它放在 25°C 的保溫箱，可是效果卻不甚理想，而且在圖中還有肉變黑，甚至還有發霉呢！→



柒、討論

一、 醋酸濃度的影響：

一般幾丁聚醣多溶於 5% 醋酸溶液中以進行應用，本實驗剛開始也是如此，然而卻發現，將肉類放置於 5% 醋酸溶液以及其他幾丁聚醣的醋酸溶液中，肉類表面均呈現出白化的現象，原本鮮紅色的肉類轉眼間變白色，我們推測，這可能是因為醋酸濃度過高，導致於蛋白質變性所造成，這種肉類變色的現象，在我們將醋酸濃度調降為 3% 之後不再出現。

二、 肉上的溶液乾燥程度對肉的影響

在前兩次實驗中，浸泡溶液後的肉類並沒有蔭乾，放置於室溫下 24 小時後會有出水發臭的現象，而且幾丁聚醣濃度越高，出水量有增多的現象，而浸置蒸餾水的處理則反而呈現較為乾燥的現象，我們推測，這可能是幾丁聚醣醋酸溶液滲透壓較肉類細胞高，因此細胞內的水分順著滲透壓的差異跑到細胞外，造成出水的現象，然而這種出水的現象會造成肉類長時間浸泡於滲透的水溶液中，反而加速肉類腐敗的速度，產生較嚴重的腐臭味出現。這種出水的現象，在我們將浸泡溶液後的肉類蔭乾後不再出現。

三、 pH 值始末相差的關係

由我們的實驗數據中 pH 值的差得知，所有的肉在常溫(25°C)下放置了一天以後，pH 值有升高的傾向，不論是浸泡過蒸餾水、醋酸或者是各種濃度的幾丁聚醣溶液都呈現出一樣的結果。一般來說，大家都認為食品放久之後會變酸，但我們的實驗卻發現有 pH 值有升高的現象 (Fig 1, 4, 7)，這可能是因為實驗中測量 pH 值的方式是直接將肉類浸置於蒸餾水中 3 分鐘後測量，測量出的 pH 值是肉類表面的酸鹼值變化，若細胞內酸腐敗的物質沒有釋出細胞外，就無法真正反映出實際的數值變化。不過若將反應後的 pH 值減掉反應前的 pH 值，所得到的 pH 相差值卻有不錯的規律性出現 (Fig 2, 5)，當幾丁聚醣的濃度逐漸提高，pH 相差值逐漸減小，顯示幾丁聚醣在縮小反應前後的 pH 相差值有不錯的成效。

四、 電導度始末相差的關係

電導度的差距根本沒有有理可循的模式以提供我們做參考 (Fig 3, 6)。有時電導度的變化量是負的，有時卻又是正的，而且變化的幅度有時候很大，有時候卻又很小，這可能是幾丁聚醣和醋酸影響電導度，因此在肉類上殘留的這些物質，間接的影響最終電導度的數值，因此並不適合做為鮮度判別的參考。

五、 測定 pH 值的方式對實驗準確度的影響

原先只讓浸泡在各種溶液的豬肉再次浸泡在蒸餾水中來測定水的 pH 值，這種測定方法只有檢測到豬肉表面上的酸鹼度卻無法得到整塊豬肉真正的 pH 值。在第四次實驗中，我們在書籍上和前人的經驗中找到新的測定方法：將每片肉類用磅秤測量完重量在以 1:9 的比例配置蒸餾水溶液，這可以依每片肉類的重量的不同測得較準確的數值，之後再放入果汁機打碎，能得到整片豬肉完整的 pH 值，所得的 pH 值穩定性雖較高 (Fig 7)，但將反應後的 pH 值減掉反應前的 pH 值，所得到的 pH 相差值卻沒有出現上述相同的規律性，各組處理前後 pH 相差值相近，沒有明顯的差異 (Fig 8)。

六、 幾丁聚醣對肉類的保鮮功效

在第二次實驗中，醋酸溶液調整為 3%，此濃度不會造成肉類蛋白質變性白化，同時浸泡完不同濃度的幾丁聚醣醋酸溶液後，將肉類放置於電風扇前吹拂加速蔭乾，避免滲透壓的差異造成出水發臭，然而經過這樣的處理之後，肉類放置於 25°C 恆溫箱中三天後，所有的處理皆有發霉的現象出現，有些處理甚至有變黑的情況出現，此結果顯示，雖然幾丁聚醣醋酸溶液蔭乾之後，會在肉類表面形成一層透明的保護膜，然而仍無法抵擋肉類發霉腐敗變黑的現象出現，因此如果要將幾丁聚醣應用於鮮肉的保鮮，單純將幾丁聚醣附著於肉類表面的方法，無法達到有價值性的保鮮成果。

捌、 結論

參考了網路上有關利用幾丁聚醣來進行保鮮實驗的論文後發現，他們都是對蔬果類來當實驗對象，有個實驗取荔枝來實驗就非常成功，但為何我們所做的實驗卻無法有明顯的成效？答案可能就在於植物和動物細胞的差別，由於蔬果等植物有層細胞壁，本身保鮮程度就較肉片為佳。而在肉類的保鮮上，幾丁質和幾丁聚醣只見於應用在加工肉類食品的保鮮，如添加於香腸絞肉中，可延長香腸的保存期限。由此可見，幾丁聚醣要應用於鮮肉的保鮮可能有其困難度，或是有些技術性的問題無法突破，所以我們得到的結論是：「雖然幾丁聚醣，有其一定的效用，但成本昂貴，而且對於鮮肉的保鮮也是大大的不足！」

未來方向

近來它已被廣泛用於植物保鮮，我們將竭盡所能的研究幾丁聚醣用於肉類保鮮方面的效用，希望未來能取代對人體有害的防腐劑而改使用蝦殼提煉出來的幾丁聚醣，我們之後也會嘗試用其他方法，如：將它和肉完全的混合，而不是僅包裹在外層而已，像灌香腸等方式就是未來可以嘗試的方法，雖然到現在將近一年的實驗時間還不能充分了解幾丁聚醣的成效，但我們相信在未來皇天不負苦心人，我們一定能研究出幾丁聚醣對於保鮮的成效的！

玖、參考資料及其他

一、 書籍

(一)科學發展 --- 2003 年 九月 369 期

(二)康寧學報 --- 第八期 民國 95 年六月

(三)幾丁聚醣在草莓保鮮之應用 --- 81 學年度研究生 國立台灣大學 鍾穎健

二、 網路

(一)全國碩博士論文。 <http://etds.ncl.edu.tw/theabs/index.jsp>

(二)華文生技網。 http://www.bioweb.com.tw/feature_content.asp

【評語】 040707

1. 能由蝦蟹殼中萃取幾丁聚醣，測試反應濃度，溶解度等條件，實驗精神可佳。
2. 實驗用材料的前處理及變因控制應加強。
3. 測試肉類保鮮實驗可加入微生物檢測步驟。