

# 中華民國第 64 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 化學科

030206

「鳳」中奇緣 - 探討鳳梨牛奶的反應情形及其應用

學校名稱： 高雄市立陽明國民中學

作者：  國二 黃榮  國二 楊藝  國二 黃聖承	指導老師：  翁郁凰
---	------------------

關鍵詞： 鳳梨、牛奶、鳳梨酵素

## 摘要

鳳梨牛奶會產生結塊的主因來自鳳梨酵素會和牛奶中的蛋白質反應。研究發現鳳梨果肉所含蛋白質比果心多、抗氧化力亦高於果心，pH 值則與果心無明顯差異。另測得酪蛋白還原碘能力最佳，清除 DPPH 自由基及還原力則分別是乳清蛋白及牛奶最佳。將相同 pH 值的鳳梨汁、鹽酸及醋酸加牛奶，鳳梨汁能產生顯著沉澱，而酸和鳳梨酵素與牛奶反應的產物不同，會進而影響澄清液的 pH 值變化。此外，鳳梨酵素在果心部位活性較高，經 60°C 處理果肉汁及 80°C 處理果心汁與自行萃取的果肉酵素對蛋白質反應性較高。由於鳳梨水解酪蛋白較醋酸水解酪蛋白的抗氧化力佳，且反應愈久、還原碘的能力愈好，我們嘗試將鳳梨水解酪蛋白加入海藻酸鈉形成薄膜，但抗氧化力會隨時間漸減。

## 壹、研究動機

前陣子偶然看到了一篇標題名為「喝個飲料心好累？木瓜牛乳放久變苦還結塊是為啥！」<sup>[1]</sup>的文章，讓我們回想起小時候曾經把鳳梨加入牛奶中，想嘗嘗看味道如何，結果過了一小段時間發現，鳳梨牛奶變苦了，甚至產生了許多結塊的情形，我想鳳梨應是和木瓜一樣，都是因為酵素在作祟，但後來經過仔細查詢發現，牛奶在酸性環境也會結塊，於是我很好奇鳳梨牛奶結塊究竟是主要是因為酵素作用還是酸性環境所造成的呢？於是我們便開啟了此篇研究，希望能更深入了解鳳梨牛奶的特性及反應情形，並將成果加以應用在生活上。

## 貳、研究目的：

- (一) 測定鳳梨汁的 pH 值、抗氧化力及蛋白質含量等性質。
- (二) 測定牛奶的抗氧化力及蛋白質含量。
- (三) 探討鳳梨與牛奶的反應情形。
- (四) 製作鳳梨牛奶面膜。

## 文獻回顧：

鳳梨是台灣一年四季都可見到的水果，從鳳梨莖或果肉中可以萃取出蛋白質分解酵素，稱為鳳梨蛋白酶，又稱為鳳梨酵素，和木瓜酵素一樣，它們可以破壞肉類中的蛋白質，使其更柔軟美味，因此常作為有效的嫩肉劑，酵素作用的最適溫度為 50~60°C、有效 pH 值為 4.0~8.0。當鳳梨加入牛奶中，會產生蛋白質凝聚的現象，且經過一段時間後變得苦澀，這是因為牛奶中所含有的蛋白質主要為乳清蛋白與酪蛋白，其中酪蛋白佔總蛋白量約 80%，因表

面帶有負電特性而互相排斥，以懸浮狀態存在於我們平時喝的牛奶當中，若在這些帶有負電荷而相斥的酪蛋白微球中加入酸性物質，帶正電的  $H^+$  會中和酪蛋白微球間的負電荷，使其斥力減弱甚至消失，而呈現凝集沉澱現象，這也是製作蛋白質塑膠之原理，酪蛋白的等電點在 pH4.6，因此與酸性的鳳梨汁混合時便容易促使酪蛋白結構改變而形成凝乳狀，而另一方面，當牛奶中的酪蛋白遇到鳳梨中的蛋白質分解酵素時，酪蛋白會被分解為具有苦味的胜肽分子，進而影響鳳梨牛奶的風味及口感！

為了瞭解當鳳梨混合牛奶的反應情形，我們希望能測定牛奶中蛋白質含量的變化，查閱文獻後發現常用檢測及定量蛋白質的方法有數種，其中在我們實驗室的 Biuret Method 是利用含有兩個以上胜肽鍵化合物與硫酸銅鹼性溶液產生雙縮脲反應，使溶液成紫色，其顏色的深淺與胜肽鍵的數目成正比，因此可於 540nm 附近檢測其吸收度來決定蛋白質的量。此方法精確度較差(數 mg)，且會受樣本中硫酸銨及 Tris 的干擾，但準確度較高，不受蛋白質的種類影響。一般而言，分子量較小的蛋白 peptone 呈粉紅色，而分子量較大的卵蛋白(albumin)則呈藍紫色。

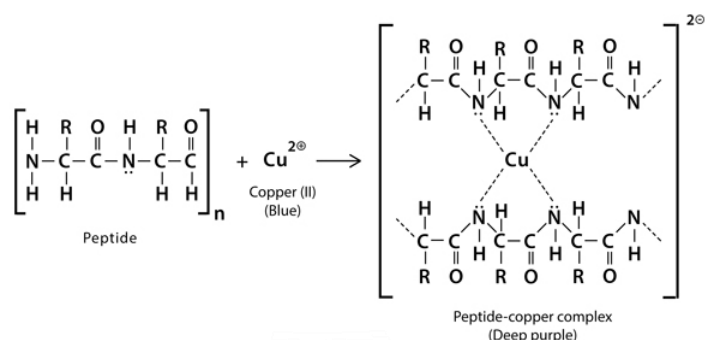


圖 1 雙縮脲反應<sup>[2]</sup>(取自 Chemistry Learner 「Biuret Test」)

另外，Bradford Method 則是利用考馬斯亮藍(Coomassie Brilliant Blue) G-250 染料在酸性溶液中會與蛋白質結合，使溶液的顏色由棕黑色變為藍色，染料的最大吸收峰的位置由 465nm 變為 595nm，因此在 595nm 下測定的吸收度與蛋白質濃度成正比，此方法靈敏度高、測定快速、干擾物質少。經研究認為，染料主要是與蛋白質中的鹼性胺基酸（特別是精氨酸）和芳香族胺基酸殘基相結合。在 pH 值約為 1 時，這種染料呈現綠色，最大吸收峰位於約 620nm

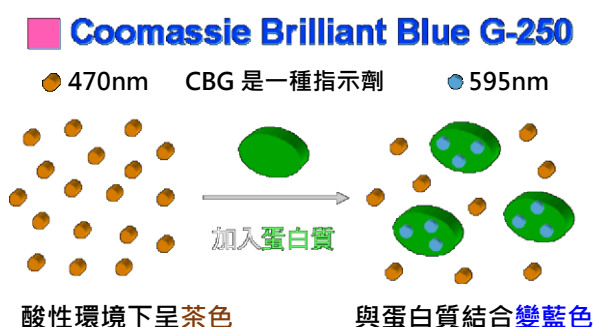


圖 2 考馬斯亮藍染料與蛋白質反應示意圖<sup>[3]</sup>(取自莊榮輝網頁系統「Coomassie Blue 蛋白質定量法」)

處。當 pH 高於 2 時，這種染料呈現一種亮藍色。

查閱歷屆科展中，以添加物與牛奶中的蛋白質反應相關的研究主要如下：

屆別	題目名稱	研究重點	啟發
58 屆 全國 科展	揭開薑汁撞奶 的神秘面紗 <sup>[4]</sup>	薑汁撞奶會產生凝固是牛奶中的酪蛋白與薑汁蛋白酶發生反應。其中，使用全脂奶粉濃度大於 12% 可以像鮮奶一樣與薑汁產生明顯凝固，使用脫脂奶粉則要 17%。	為了方便定量且避免脂肪影響鳳梨與牛奶中蛋白質的作用，因此我們選定脫脂牛奶來進行研究。
51 屆 全國 科展	少年起司的奇幻漂流~探討牛奶與豆漿的凝乳現象 <sup>[5]</sup>	瞭解酸、乳酸菌、凝固劑、加熱溫度及時間等因素對凝乳現象的影響。研究發現酸對牛奶產生的凝乳現象與酸的種類及程度有關。	鳳梨汁的 pH 值變化可能影響研究結果，進行實驗設計時應需要對此加以控制。

由於鳳梨中富含多種維生素，其中維生素 C 的含量高達蘋果的 5 倍，因此具備抗氧化力，而牛奶中亦有數種維生素 B 及葉酸等抗氧化物質，我們想了解當兩者混合時，其抗氧化力是否會受到影響，因此以下列兩種方法測定其抗氧化力：

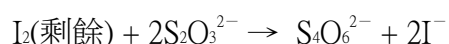
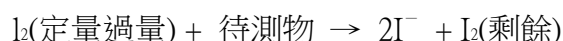
(一) 碘滴定法：

1. 直接滴定法：

將具有抗氧化力的待測物加入澱粉指示劑，再使用碘液直接進行滴定，黃褐色的碘分子(I<sub>2</sub>)與待測物反應能還原成無色的碘離子(I<sup>-</sup>)，當待測物與碘分子反應完全後，過量的碘分子無法再還原成碘離子而與澱粉指示劑結合成藍色的錯合物，便達滴定終點，因此達滴定終點所需的碘液愈多，則待測物的抗氧化能力愈佳。

2. 間接滴定法：

將具有抗氧化力的待測物加入過量的碘液，使待測物與碘易完全反應，再利用硫代硫酸鈉將剩餘的碘液還原，使其從黃褐色變為透明無色即達滴定終點，若硫代硫酸鈉加的愈少，代表待測物抗氧化力愈好，其反應式如下：



## (二)清除 DPPH 自由基能力測定：

DPPH 本身是一種穩定的自由基，溶於甲醇或乙醇中呈紫色，在 517nm 下有強的吸收度，當加入的待測物和 DPPH 自由基反應 ( $\text{DPPH} \cdot + \text{AH} (\text{抗氧化劑}) \rightarrow \text{DPPH}_2 + \text{A} \cdot$ )，會阻止 DPPH 自由基進行連鎖反應，使溶液顏色轉成黃色，即表示加入的待測物具有捕捉 DPPH 自由基的能力，而溶液呈現的顏色愈淡、吸收度降低愈多，代表清除 DPPH 自由基的能力愈佳，因此我們可以利用待測物清除 DPPH 自由基的清除率來評估抗氧化物的抗氧化

能力，其計算的方式為：清除率 =  $1 - \frac{\text{樣品於 } 517 \text{ nm 之吸收度}}{\text{未添加樣品之控制組於 } 517 \text{ nm 之吸收度}} \times 100\%$

## (三)還原力測定：

還原力是一種用來評估待測物中還原性物質的能力的指標。當待測物中的還原性物質將赤血鹽 ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) 還原成黃血鹽 ( $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ )，黃血鹽會與  $\text{Fe}^{3+}$  反應形成普魯士藍，在 700nm 下有強的吸收度，在此波長的吸收度愈高，表示待測物的還原力愈佳。

我們在圖書館偶然發現一本名為「牛奶面膜 DIY」<sup>[6]</sup>的書，書裡介紹了一些蔬果汁加牛奶後可做成具抗氧化力的面膜，引發了我們的興趣，由於使用抗氧化劑可以幫助清除自由基，保護皮膚細胞免受傷害，於是我們思考利用鳳梨做面膜的可行性，歷屆科展對於抗氧化物質的研究不少，而應用於皮膚上製成環保面膜的研究各自有不同取材，例如：

屆別	題目名稱	研究重點	啟發
55 屆 全國 科展	黃豆的「膜」 法-探討豆漿 膜的特性及其 應用 <sup>[7]</sup>	探討加熱豆漿時所產生的膜用於面膜的可行性。研究發現胜肽(蛋白)也常添加於精華液中，實驗中以雞蛋的稀蛋白作為蛋白質的來源，評估面膜對其吸放能力。	我們用鳳梨加牛奶所沉澱的酪蛋白，是否也有製作面膜的可行性？

綜上所述，我們希望應用鳳梨與牛奶反應後的抗氧化力，結合酪蛋白在水分蒸發後能相互交聯的特性製作出天然環保的面膜。

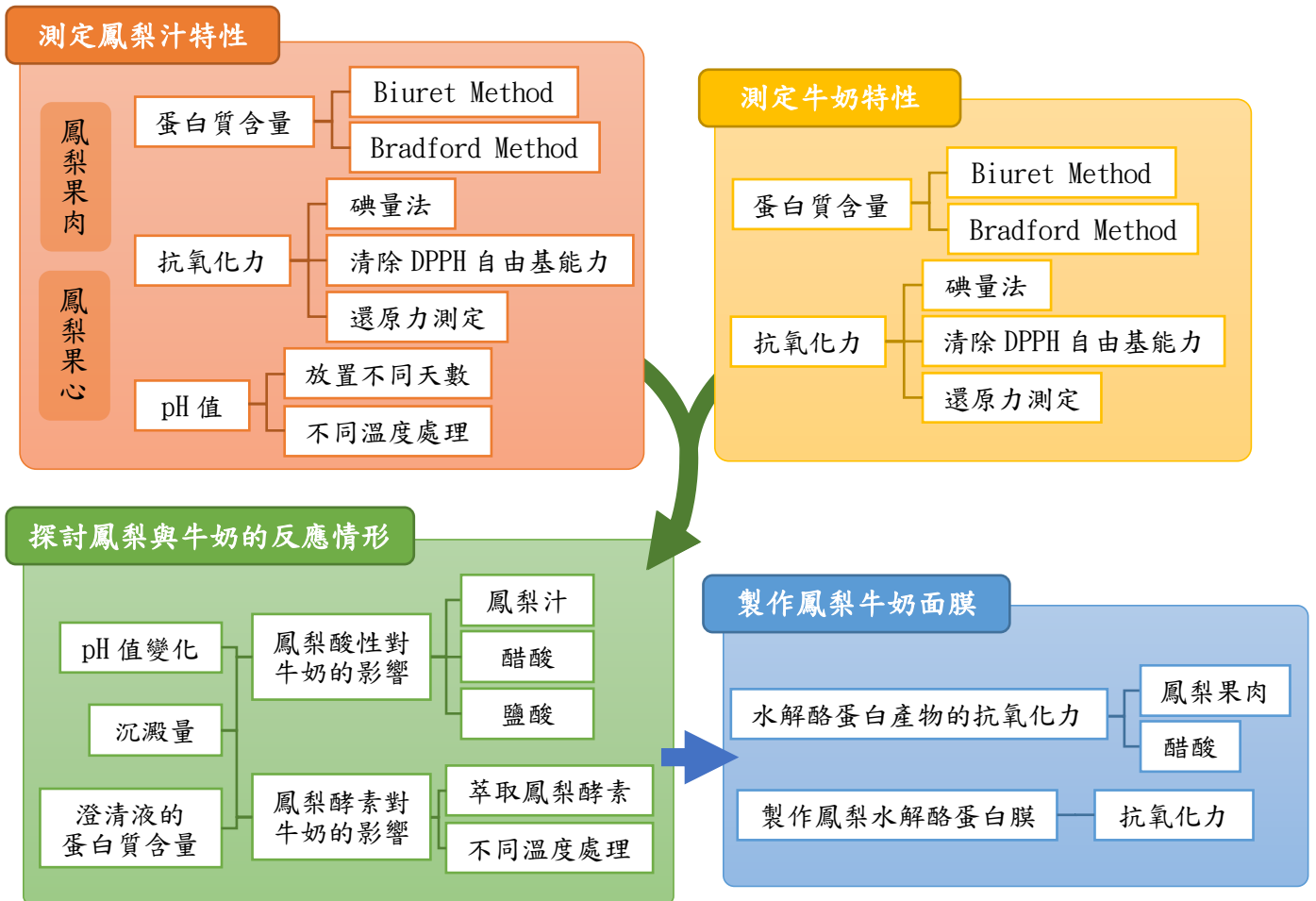
## 參、研究設備及器材

	燒杯、滴管、試管、量筒、玻棒、錐形瓶、溫度計、培養皿、滴定管、抽濾瓶、布式漏斗、安全吸球、分度吸量管、定量瓶、攪拌子、離心管、果汁機、豆漿袋、樣品瓶			
器材、儀器	 <p style="text-align: center;">烘箱</p>	 <p style="text-align: center;">離心機</p>	 <p style="text-align: center;">磁石攪拌加熱器</p>	 <p style="text-align: center;">Vernier pH 計</p>
	 <p style="text-align: center;">Vernier 分光光度計</p>	 <p style="text-align: center;">抽濾裝置</p>	 <p style="text-align: center;">恆溫循環水槽</p>	 <p style="text-align: center;">pH 計</p>
藥品	去離子水、氫氧化鈉、醋酸、鹽酸、碘化鉀、碘酸鉀、硫代硫酸鈉、硫酸銅、酒石酸鉀鈉 ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )、濃氨水、硫酸銨、乳清蛋白、酪蛋白、考馬斯亮藍 G-250、磷酸、乙醇、維生素 C、赤血鹽、三氯醋酸、氯化鐵、磷酸鉀、磷酸二氫鉀。			 <p style="text-align: center;">脫脂奶粉</p>



## 肆、研究過程與結果

### 一、研究流程與重點



### 二、研究過程與結果

#### 研究(一) 測定鳳梨汁的特性

由於鳳梨切開後，周圍的果肉和中間的果心樣貌很不一樣(如照片 1)，包含顏色、硬度、汁液量等等，我們以台灣產量最大、市面上最易買得的金鑽鳳梨為研究對象，為了了解其果肉和果心是否具有性質上的差異，我們將新鮮鳳梨編號後，切分成果肉及果心來製作果汁，方法如下：

- 1、分別將鳳梨果肉及鳳梨果心以果汁機打成果汁(不加水)。
- 2、將兩種果汁分別倒入豆漿袋以濾出鳳梨纖維。
- 3、將豆漿袋濾出的濾液再經抽氣過濾，得到清澈的鳳梨果肉汁和鳳梨果心汁。
- 4、將鳳梨果肉汁及果心汁分別測量其 pH 值後，放入冰箱冷藏備用。使用時先退冰使其



回到室溫。

### 實驗 1 測定鳳梨汁中蛋白質的含量—Biuret Method

▶想法：我們想了解鳳梨酵素在鳳梨果肉及果心汁之分布情形。因酵素是由蛋白質組成，因此我們利用雙縮脲法來進行實驗。

配製雙縮脲試劑：

- 1、取 1.5g 的硫酸銅、0.6g 酒石酸鉀鈉、0.3g 氫氧化鈉，分別加入少許純水使其溶解。
- 2、將氫氧化鈉及酒石酸鉀鈉溶液倒入 100mL 定量瓶中，再加入硫酸銅溶液，以純水稀釋定量至 100 mL 即可。

實驗步驟：

- 1、分別取 1 mL 的鳳梨果肉及鳳梨果心汁，各加入 3 mL 雙縮脲試劑。
- 2、攪拌使溶液均勻混合後，靜置 30 分鐘。
- 3、以分光光度計檢測溶液的吸收度，取最大吸收的波長讀取其吸收度，並記錄結果。

▶結果與討論：

1. 由於酵素本身為蛋白質，原本我們想藉由測定鳳梨果肉及果心中的蛋白質含量，了解鳳梨中酵素含量的分布情形，然而我們發現果肉及果心汁加了雙縮脲試劑 20 分鐘後，溶液皆會由原來的藍色逐漸變成橘黃色（如照片 2），放置的時間再更久甚至底部會產生紅色沉澱，應是鳳梨果汁中具有某些抗氧化劑能使雙縮脲試劑中的銅離子被還原。
2. 由於利用雙縮脲試劑會被還原，而使得利用 iuret Method 檢驗鳳梨中的蛋白質含量受到干擾，因此我們決定改用不受此干擾的 Bradford Method 來定量鳳梨中的蛋白質。



### 實驗 2 測定鳳梨汁中蛋白質的含量—Bradford Method

配製考馬斯亮藍試劑：

- 1、取 0.01g 考馬斯亮藍粉末，加入 5mL 乙醇，再加入 12mL 的 85%磷酸混合均勻。
- 2、將溶液倒入 100 mL 的定量瓶中，以去離子水定量至 100 mL 即為考馬斯亮藍試劑。

實驗步驟：

- 1、將鳳梨果肉及果心汁稀釋 10 倍，分別各取 1mL 於試管中。
- 2、兩試管內各加入 5mL 考馬斯亮藍試劑，靜置 5 分鐘後，將溶液以分光光度計測量波長 595nm 的吸收度並記錄。



➤結果與討論：

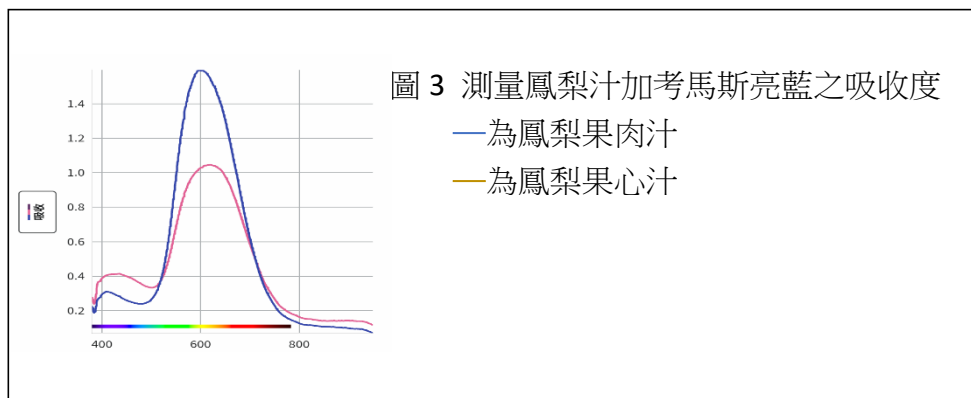


表 1 以 Bradford Method 測定不同部位鳳梨汁中的吸收度

不同部位鳳梨汁		鳳梨果肉	鳳梨果心
595 nm 吸收度	第 1 顆	0.985256	0.410120
	第 2 顆	1.442401	1.136728
	第 3 顆	1.279481	0.657598

由實驗結果可以發現，不同顆鳳梨中果肉和果心所含的蛋白質量有明顯差異，但比較每顆鳳梨果肉與果心部位的蛋白質含量，果肉皆多於果心。

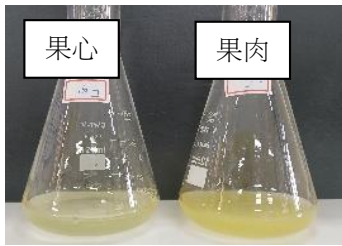
### 實驗 3 以碘量法測定鳳梨汁之抗氧化能力

➤想法：由於鳳梨汁能還原雙縮脲試劑中的銅離子，經查閱文獻後發現，鳳梨富含具抗氧化力的維生素 C，那麼鳳梨果肉及果心的抗氧化能力是否相同呢？我們參考正修科大實驗課程<sup>[9]</sup>中測定果汁抗氧化力的方法，以碘量法來測定鳳梨汁的抗氧化力。

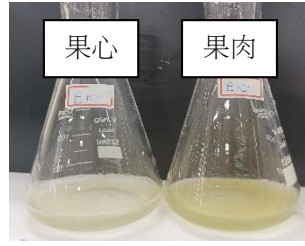
➤步驟：

- 1、配製碘液：精秤 0.1g 乾燥的碘酸鉀及 2g 的碘化鉀於燒杯中，加入 50 mL 的純水使其溶解，再加入 1 mL 的濃鹽酸，將溶液移至定量瓶，以純水稀釋定量至 250 mL。
- 2、配置澱粉液：取 2 克澱粉，先加入 20 mL 純水，攪拌均勻後再倒入 80 mL 沸水混合均勻。
- 3、分別取 100 mL 的鳳梨果肉及鳳梨果心汁液於燒杯中（照片 3），加入 0.2 克草酸作為抗氧化劑，攪拌至溶解後，再加入兩小匙活性碳脫色。
- 4、將果汁進行抽氣過濾，得到顏色較淡的果汁，如照片 4。
- 5、分別取 20 mL 的鳳梨果肉及鳳梨果心汁液於 100 mL 的錐形瓶中，各加入 1 mL 澱粉液。
- 6、以碘液進行滴定，記錄果汁呈藍色且持續 30 秒不褪色（照片 5）所需的碘液體積。

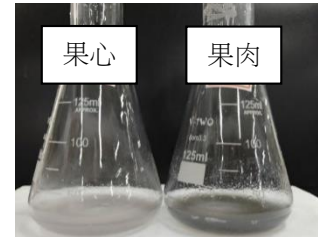
➤結果與討論：



照片 3 鳳梨果心及鳳梨果肉原汁



照片 4 鳳梨果心及鳳梨果肉汁經活性炭脫



照片 5 鳳梨果心及鳳梨果肉汁達滴定終點的顏

表 2 碘量法測定不同部位鳳梨汁可中和的碘液體積

不同部位鳳梨汁		鳳梨果肉	鳳梨果心	維他命 C
滴入的碘液的量 (mL)	第 1 次	2.45	2.00	15.00
	第 2 次	2.46	2.10	17.10
	第 3 次	2.42	2.05	17.30
	平均	2.44	2.05	16.47

1. 以碘量法滴定鳳梨汁時，由於鳳梨汁為黃色溶液，藉由加入活性炭脫色，可以減少對判斷滴定終點的干擾。
2. 由於碘酸鉀和碘化鉀在酸中的反應方程式為： $\text{IO}_3^- + 5\text{I}^- + 6\text{H}^+ \rightarrow 3\text{I}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$

我們所配製的碘液濃度為： $\frac{0.1}{\frac{214}{250}} \times 3 = 0.0056\text{M}$ ，鳳梨果肉的抗氧化力較高於鳳梨果心。

#### 實驗 4 測定鳳梨汁清除 DPPH 自由基能力

➤想法：由碘量法測定的抗氧化力方法雖然簡單，但容易受到以肉眼判斷滴定終點的人為誤差影響，因此我們進一步測定不同部位鳳梨汁的清除 DPPH 自由基能力及還原力，並比較不同顆鳳梨之間是否存在差異。

➤步驟：

- 1、配製 0.1M DPPH 乙醇溶液：
  - (1) 精秤 0.004g DPPH 置於燒杯中，加入 50mL 乙醇使其均勻溶解。
  - (2) 將溶液移至 100mL 定量瓶，以乙醇定量至 100mL 即可。
- 2、分別取 3.5 mL 的鳳梨果肉及鳳梨果心汁液，各加入 7 mL DPPH 試劑。
- 3、攪拌使溶液均勻混合後，避光靜置 30 分鐘。
- 4、以分光光度計檢測溶液於 517 nm 的吸收度，記錄結果並計算清除率。

➤結果與討論：

表 3 不同部位鳳梨汁清除 DPPH 自由基的能力

不同部位 鳳梨汁	鳳梨果肉		鳳梨果心		維他命 C	
	吸收度	清除率(%)	吸收度	清除率(%)	吸收度	清除率(%)
第 1 顆	0.1022	80.91%	0.1498	72.02%	0.0593	96.96%
第 2 顆	0.0657	87.73%	0.1783	66.70%		
第 3 顆	0.3265	39.02%	0.3574	33.25%		

在不同顆鳳梨中，鳳梨果肉清除 DPPH 自由基的能力皆較鳳梨果心為佳，與碘滴定法所得抗氧化力的結果一致。

### 實驗 5 測定鳳梨汁的還原力

➤ 步驟：

- 1、取 2.5mL 的磷酸鉀緩衝液(pH6.6)，分別加入 10mL 鳳梨果肉汁、鳳梨果心汁。
- 2、各加入 2.5mL 的 1%赤血鹽溶液，以 50°C 水浴 20 分鐘後靜置使其冷卻。
- 3、各加入 2.5mL 的 10%三氯醋酸，放入離心機離心 10 分鐘。
- 4、分別取 1mL 上澄清液，稀釋 20 倍。取出 5mL 稀釋溶液加入 5mL 去離子水。
- 5、1mL 的 0.1%氯化鐵溶液，以分光光度計測量在 700 nm 之吸收度並記錄。

➤ 結果與討論：

表 4 不同部位鳳梨汁的還原力

不同部位鳳梨汁		鳳梨果肉	鳳梨果心	維他命 C
700 nm 吸收度	第 1 顆	0.8079	0.7500	1.0152
	第 2 顆	0.5037	0.4166	
	第 3 顆	0.5512	0.4426	

在 700 nm 測得的吸收度愈高，代表還原力愈佳。由實驗結果發現在不同顆鳳梨中，鳳梨果肉的還原力皆較鳳梨果心為佳，與碘量法所得抗氧化力的結果亦相同。

### 實驗 6 檢測鳳梨汁的 pH 值隨時間的變化

➤ 想法：鳳梨汁的酸鹼度是影響鳳梨牛奶結塊的重要因素之一，由於整個研究過程的天數很長，我們擔心鳳梨汁放久可能變質酸敗，所以我們紀錄了每顆新鮮鳳梨的 pH 值，並記錄部分鳳梨果汁隨著天數 pH 值的變化。

➤ 結果與討論：

不同部位鳳梨汁		鳳梨果肉				鳳梨果心			
放置天數		0天	1天	2天	3天	0天	1天	2天	3天
pH 值	第 1 顆	3.9	3.9	3.9	3.9	4.0	4.0	4.0	4.1
	第 2 顆	3.6	3.7	3.7	3.8	3.7	3.7	3.8	3.8
	第 3 顆	4.1	4.3	4.2	4.5	4.2	4.3	4.5	3.9
	第 4 顆	4.2	4.2	4.3	4.5	4.0	3.9	3.9	3.8
	第 5 顆	4.1	4.0	4.1	4.2	4.2	4.1	4.0	3.9
	第 6 顆	3.82	3.79	3.81	3.89	3.86	3.85	3.88	3.96

1. 在研究的過程中，雖然我們的 pH 計沒有溫度補償功能，但每日室溫都是介於 21~28°C 之間，溫度差異小，對測得的 pH 值影響有限。
2. 我們原先預想鳳梨汁放久可能會有酸敗的現象，pH 值會逐漸下降，但由實驗結果可以發現，果心與果肉的 pH 值無顯著差異，另外，隨著鳳梨汁放置天數增加，不同顆鳳梨的 pH 值無一致性的變化。
3. 大約從第 5 天起鳳梨汁表面會浮現很多小氣泡，有酒味產生，代表鳳梨汁發酵了！因此我們後續的實驗，為求鳳梨汁的新鮮，每顆鳳梨榨汁後只在 3 天內使用。

### 實驗 7 測定加熱至不同溫度的鳳梨汁 pH 值

►想法：由於酵素有利於適合作用的活性溫度，因此我們將鳳梨汁加熱至不同溫度，先觀察是否會影響其酸鹼值，後續再與牛奶混合觀察其反應情形。

►步驟：

- 1、取 10 個 20mL 的樣品瓶，其中 5 個裝入 20mL 鳳梨果肉汁，另 5 個裝入 20mL 鳳梨果心汁，蓋上瓶蓋。
- 2、各留 1 瓶鳳梨果肉汁及鳳梨果心汁以測定室溫下的 pH 值並貼上「室溫」標籤，剩餘果汁的則隔水加熱(照片 6)，至 40°C、60°C、80°C 時，分別取出 1 瓶果肉汁及果心汁貼上取出時的溫度標籤(照片 6)，待其冷卻到室溫後測定 pH 值並記錄。



照片 6 水浴加熱鳳梨汁至不同溫度



照片 6 不同部位的鳳梨汁加熱至不同溫度後冷卻至常溫

➤結果與討論：

表 6 加熱至不同溫度的鳳梨汁 pH 值

鳳梨汁加熱溫度		常溫	40°C	60°C	80°C
鳳梨果肉 pH 值	第 1 顆	4.3	4.3	4.3	4.3
	第 2 顆	4.1	4.2	4.2	4.2
	第 3 顆	3.6	3.6	3.6	3.6
	第 4 顆	3.86	3.85	3.85	3.85
	第 5 顆	3.46	3.55	3.54	3.58
鳳梨果心 pH 值	第 1 顆	4.1	4.1	4.1	4.1
	第 2 顆	4.2	4.2	4.2	4.2
	第 3 顆	3.7	3.7	3.7	3.7
	第 4 顆	4.03	4.00	3.97	3.98
	第 5 顆	3.52	3.39	3.42	3.44

為了避免在加熱的時候水分蒸發而對鳳梨汁的 pH 值造成影響，我們將鳳梨汁裝在瓶子裡，蓋上瓶蓋密封後隔水加熱，結果發現，同一顆鳳梨果汁加熱前後的 pH 值僅有微小差異，因此在後續實驗中，我們將鳳梨汁經不同溫度處理後的酸鹼值視為無變化。

## 研究(二) 測定牛奶的特性

### 實驗 1 製作乳清蛋白及酪蛋白檢量線

➤步驟：

1、配製乳清蛋白標準液：

- (1) 在燒杯中加入 0.1g 的乳清蛋白，並加入少許純水使其溶解。
- (2) 將溶解後的乳清蛋白加純水定量至 100 mL，即成乳清蛋白標準液。

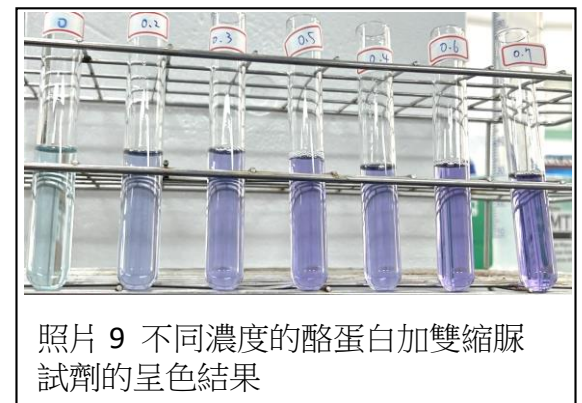
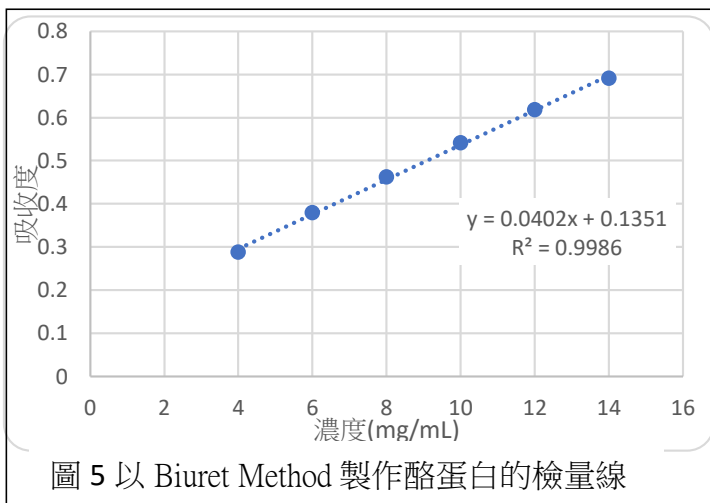
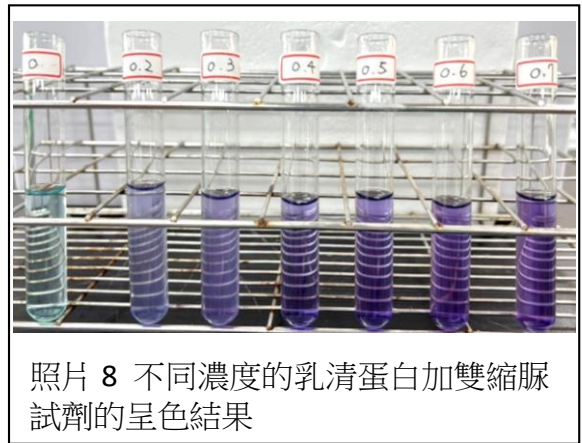
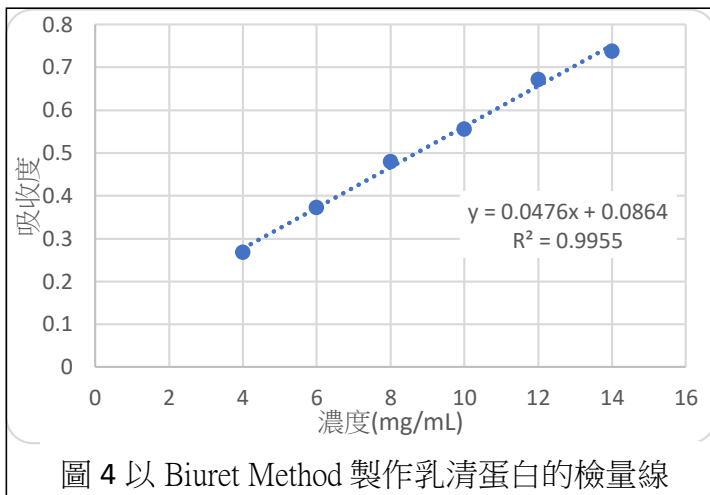
2、配製酪蛋白標準液：

- (1) 在燒杯中加入 0.1g 酪蛋白，加入少許水和 1mL 1M 氫氧化鈉。
- (2) 將溶液加純水定量至 100 mL，即成酪蛋白標準液。

3、各取七支試管，分別加入 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1mL 的蛋白質標準液，再以純水補充至 1 mL。

4、以 Biuret Method 測定各溶液於波長 545 nm 的吸收度，並記錄。

➤結果與討論：



配製好同濃度的乳清蛋白及酪蛋白加入雙縮脲試劑後的顏色略有不同，乳清蛋白的顏色稍深且偏紫，在 545 nm 的吸收度繪成檢量線後，發現乳清蛋白的斜率略高於酪蛋白，但各濃度的吸收度差異不大。

## 實驗 2 製作考馬斯亮藍蛋白質檢量線

### ➤ 步驟：

- 1、配製不同濃度之乳清蛋白、酪蛋白之溶液、牛奶。
- 2、以 Bradford Method 測定各溶液於波長 595 nm 的吸收度，並記錄。

### ➤ 結果與討論：



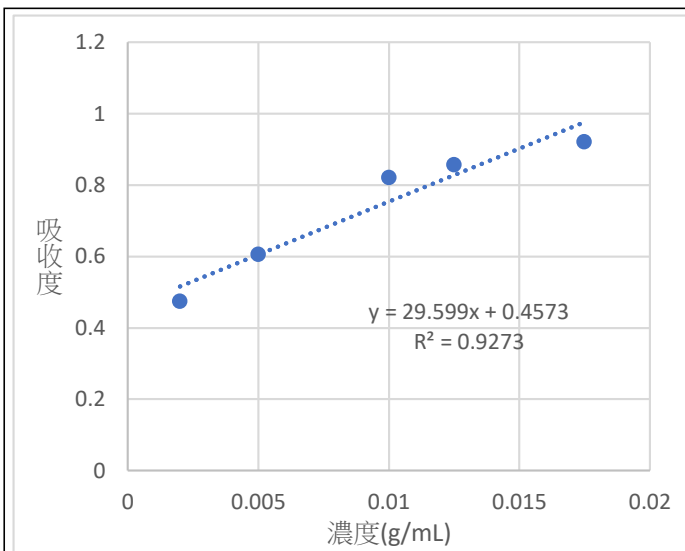
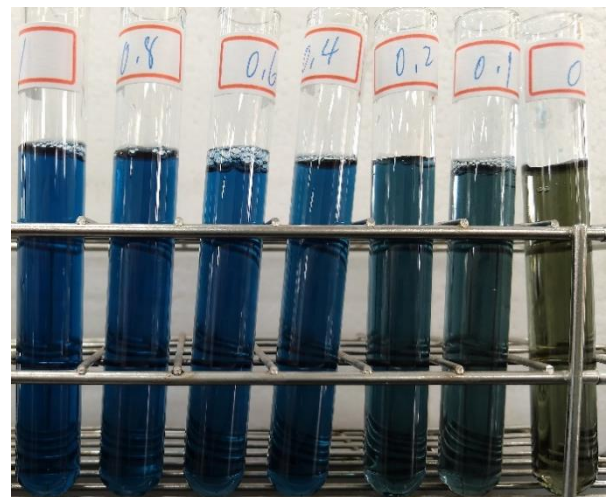


圖 6 以 Bradford Method 製作乳清蛋白檢量線



照片 10 不同濃度的乳清蛋白加考馬斯亮藍染劑的呈色結果

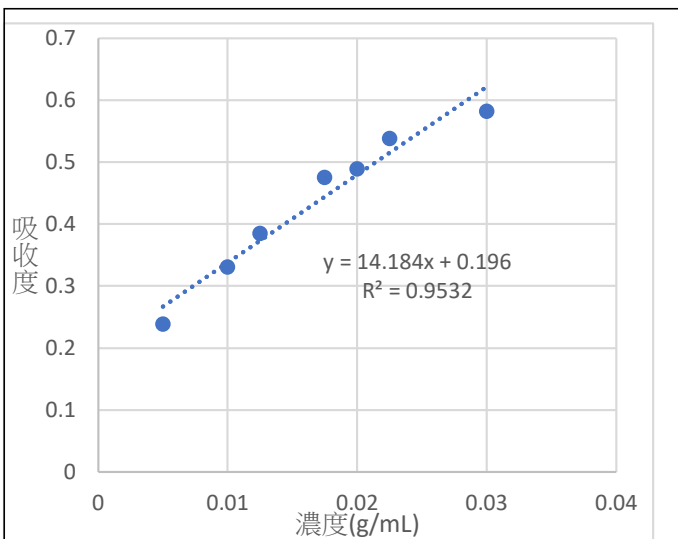
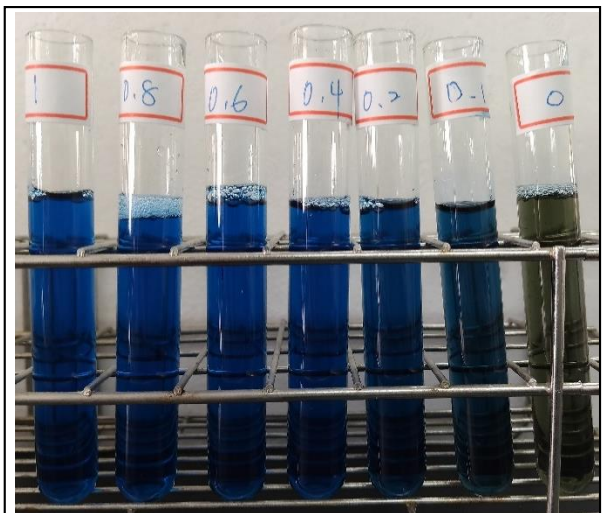


圖 7 以 Bradford Method 製作酪蛋白檢量線



照片 11 不同濃度的酪蛋白加考馬斯亮藍劑的呈色結果

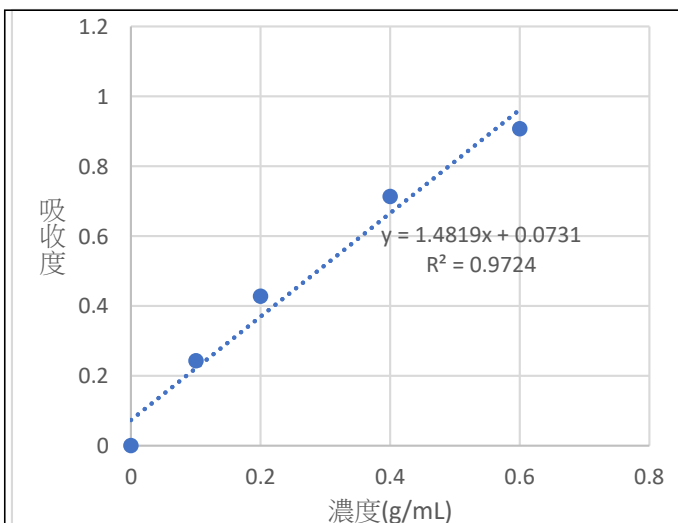
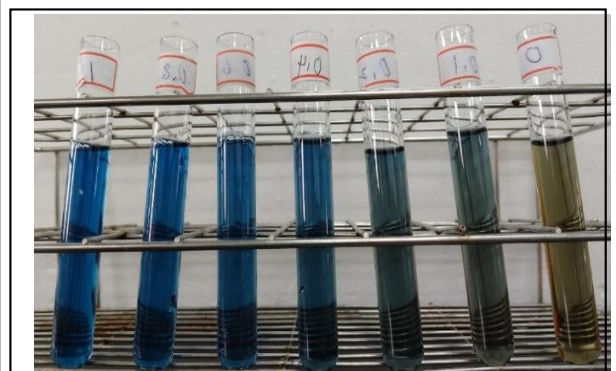


圖 8 以 Bradford Method 製作牛奶檢量線



照片 12 不同濃度的牛奶加考馬斯亮藍劑的呈色結果

1. 使用考馬斯亮藍試劑獲得的濃度對吸收度的關係並非是線性，因考馬斯亮藍試劑在加入較高濃度的蛋白質溶液中，吸收度變化會逐漸趨緩。因此我們盡量降低蛋白質溶液之濃度，來製作吸收度及濃度趨近線性關係之檢量線。
2. 乳清蛋白和酪蛋白在相同的濃度之下所測得的吸收度不同，因此若要測定蛋白質的濃度，不同種類的蛋白質應該各自建立自己的檢量線。

### 實驗 3 以碘量法測定牛奶之抗氧化能力

▶想法：由於我們發現牛奶會使雙縮脲試劑還原，因此我們以碘液測定牛奶的抗氧化能力。

▶方法：

- 1、分別配製 0.1%的牛奶、乳清蛋白溶液和酪蛋白溶液。
- 2、重複研究一實驗 3 的步驟，以碘液進行滴定，記錄所需的碘液體積。

▶結果與討論：

表 7 以碘量法測定蛋白質溶液可中和的碘液體積

乳製品	牛奶	乳清蛋白	酪蛋白
滴入的碘液(mL)	0.20	0.10	2.60
	0.25	0.08	2.55
	0.16	0.15	2.49
平均	0.20	0.11	2.55



照片 13 牛奶/乳清蛋白/酪蛋白溶液（加碘液前）



照片 14 牛奶/乳清蛋白/酪蛋白溶液（加碘液後）

使澱粉-碘呈色需要滴入的碘液越多，代表溶液還原碘的能力越好，由結果可知，酪蛋白的抗氧化力遠高於牛奶及乳清蛋白。

### 實驗 4 測定蛋白質溶液清除 DPPH 自由基之能力

▶想法：由於我們發現牛奶會使雙縮脲試劑還原，因此我們以清除 DPPH 自由基測定法來測定蛋白質溶液抗氧化能力。

▶實驗步驟：

- 1、 分別配製 0.1%的牛奶、乳清蛋白溶液和酪蛋白溶液。
- 2、 重複研究一實驗 4 的步驟，測定蛋白質溶液清除 DPPH 自由基之能力。

➤結果與討論：

表 8 測定蛋白質溶液清除 DPPH 自由基之能力

乳製品	牛奶		乳清蛋白		酪蛋白	
	吸收度	清除率(%)	吸收度	清除率(%)	吸收度	清除率(%)
第 1 次	0.441	56.86%	0.424	58.54%	0.562	45.08%
第 2 次	0.447	56.29%	0.437	57.32%	0.566	44.70%
第 3 次	0.430	57.94%	0.413	59.59%	0.552	46.05%
平均	0.440	57.03%	0.425	58.49%	0.561	45.28%

清除率越高，代表蛋白質溶液清除 DPPH 自由基能力越佳。經此實驗發現，乳清蛋白之清除 DPPH 自由基能力最佳，略大於牛奶，明顯高於酪蛋白。

### 實驗 5 測定蛋白質溶液之還原力

➤想法：因前兩者抗氧化力實驗得到的實驗結果不同，我們又再重新上網搜尋，決定利用還原力測定法來製作實驗。

➤實驗步驟：

- 1、 分別配製 0.1%的牛奶、乳清蛋白溶液和酪蛋白溶液。
- 2、 重複研究一實驗 5 的步驟，記錄牛奶、乳清蛋白、酪蛋白溶液在 700 nm 的吸收度。

➤結果與討論：

表 9 測定蛋白質溶液之還原力

乳製品		牛奶	乳清蛋白	酪蛋白
700 nm 吸收度	第 1 次	0.206	0.161	0.180
	第 2 次	0.196	0.184	0.172
	第 3 次	0.203	0.189	0.189
	平均	0.201	0.178	0.180

吸收度越高，代表蛋白質溶液還原力越佳。經此實驗發現，牛奶還原力略高於乳清蛋白與酪蛋白，而乳清蛋白與酪蛋白則無顯著差異。

## 研究(三) 探討鳳梨與牛奶之反應情形

### 實驗 1 鳳梨果汁和酸與不同濃度牛奶的反應情形

➤想法：為了瞭解鳳梨果汁與牛奶產生沉澱的主要因素是不是因為鳳梨汁的酸性造成，我們配製與鳳梨汁相同 pH 值的鹽酸和醋酸，來和不同濃度的牛奶反應，觀察其反應情形。

➤ 步驟：

- 1、 配製 1.5%、3%、4.5%、6%、7.5%、9%、12%、15% 的牛奶。
- 2、 將上述的牛奶分別取 5mL 放入離心管中，並各添加 5mL 的鳳梨果肉汁及相同 pH 值 (pH=4) 的鹽酸和醋酸，將其混合均勻後放入冰箱冷藏，靜置一天後取出。
- 3、 將各管溶液以 5000 rpm 離心 40 分鐘，各取上層澄清液 1mL 置於試管中。
- 4、 加入 3mL 雙縮脲試劑，並靜置 30 分鐘後將試管中溶液放入分光光度計，測量波長 545nm 的吸收度並記錄。
- 5、 步驟 3 中的各離心管，以傾析去除上清液後測量重量，扣除離心管重後即為沉澱物溼重。
- 6、 測量上清液的 pH 值並記錄。

➤ 結果與討論：

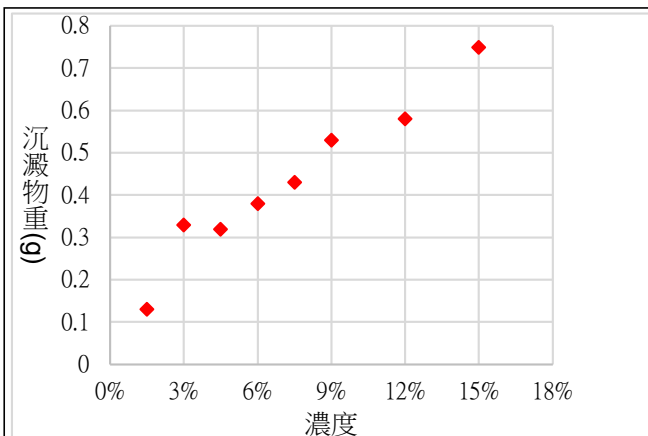
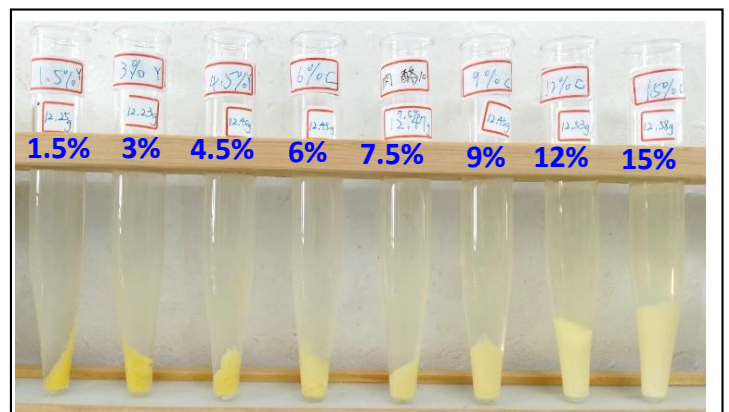


圖 9 鳳梨汁加不同濃度牛奶的沉澱量



照片 15 鳳梨汁加不同濃度牛奶，放置一天後離心

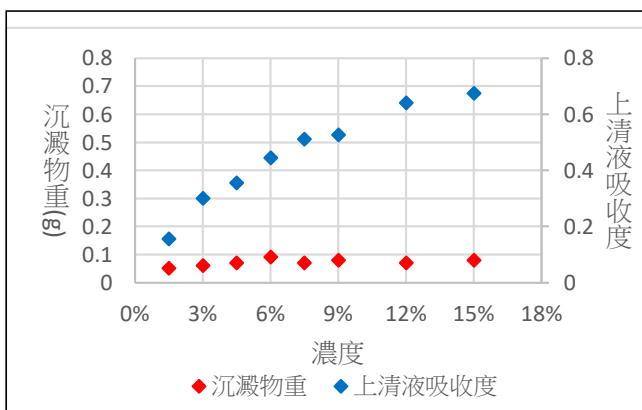
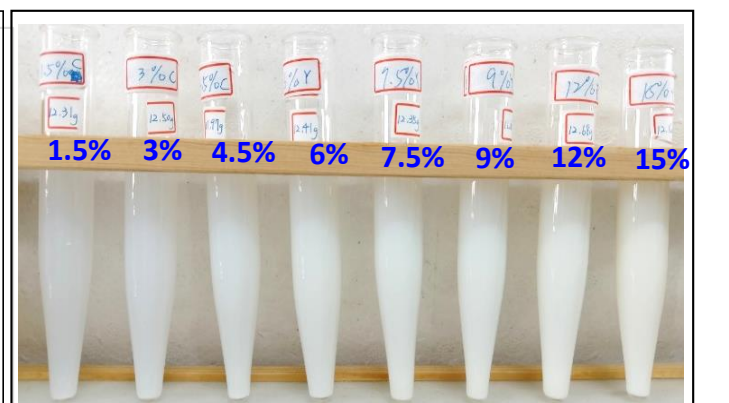
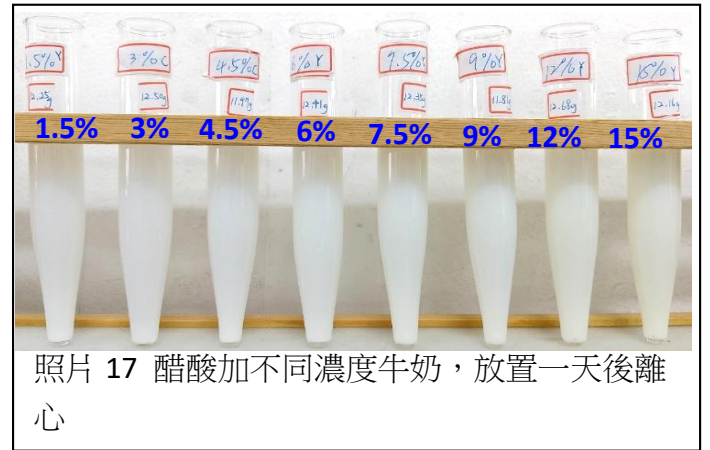
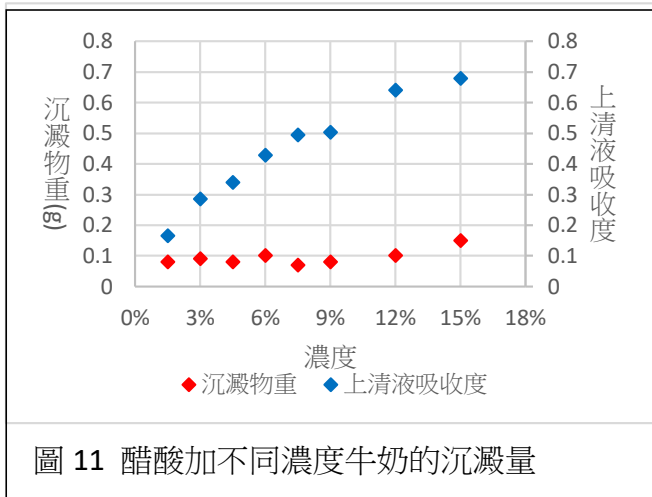


圖 10 鹽酸加不同濃度牛奶的沉澱量

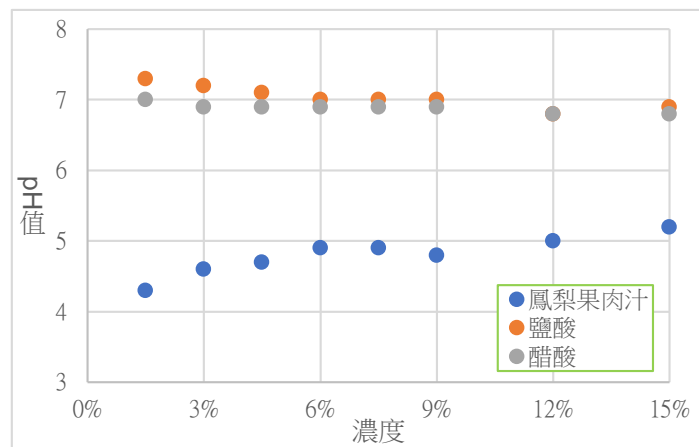


照片 16 鹽酸加不同濃度牛奶，放置一天後離心





- 由於加鳳梨果肉汁的牛奶相比加入其它酸類的牛奶結塊量明顯多很多，因此我們嘗試將沉澱物過濾出來，但卻發現鳳梨牛奶的沉澱物如泥狀，十分細緻，利用重力過濾十分緩慢，經過抽氣過濾後卻幾乎無法得到產物，因此我們將鳳梨牛奶以離心方式，將上清液傾析後測量沉澱物溼重，以鹽酸和醋酸加牛奶的沉澱物重亦以此方法測量。
- 我們觀察到加鳳梨汁的牛奶不只沉澱物最多，生成沉澱的速度也最快，且上清液最為澄清，因此我們進一步測量各生成物上清液的 pH 值(如圖 12)，發現加鳳梨汁的牛奶的酸鹼值比加入其他酸類的牛奶的酸鹼值有顯著不同。我們測量牛奶的原先的 pH 值為 6.6，加入 pH=4 的鹽酸和醋酸後 pH 值竟然上升至 7，由於酸和酵素皆能水解蛋白質成胜肽或胺基酸等產物，在經過一天的反應時間後，可以推論以鳳梨汁水解牛奶中的蛋白質產物主要為酸性，而以酸水解的產物則為中性或鹼性。



- 比較牛奶加入鹽酸和醋酸的結果，兩者上清液吸收度差異不大，且隨著牛奶的濃度提

高，吸收度幾乎呈線性變化，但醋酸能產生的沉澱物較鹽酸略多，可能是因為醋酸為弱酸，能與蛋白質上的胺基或羧基起到緩衝作用，而使 pH 值的變化較加入鹽酸小，由於酪蛋白的 pI 值為 4.6，越接近 pI 值，酪蛋白的沉澱量越多，而加入鳳梨汁的 pH 值最低且接近 pI 值，因此沉澱量最多。

## 實驗 2 鳳梨果汁和酸與不同濃度牛奶的反應情形

▶想法：由於含有鳳梨牛奶混合後無法以雙縮脲試劑測上清液的吸收度，因此我們另外以考馬斯亮藍試劑測量鳳梨果汁和酸與不同濃度牛奶反應後的上清液情形。

▶步驟：

- 1、配製 1.5%、3%、4.5%、6%、7.5%、9%、12%、15% 的牛奶。
- 2、將上述的牛奶分別取 5mL 放入離心管中，並各添加 5mL 的鳳梨果肉汁及相同 pH 值（pH=4）的鹽酸和醋酸，將其混合均勻後放入冰箱冷藏，靜置一天後取出。
- 3、將各管溶液以 5000 rpm 離心 40 分鐘
- 4、取鳳梨牛奶上層澄清液 1mL 置於試管中。
- 5、取鹽酸、醋酸牛奶稀釋 1000 倍，在取 1mL 到試管中。
- 6、加入 5mL 考馬斯亮藍試劑，並靜置 3 分鐘。
- 7、將試管中溶液放入分光光度計，測量波長 545nm 的吸收度並記錄。

▶結果與討論：

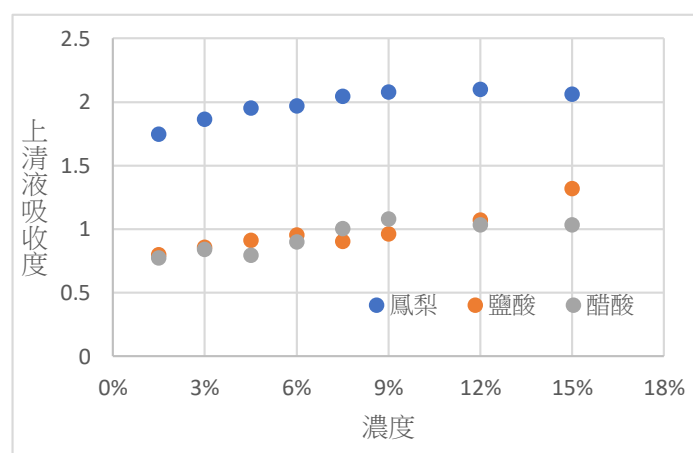


圖 13 酸加牛奶之上清液吸收度(鹽酸和醋酸加牛奶是稀釋 1000 倍的結果)

因為鹽酸和醋酸加牛奶後的上清液與考馬斯亮藍混合後的吸收度過大，分光光度計無法量測，因此我們將鹽酸和醋酸牛奶的上清液先稀釋 1000 倍後再加考馬斯亮藍，可得到圖 13 的結果，由實驗結果可以發現，鹽酸和醋酸加牛奶後所得的上清液吸收度相近，與實驗 1 中以雙縮脲測試的結果相同，當牛奶的濃度愈高，無法與定量的酸沉澱的蛋白質愈多，而使得上清液的吸收度愈高，而鳳梨汁可使牛奶中的蛋白質大部分都沉澱下來，故上清液所得的吸



收度較低，亦與實驗 1 結果相符。

### 實驗 3 鳳梨果汁和酸與在短時間內之 pH 值變化

➤想法：經過實驗 1 我們發現酸與鳳梨酵素與牛奶中蛋白質反應後的產物不同，推論與鳳梨酵素反應後產物主要為酸性，與酸反應後的產物主要為中性及鹼性。為了驗證這個推論我們設計以下實驗，我們在相同濃度牛奶內加入等量的酸，來觀察其 pH 值隨時間之變化。

➤方法：

- 1、配置 4.5% 及 9% 濃度的牛奶，分別加入三管離心管中。
- 2、將 5mL 鳳梨果肉汁、鹽酸、醋酸分別加入離心管中，並將離心管中溶液均勻混合後測量其 pH 值，接著每 20 分鐘測量溶液 pH 值並記錄。

➤結果與討論：

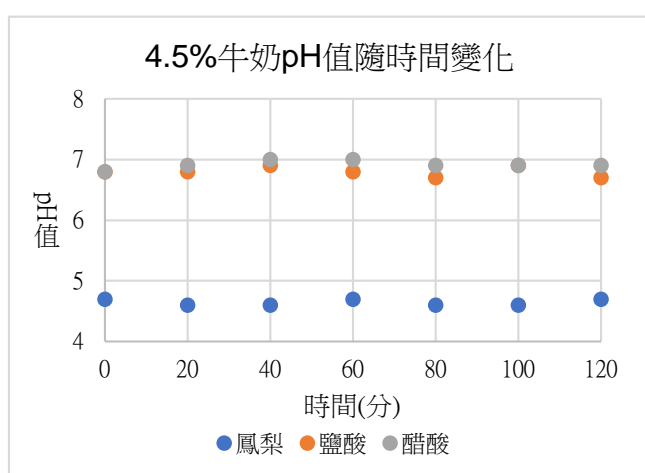


圖 14 4.5%牛奶 pH 值隨時間變化

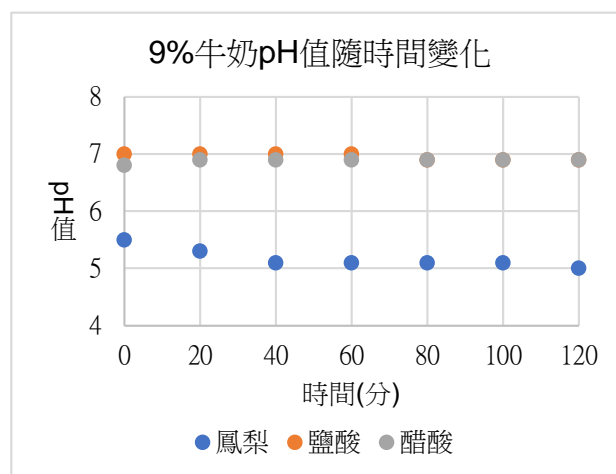


圖 15 9%牛奶 pH 值隨時間變化

單純牛奶的 pH 值為 6.6，而鳳梨汁、鹽酸及醋酸加入 5mL 去離子水代替牛奶，得到的 pH 值分別為 4.3、4.3、4.5。由此可以發現，鹽酸和醋酸加牛奶後，前 120 分鐘的 pH 值無明顯變化，都在接近 7 左右，但鳳梨汁加 4.5% 牛奶的 pH 值一直約為 4.6，加 9% 牛奶的 pH 值則明顯可看出隨著時間經過 pH 值逐漸下降，至 40 分鐘時達成平衡，進一步驗證了我們的想法：鳳梨牛奶中之鳳梨酵素隨著時間與蛋白質反應，產生酸性之產物；鹽酸和醋酸牛奶隨著時間產生主要為鹼性及中性之產物。

### 實驗 4 鳳梨果汁和酸與在長時間內之 pH 值變化

➤想法：為了更加確定我們的想法，我們將實驗 3 的測量時間拉長到 2 小時測一次，並且每次測量之前都先離心，去除懸浮的沉澱物干擾。

➤方法：

- 1、配製 4.5% 及 9% 牛奶，各取 5mL 放入 15 管離心管中，再分別將 5mL 鳳梨果汁、鹽酸及醋酸加入各 5 管離心管中。
- 2、將離心管中溶液均勻混合，各取 1 管離心 5 分鐘，測量其上清液 pH 值並記錄。
- 3、計時每 2 小時重複步驟 2，分別測量 3 管上清液 pH 值並記錄。

➤結果與討論：

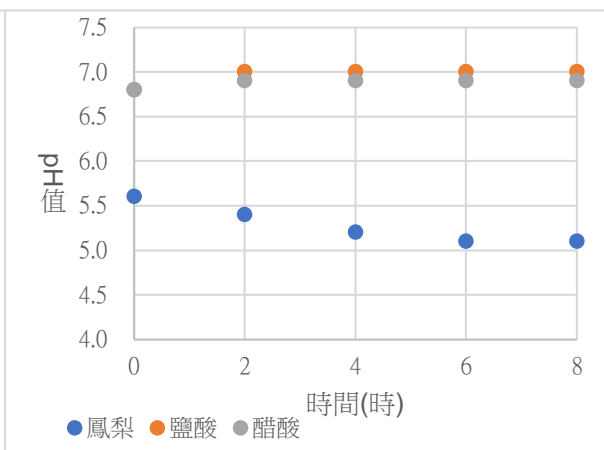
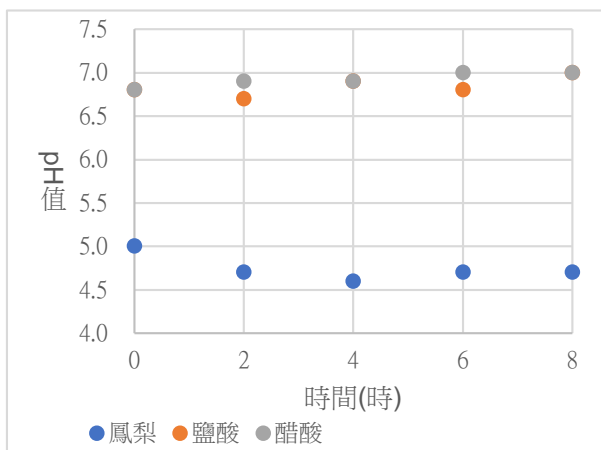


圖 16 4.5%牛奶 pH 值隨長時間變化

圖 17 9%牛奶 pH 值隨長時間變化

拉長時間觀察，可以發現 pH 值的變化變得更明顯，鳳梨牛奶上澄清液之 pH 值有逐漸下降之趨勢；鹽酸和醋酸牛奶上澄清液之 pH 值微微上升。

### 實驗 5 鳳梨牛奶隨時間的變化情形

➤想法：由研究一實驗 6 中我們發現鳳梨果汁加熱後，其 pH 值僅有輕微的變化，但酵素經過不同溫度的處理，可能改變其活性，是否會進而影響其使牛奶產生沉澱的效果呢？於是我們量測其澄清液所含蛋白質隨著時間的變化。

➤方法：

- 1、取八支離心管，將研究一實驗 6 中以不同溫度處理的鳳梨果肉汁及鳳梨果心汁各置入 1mL。
- 2、每支離心管分別加入 10mL 的牛奶與鳳梨汁均勻混合，計時使四管鳳梨果肉牛奶及四管鳳梨果心牛奶分別反應 10、20、30、40、50 分鐘。
- 3、反應時間結束即將離心管放入離心機，以 5000 rpm 離心 40 分鐘，。
- 4、吸取離心管中 1mL 的澄清液至試管，加入 5mL 的考馬斯亮藍試劑後等待 5 分鐘。
- 5、將試管中溶液放入分光光度計，取波長 545nm 之吸收度，並記錄。
- 6、測量每管上澄清液之 pH 值，並記錄。
- 7、傾去上澄清液，測量沉澱物濕重，並記錄。

➤結果與討論：

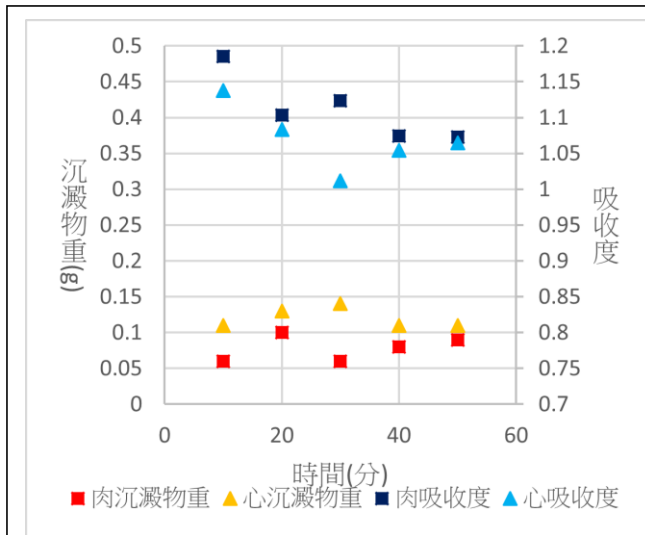


圖 18 20°C 鳳梨汁加牛奶隨時間變化

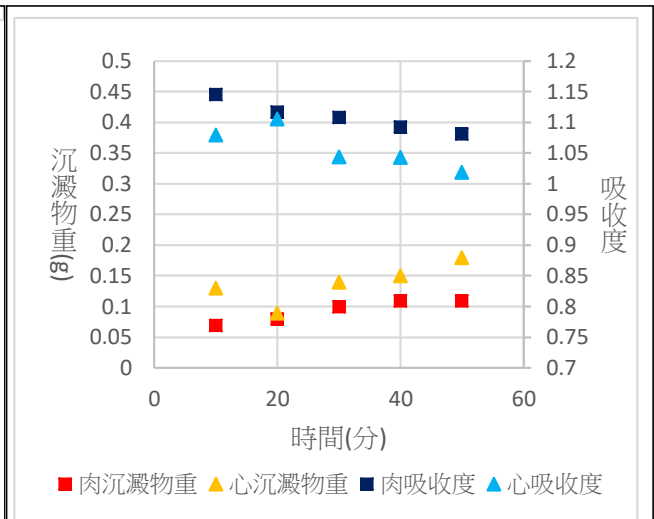


圖 19 40°C 鳳梨汁加牛奶隨時間變化

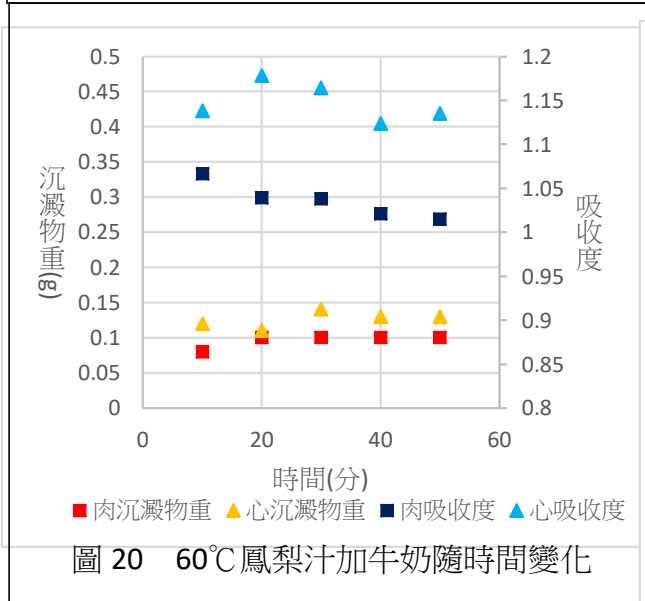


圖 20 60°C 鳳梨汁加牛奶隨時間變化

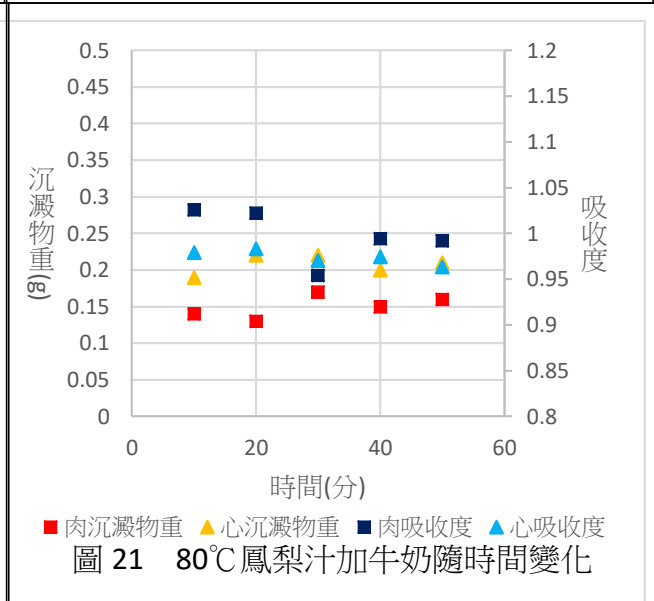


圖 21 80°C 鳳梨汁加牛奶隨時間變化

1. 無論是在哪個溫度下，鳳梨果肉汁皆比果心汁能與牛奶產生較多的沉澱，加上在研究一實驗 2 中可知，鳳梨果肉中的蛋白質含量高於鳳梨果心，因此我們認為鳳梨果肉中所含的酵素高於鳳梨果心。
2. 由實驗結果可以發現，將鳳梨果汁加入牛奶後，隨著時間經過，上清液加入考馬斯亮藍所得的吸收度皆有漸減的趨勢，代表鳳梨汁與牛奶混合 50 分鐘內，乳清部分能與考馬斯亮藍結合的蛋白質含量仍有所變化。
3. 雖然鳳梨果肉汁的 pH 值略低於鳳梨果心汁，但兩者 pH 值相差大約 0.1 而已，應該不是造成鳳梨果心和果肉吸收度差異的主要原因。在常溫時，鳳梨果心汁可使等量的牛奶吸

收度下降得較多，我們認為可能是因為在鳳梨果心部位的鳳梨酵素活性較高。

4. 我們發現唯獨以加入 60°C 處理的鳳梨果心汁吸收度明顯高於鳳梨果肉汁，其餘則為果肉汁略高於果心汁，由於在前面實驗中已知不同溫度處理的鳳梨果汁 pH 值變化很小，因此排除是酸性造成的差異，而是經不同溫度處理後，鳳梨酵素的活性大小不同而導致，當牛奶加入 60°C 處理的鳳梨果肉汁時，可發現上清液的吸收度明顯較低溫處理的鳳梨汁低，代表經過 60°C 處理的鳳梨果肉汁與蛋白質反應的活性較高，而鳳梨果心汁則以 80°C 處理後與蛋白質反應的活性較高。

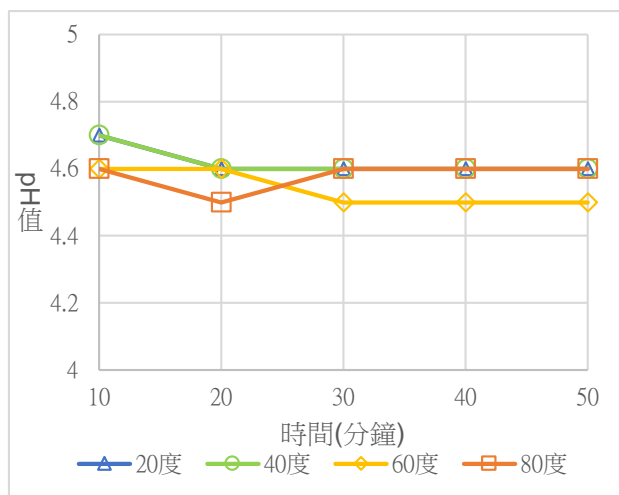


圖 22 不同溫度鳳梨果肉汁加牛奶 pH 值隨時間變化

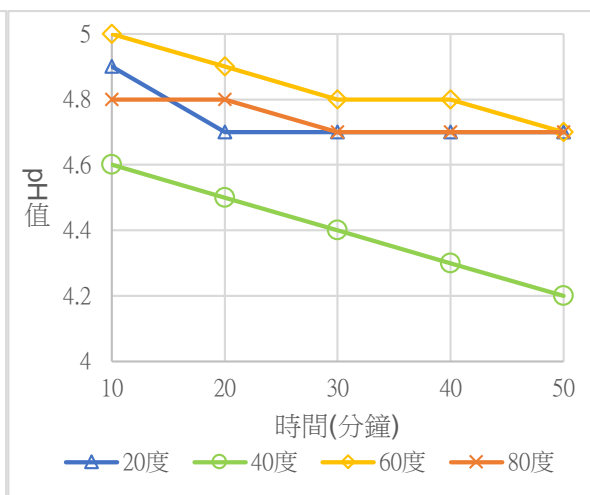


圖 23 不同溫度鳳梨果心汁加牛奶 pH 值隨時間變化

### 實驗 6 鳳梨酵素對牛奶的影響

►想法：由前面實驗可以發現，鳳梨果汁能使牛奶產生沉澱，鳳梨汁本身的酸性並不是主要的原因，而是以鳳梨酵素對牛奶的反應為主，因此我們決定萃取出鳳梨酵素來觀察結果。

►方法：

#### 1、萃取鳳梨酵素

- (1) 依研究一方法製作鳳梨果肉及鳳梨果心汁。
- (2) 分別在 200mL 果汁中加入氨水，調整 pH 值到 6.0，再加入 20g 硫酸銨溶解後，放進冰箱冷藏 24 小時。
- (3) 將濾液以 5000 rpm 離心五分鐘。
- (4) 將離心後的黃褐色沉澱物取出並置於培養皿



照片 18 鳳梨果肉酵素



照片 19 鳳梨果心酵素

上，放進烘箱以 55°C 烘乾後，即可得粗製鳳梨酵素(如照片 18、19)。

- 2、取五支離心管，各加入 0.05g 的鳳梨果肉酵素，另再取五支離心管各加入 0.05g 的鳳梨果心酵素。
- 3、每支離心管分別加入 10mL 的牛奶與鳳梨酵素均勻混合，計時使五管果肉酵素牛奶及五管果心酵素牛奶分別反應 10、20、30、40、50 分鐘。
- 4、反應時間結束即將離心管放入離心機，以 8000 rpm 離心 4 分鐘，。
- 5、吸取離心管中 1mL 的上清液至試管，加入 5mL 的考馬斯亮藍試劑後等待 5 分鐘。
- 6、將試管中溶液放入分光光度計，取波長 545nm 之吸收度，並記錄。

### ➤結果與討論：

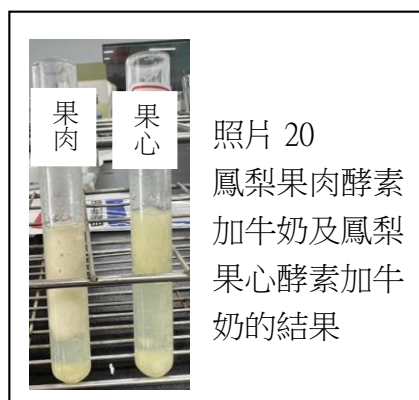
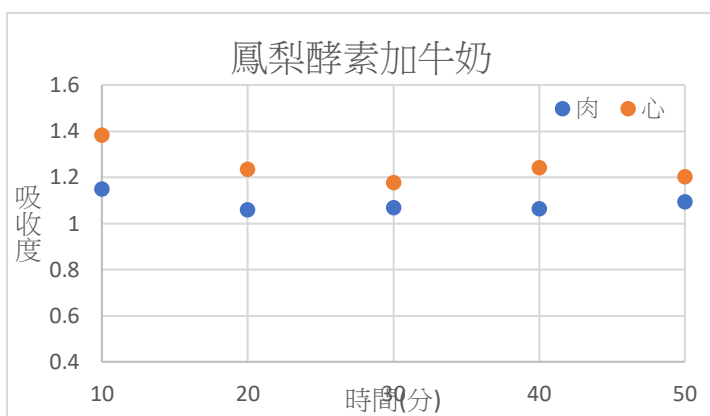


圖 24 自製鳳梨酵素加牛奶的吸收度隨時間變化

1. 於等體積的鳳梨果肉汁及鳳梨果心汁中萃取出來的鳳梨酵素，以從鳳梨果肉得到的粗產物較多，取等重的兩者加入牛奶中，皆可以看到牛奶產生結塊的現象（如照片 20），也就代表鳳梨牛奶中的酪蛋白沉澱不僅是因為鳳梨汁為酸性的因素，鳳梨酵素亦是使牛奶發生沉澱的重要因素。
2. 以 55°C 烘乾後的所得的鳳梨酵素加牛奶，和實驗 2 中將鳳梨果汁加熱至 60°C 冷卻後加牛奶，其上清液的吸收度都是果心大於果肉，因此我們認為鳳梨果肉中的酵素經約 60°C 的處理可以使其活性提高。

### 實驗 7 比較自製鳳梨酵素與市售鳳梨酵素對牛奶結塊之影響

➤想法：我們自製的鳳梨酵素是由鳳梨果肉及果心汁製成，但一般市售的鳳梨酵素則是從鳳梨莖中萃取，因此我們比較兩者對與牛奶結塊之情形的情形與差異。

➤方法：

- 1、 分別取 0.1g 市售鳳梨酵素於 3 管離心管中，再取 0.1g 自製鳳梨酵素於另 3 管離心管中，並各加入 10mL 牛奶。
- 2、 每一管皆攪拌均勻，分別計時每 10 分鐘取 1 管市售鳳梨酵素牛奶及 1 管自製鳳梨酵素牛奶離心 40 分鐘。
- 3、 各取 1mL 上澄清液，加入 5mL 考馬斯亮藍染劑，靜待 3 分鐘。將試管中溶液放入分光光度計，取波長 545nm 之吸收度，並記錄。
- 4、 測量每管上澄清液之 pH 值後，傾去上澄清液，再測量沉澱物濕重並記錄。

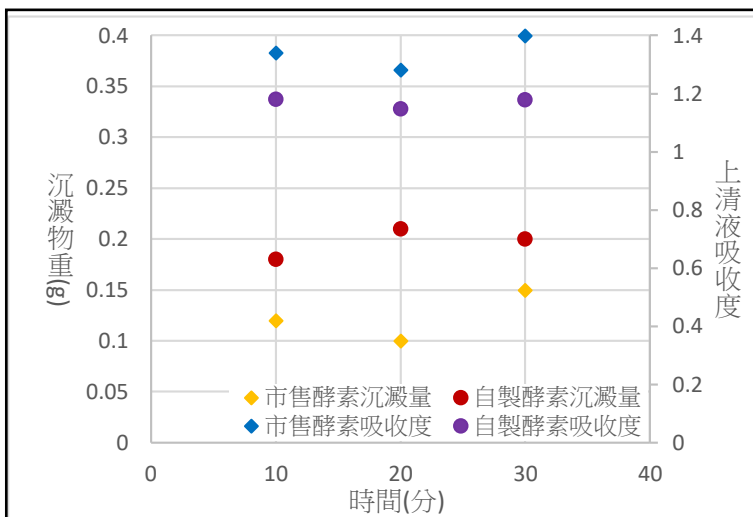
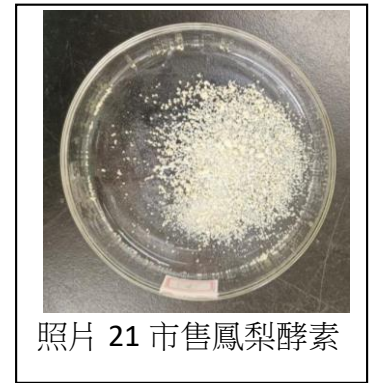


圖 25 自製和市售鳳梨酵素加牛奶隨時間變化

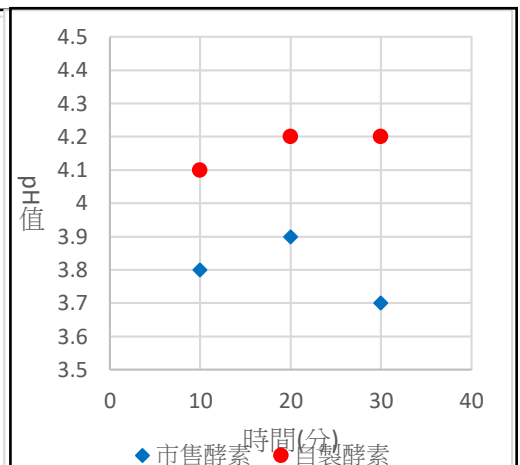


圖 26 鳳梨酵素加牛奶 pH 值隨時間變化

➤結果與討論：

由實驗結果得知，市售鳳梨酵素亦可使牛奶產生沉澱，但其沉澱量較自製酵素少，再上清液的吸收度較高、酸鹼值較低。

## 研究(四) 製作鳳梨牛奶面膜

### 實驗 1 水解酪蛋白產物之抗氧化力

➤想法：由研究二實驗 1 之結果，我們知道酪蛋白之抗氧化力顯著高於牛奶及乳清蛋白。再由研究三確認加入鳳梨汁之酪蛋白會被鳳梨酵素水解。我們想知道水解後之產物其抗氧化力是否會改變，於是利用間接滴定法測定水解酪蛋白產物之抗氧化能力，並利用醋酸作為對照組。

➤方法：



1. 取 5mL 碘液，以 0.02M 硫代硫酸鈉滴定至碘液變成透明無色，紀錄所需的體積。
2. 配製牛奶：將 28g 的奶粉加水至 200g。
3. 各取 100 克的牛奶，分別加入鳳梨汁及醋酸，直到產生大量沉澱後，抽氣過濾濾出酪蛋白沉澱(照片 22)。
4. 每 10 分鐘各取 1g 的酪蛋白沉澱，加入 10mL 的碘液，攪拌均勻後，用濾紙過濾(照片 22)。
5. 取 5mL 的濾液倒入錐形瓶，以 0.02M 的硫代硫酸鈉滴定直到變成透明無色為止，記錄需要的硫代硫酸鈉體積。



照片 22 製作鳳梨水解酪蛋白



照片 23 將定量碘液加入酪蛋白後過濾

➤結果與討論：

1. 以硫代硫酸鈉滴定 5mL 原來的碘液，需要 24.1mL 恰能達滴定終點，只要扣除剩餘的碘液需要消耗的硫代硫酸鈉體積，即可得到鳳梨水解酪蛋白及自製面膜的抗氧化力相當於是多少體積的硫代硫酸鈉。

表 9 取 5mL 剩餘的碘濾液測量鳳梨、醋酸水解酪蛋白以硫代硫酸鈉滴定所需要的體積：

時間(分)	鳳梨汁					醋酸				
	10	20	30	40	50	10	20	30	40	50
第一次	7.5	6.3	5.6	3.2	1.9	9.1	7.7	6.6	3.4	2.9
第二次	7.4	6.0	5.4	3.7	1.7	11.5	6.5	7.5	4.0	3.5
第三次	7.5	6.2	5.7	3.4	1.6	8.0	7.5	6.9	2.5	1.9
平均(mL)	7.5	6.2	5.6	3.4	1.7	9.5	7.2	7.0	3.3	2.8

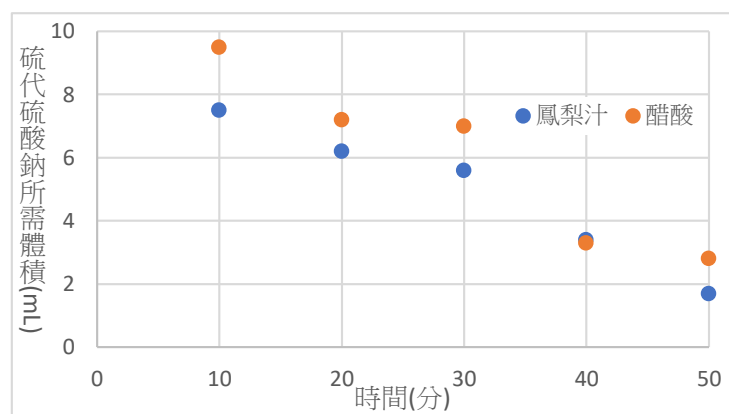


圖 27 隨時間滴定剩餘碘濾液之情形

2. 由結果可以發現，隨著時間經過，沉澱的酪蛋白會逐漸水解，需消耗的硫代硫酸鈉體積逐漸減少，代表以鳳梨汁或醋酸水解酪蛋白的時間越長，抗氧化力越好，也就是說，水解酪蛋白後的產物（胜肽或胺基酸）具有高度的抗氧化力，其中以鳳梨汁水解的抗氧化力又高於醋酸，十分適合做成抗氧化劑的材料。

### 實驗 2 海藻酸鈉的抗氧化力

➤想法：為了了解加入海藻酸鈉成膜後的抗氧化力是否有所變化，我們測量海藻酸鈉是否具有抗氧化能力。

➤方法：

1. 取 1g 海藻酸鈉水溶液，加上 10mL 的碘液，攪拌均勻靜置 3 分鐘。
2. 用濾紙過濾，取 5mL 的濾液，以硫代硫酸鈉滴定至透明無色，紀錄所需的體積。

➤結果與討論：

添加海藻酸鈉的碘液需要 16.15mL 的硫代硫酸鈉才能變色，代表海藻酸鈉具有較水解酪蛋白為弱的抗氧化力，因此使用鳳梨水解酪蛋白與海藻酸鈉混合製備成面膜後，有望提高整體的抗氧化力。

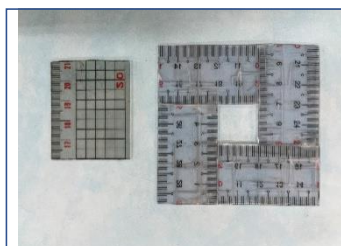
### 實驗 3 製作鳳梨水解酪蛋白面膜

➤想法：鳳梨水解酪蛋白的產物具有高抗氧化力，而面膜等保養品正需要這種能力，於是我們嘗試將具有抗氧化力的鳳梨水解酪蛋白產物製成膜狀。

➤方法：

1. 配製海藻酸鈉水溶液：取 2g 海藻酸鈉加水加到 100mL。
2. 取 2g 的鳳梨水解酪蛋白產物跟 2g 的海藻酸鈉水溶液快速攪拌均勻後，即得鳳梨水解酪蛋白面膜。

3. 將鳳梨水解酪蛋白面膜平鋪至自製模具中(照片 24)，靜置待其成形即可。



照片 24 裁切直尺拼成中間留有孔洞的模具，倒入溶液後用尺刮平，即可得到厚度 1mm 的面膜。



照片 25 將鳳梨水解酪蛋白與海藻酸鈉混合後，即形成凝膠狀薄膜。

➤結果與討論：

海藻酸鈉可與鈣離子交聯而具有良好的成膜性質，但我們發現將鳳梨水解酪蛋白與海藻酸鈉溶液混合後，竟自然成一透明薄膜了（照片 25），我們查閱書籍後發現，原來是牛奶中的酪蛋白會以酪蛋白化鈣（calcium caseinate）的形態存在，並與磷酸鹽形成複合物分散成膠質狀態的微膠粒（micelles），加入鳳梨汁水解的酪蛋白中仍含有鈣離子，鈣離子會與海藻酸鈉中的羧基（ $-\text{COO}^-$ ）發生反應，取代原本的鈉離子（ $\text{Na}^+$ ）而形成離子架橋，導致液體凝固成膠體。

實驗 4 自製鳳梨水解酪蛋白面膜的抗氧化力

➤想法：為了了解鳳梨水解酪蛋白加入海藻酸鈉成膜是否會影響其抗氧化力？由於面膜為膠體薄膜，因此我們設計了以下實驗進行測定。

➤方法：

1. 將實驗 2 自製的鳳梨水解酪蛋白面膜取 1g，加入 10mL 的碘液，攪拌均勻後過濾。
2. 取 5mL 的濾液，以硫代硫酸鈉滴定至碘液直到變成透明無色，紀錄所需要的體積。
3. 將實驗 2 自製的鳳梨水解酪蛋白完成後靜置 10 分鐘，再加入 10mL 的碘液，攪拌均勻後過濾，重複步驟 2。

➤結果與討論：

表 10 以硫代硫酸鈉滴定鳳梨水解酪蛋白隨時間所需要的體積

面膜製成時間	硫代硫酸鈉消耗體積(mL)	
	0 分鐘	10 分鐘
第一次	9.90	11.14
第二次	9.25	13.8
第三次	10.15	11.21
平均	9.77	12.05

實驗中發現剛做好的面膜抗氧化力較佳，但 10 分鐘後，面膜的抗氧化力即變差，與單純只有水解酪蛋白產物的抗氧化力隨時間變化的趨勢不同，因此，若要使用海藻酸鈉做為鳳梨水解酪蛋白面膜的載體，需要做好之後立即使用，以確保其抗氧化力。

## 伍、討論

- 一、由鳳梨汁中加入硫酸銨進行鹽析，是使蛋白質脫水而生成沉澱，過濾即可得初步萃取的鳳梨酵素，我們會再以少量的純水洗過，減少殘留在酵素表面的硫酸銨，以減少誤差。
- 二、配製雙縮脲試劑時，試劑中的硫酸銅混會與氫氧化鈉產生藍色氫氧化銅沉澱。因此必須先加入氫氧化鈉水溶液及酒石酸鉀鈉水溶液，最後加入硫酸銅。
- 三、我們利用雙縮脲試劑及考馬斯亮藍染劑製作蛋白質檢量線，觀察雙縮脲試劑及考馬斯亮藍染劑在蛋白質含量不同時的顏色變化情形，但若牛奶顏色過深，會影響分光光度計之吸收值，所以必須調整稀釋牛奶至適合測量之濃度。
- 四、考馬斯亮藍加入相同濃度但不同蛋白質種類之溶液，吸收度不同。因牛奶上清液含不同種類蛋白質。雙縮脲試劑雖可在同一濃度不同蛋白質種類之溶液可測得相近之吸收度，但加入鳳梨牛奶上清液也會產生變色情形。故無法採用兩者之檢量線來進而得知鳳梨牛奶上清液之濃度。

## 陸、結論

- 一、將鳳梨分為果肉及果心部位進行實驗，發現果肉汁較果心汁酸，加熱至不同溫度後冷卻，其 pH 值變化不大，但測定兩者的抗氧化力時發現，鳳梨果肉汁還原碘液的能力及清除 DPPH 自由基的能力皆高於鳳梨果心，因鳳梨汁具有抗氧化力，會還原出雙縮脲試劑裡的銅離子，因此改用考馬思亮藍染劑檢測鳳梨汁中的蛋白質含量，結果鳳梨果肉中所含的蛋白質比鳳梨果心多。
- 二、以不同濃度的乳清蛋白及酪蛋白加雙縮脲試劑後，其吸收度成線性關係，改用考馬斯亮藍染劑測量不同濃度的牛奶、乳清蛋白及酪蛋白的結果，其吸收度則非線性關係，在抗氧化力的部分我們測得酪蛋白還原碘液的能力最佳，高於牛奶和乳清蛋白。乳清蛋白清除 DPPH 之能力最佳，但三者清除率數值只有些微差。牛奶還原力最佳，但三者吸收度也只有些微差異。
- 三、將相同 pH 值的鳳梨汁、鹽酸及醋酸分別與牛奶混合後，可以推論酸和鳳梨酵素水解蛋白質成胜肽或胺基酸等產物不同，鳳梨牛奶之沉澱物明顯比鹽酸及醋酸多，生成沉

澱的速度也最快，且上清液 pH 值最低、最澄清，而鳳梨酵素在果心部位的活性較高，經過 60°C 處理的鳳梨果肉汁及 80°C 處理後的鳳梨果心汁與蛋白質反應的活性較高，萃取後的鳳梨酵素則以果肉部位與蛋白質反應的活性較高。自製鳳梨酵素與蛋白質反應活性較市售鳳梨酵素佳。

四、以鳳梨水解酪蛋白的產物較醋酸水解酪蛋白的抗氧化力為佳，水解酪蛋白放置的時間愈久，其還原碘液的能力愈好，若將鳳梨牛奶的沉澱物加入海藻酸鈉可以形成薄膜，但抗氧化力會隨時間經過而減少。

## 柒、參考文獻資料

1. 蔡幸儒. (2019, June 28). 喝個飲料心好累？木瓜牛乳放久變苦還結塊是為啥！. 食力. <https://www.foodnext.net/science/knowledge/paper/5098336221>
2. Biuret Test. (n.d.). Chemistry Learner. <https://www.chemistrylearner.com/biuret-test.html>
3. 莊榮輝. (2001, June 30). *Coomassie Blue 蛋白質定量法*. 莊榮輝網頁系統. <http://juang.bst.ntu.edu.tw/Protein/Analysis/A1.htm#Coomassie%20Blue>
4. 陳卉穎 (2018)。揭開薑汁撞奶的神秘面紗。中華民國第 58 屆中小學科學展覽會。國立臺灣科學教育館。
5. 蔡介筠 (2013)。少年起司的奇幻漂流-探討牛奶與豆漿的凝乳現象。中華民國第 53 屆中小學科學展覽會。國立臺灣科學教育館。
6. 蔡閔如. (2003). *牛奶面膜 DIY*. 楊桃文化事業有限公司.
7. 蔡庭宇 (2015) 黃豆的「膜」法-探討豆漿膜的特性及其應用。中華民國第 55 屆中小學科學展覽會。國立臺灣科學教育館。
8. 呂怡萱 (2007)。抗氧化能力測定與應用。中華民國第 47 屆中小學科學展覽會。國立臺灣科學教育館。
9. 黃芳正. (2010). *生活化學實驗-實驗五維他命 C 檢測*. 正修 MVOD 行動電影院. <https://imod-fms.csu.edu.tw/media/1122>
10. 酵素定量及活性分析 (2024 年 3 月 4 日)。  
<http://www2.nkust.edu.tw/~ikuojm/file1/chap2.pdf>
11. 雙縮脲法 (2024 年 3 月 4 日)。  
[https://www.newton.com.tw/wiki/%E9%9B%99%E7%B8%AE%E8%84%B2%E6%B3%95#google\\_vignette](https://www.newton.com.tw/wiki/%E9%9B%99%E7%B8%AE%E8%84%B2%E6%B3%95#google_vignette)
12. 酵素的探討 (2024 年 3 月 4 日)。  
<http://science4everyone.net/MediaWiki/index.php?title=%E9%85%B5%E7%B4%A0%E7%9A%84%E6%8E%A2%E8%A8%8E>

註：本研究所有照片、表格、圖 3 至 27 皆由作者親自拍攝及繪製。

## 【評語】 030206

1. 實驗設計、數據呈現與結果討論敘述均非常清晰、合理，並具有層次感。能夠善用各種反應特性進行多元的抗氧化力探討，主要比較蛋白質含量、pH 值變化、測酪蛋白還原碘、清除 DPPH 自由基及還原力等綜合抗氧化力表現。
2. 以 Biuret Method 分別測定乳清蛋白及酪蛋白溶液，在波長 595 nm 的吸收度檢量線線性( $R^2 > 0.995$ )要明顯優於 Bradford Method 檢量線之線性( $R^2 < 0.995$ )；然而鳳梨牛奶上清液因會產生變色情形造成吸收度干擾，故無法使用 Biuret Method 檢量，這部分缺乏實驗數據呈現而僅有文字敘述。
3. 碘量法、DPPH 自由基測試、 $Fe^{+3}$  還原力測定皆可作為綜合抗氧化力測試方法，但鳳梨汁鳳梨酵素水解酪蛋白後之產物其抗氧化力為何僅以間接滴定法(碘量法)測定，而為何不使用另 2 種測試方法?此 3 種方法何者最能夠代表抗氧化力？
4. 表 2, 3, 4 並未標示誤差範圍(例如標準差)方便客觀比較。



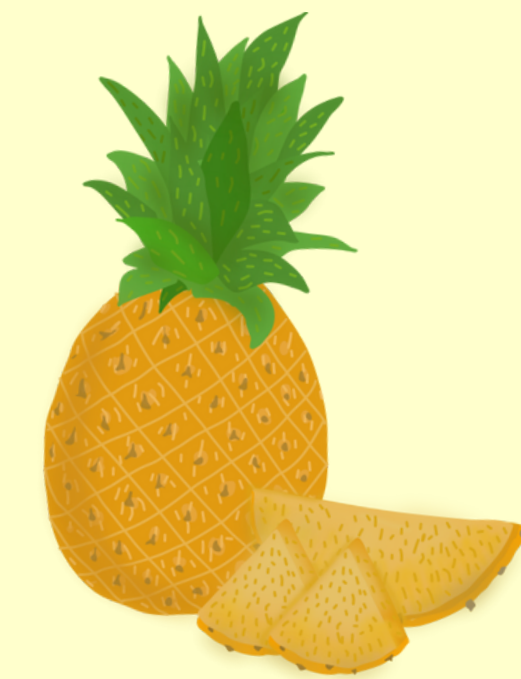
5. 數據呈現上，可考慮畫出相關曲線，如此更能快速了解差異。對於鳳梨酵素水解蛋白質之產物與鹽酸及醋酸反應不同，可考慮進一步了解產物間差異。

## 作品簡報



# 「鳳」中奇緣

- 探討鳳梨牛奶的反應情形及其應用





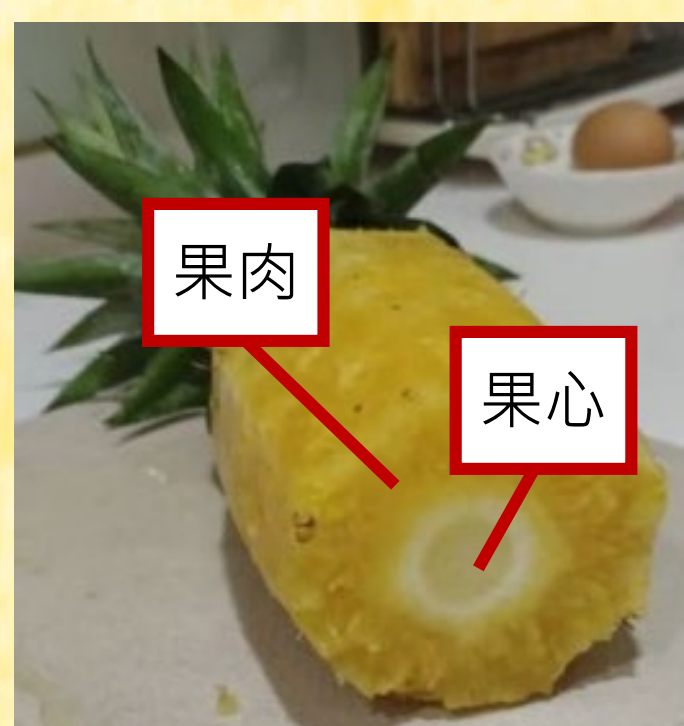
## ..... 重要發現 .....

- 一、鳳梨牛奶會產生結塊的主因為鳳梨酵素與牛奶中的蛋白質反應。
- 二、酸和鳳梨酵素與牛奶反應的產物不同，會進而影響溶液的 pH 值變化。
- 三、鳳梨酵素在果心部位活性較高，經 60 °C 處理果肉汁及 80 °C 處理果心汁與自行萃取的果肉酵素與牛奶的反應性較高。
- 四、鳳梨水解酪蛋白的抗氧化力佳，且反應愈久、抗氧化力愈好，加入海藻酸鈉中即可成膜，但抗氧化力會隨時間漸減。

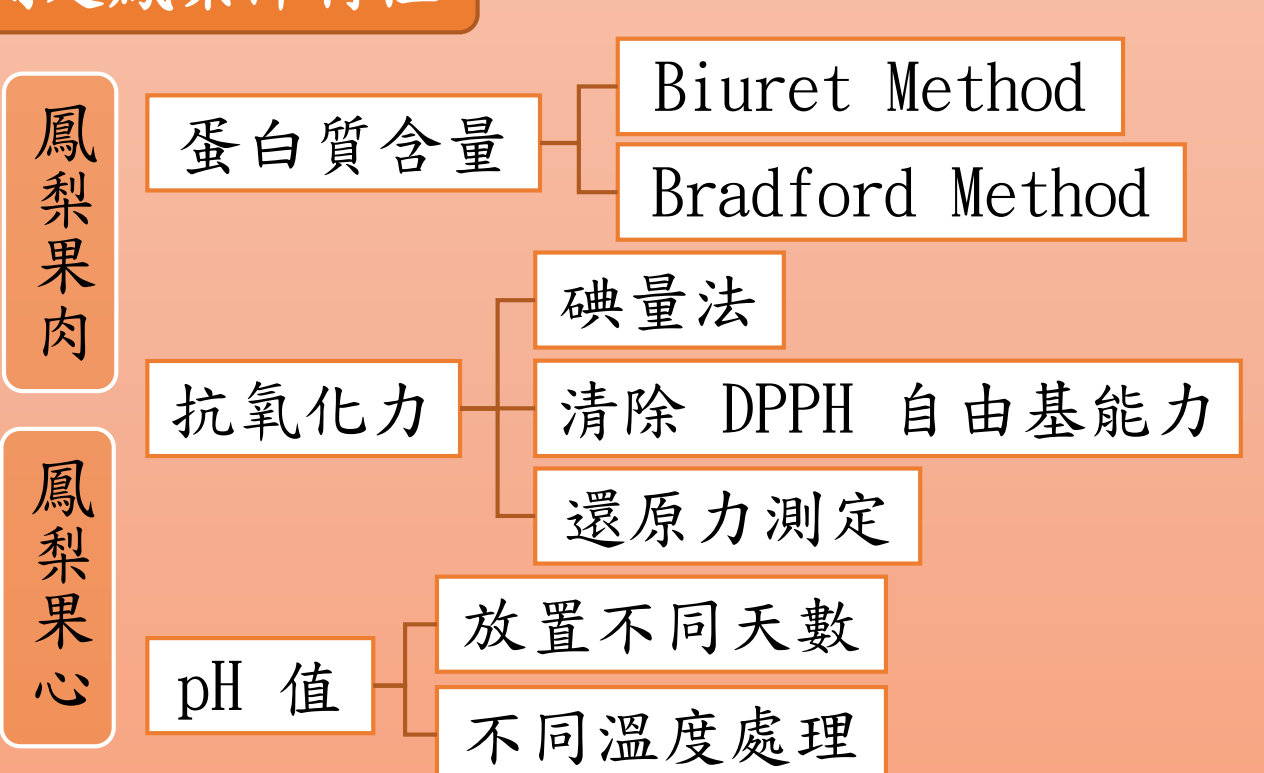
## ..... 研究架構 .....

### ..... 研究動機 .....

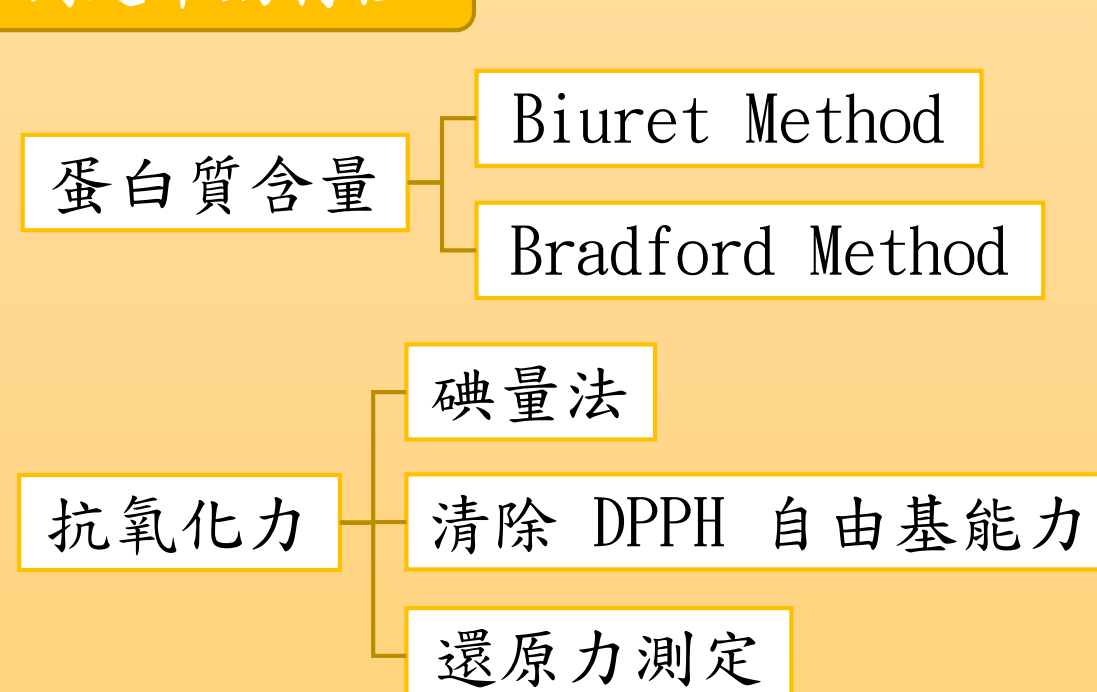
我們曾把鳳梨加入牛奶中，發現鳳梨牛奶變苦了，甚至產生了許多結塊的情形。而造成鳳梨牛奶結塊的原因究竟是酵素作用還是酸性環境導致的呢？



#### 測定鳳梨汁特性



#### 測定牛奶特性



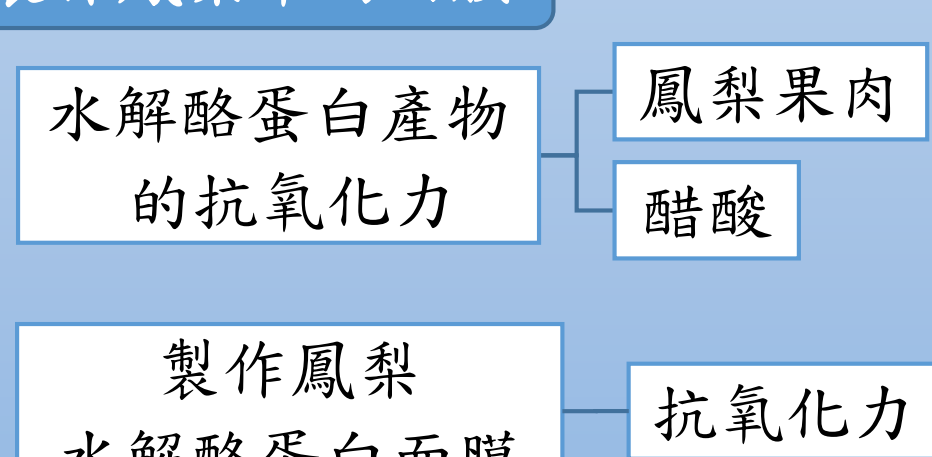
### ..... 研究目的 .....

- 一、測定鳳梨汁的 pH 值、抗氧化力及蛋白質含量等性質
- 二、測定牛奶的抗氧化力及蛋白質含量
- 三、探討鳳梨與牛奶的反應情形
- 四、製作鳳梨牛奶面膜

#### 探討鳳梨與牛奶的反應情形



#### 製作鳳梨牛奶面膜

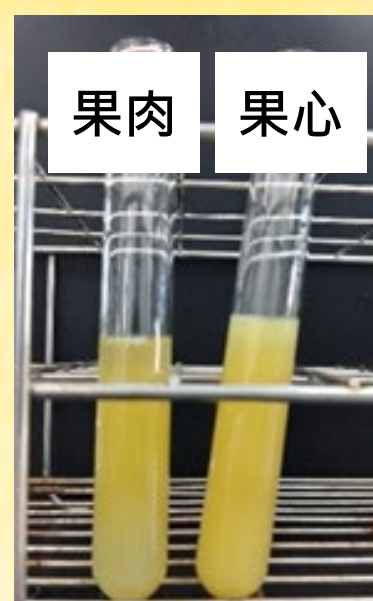


## 研究一、測定鳳梨汁特性

\*本研究中所有照片、圖表皆由作者自行拍攝及繪製

### 實驗1-1 測定鳳梨汁中蛋白質的含量—Biuret Method

鳳梨果肉及果心汁加雙縮脲試劑 30 分鐘內，溶液皆會由原來的藍色逐漸變成橘黃色並產生紅色沉澱，應是鳳梨果汁中具有某些抗氧化劑能使雙縮脲試劑中的銅離子被還原。



### 實驗1-2 測定鳳梨汁中蛋白質的含量—Bradford Method

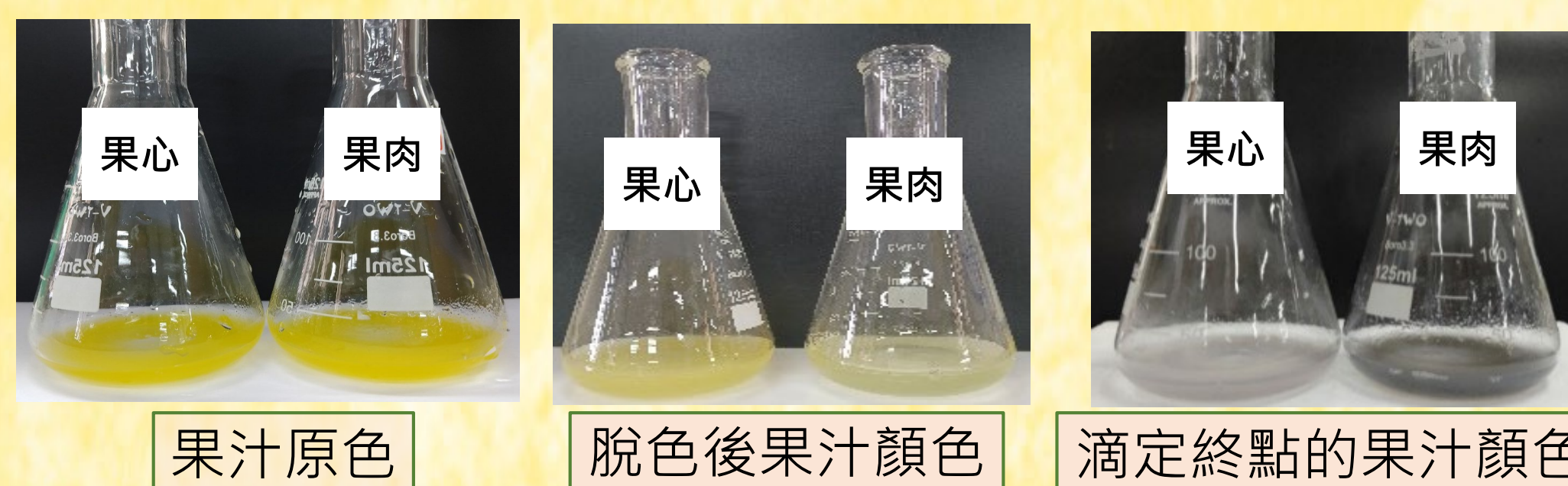
不同部位鳳梨汁		鳳梨果肉	鳳梨果心
595 nm 吸光值	第1類	0.985	0.410
	第2類	1.442	1.137
	第3類	1.279	0.658

鳳梨果肉的蛋白質含量皆多於鳳梨果心。

### 實驗1-3 以碘量法測定鳳梨汁之抗氧化能力

不同部位鳳梨汁	鳳梨果肉	鳳梨果心	0.1% 維他命 C
平均滴入碘液 (mL)	2.44	2.05	16.47

鳳梨果肉還原碘液能力略高於鳳梨果心，但皆低於維他命 C。



### 實驗1-4 測定鳳梨汁清除 DPPH 自由基能力

不同部位鳳梨汁	鳳梨果肉	鳳梨果心	0.1% 維他命 C
第1類	80.91%	72.02%	96.96%
第2類	87.73%	66.70%	
第3類	39.02%	33.25%	

在不同類鳳梨中，鳳梨果肉清除 DPPH 自由基能力皆較果心佳，與碘量法所得結果相同。

### 實驗1-5 測定鳳梨汁的還原力

不同部位鳳梨汁	鳳梨果肉	鳳梨果心	0.1% 維他命 C	
700 nm 吸收度	第1類	0.808	0.750	1.015
	第2類	0.504	0.417	
	第3類	0.551	0.443	

在不同類鳳梨中，鳳梨果肉的還原力皆較果心為佳，與碘量法所得抗氧化力的結果亦相同。

### 實驗1-6 檢測鳳梨汁的 pH 值隨時間的變化

鳳梨汁放置天數		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
pH 值	A 鳳梨果肉	3.9	3.9	3.9	3.9
	B 鳳梨果肉	3.6	3.7	3.7	3.8
	C 鳳梨果肉	3.82	3.79	3.81	3.89
	A 鳳梨果心	4.0	4.0	4.0	4.1
	B 鳳梨果心	3.7	3.7	3.8	3.8
	C 鳳梨果心	3.86	3.85	3.88	3.96

1. 果心汁的 pH 值皆略大於果肉汁，且隨著鳳梨汁放置天數增加，pH 值微微上升。
2. 大約從第5天起鳳梨汁表面會浮現氣泡且有酒味產生。

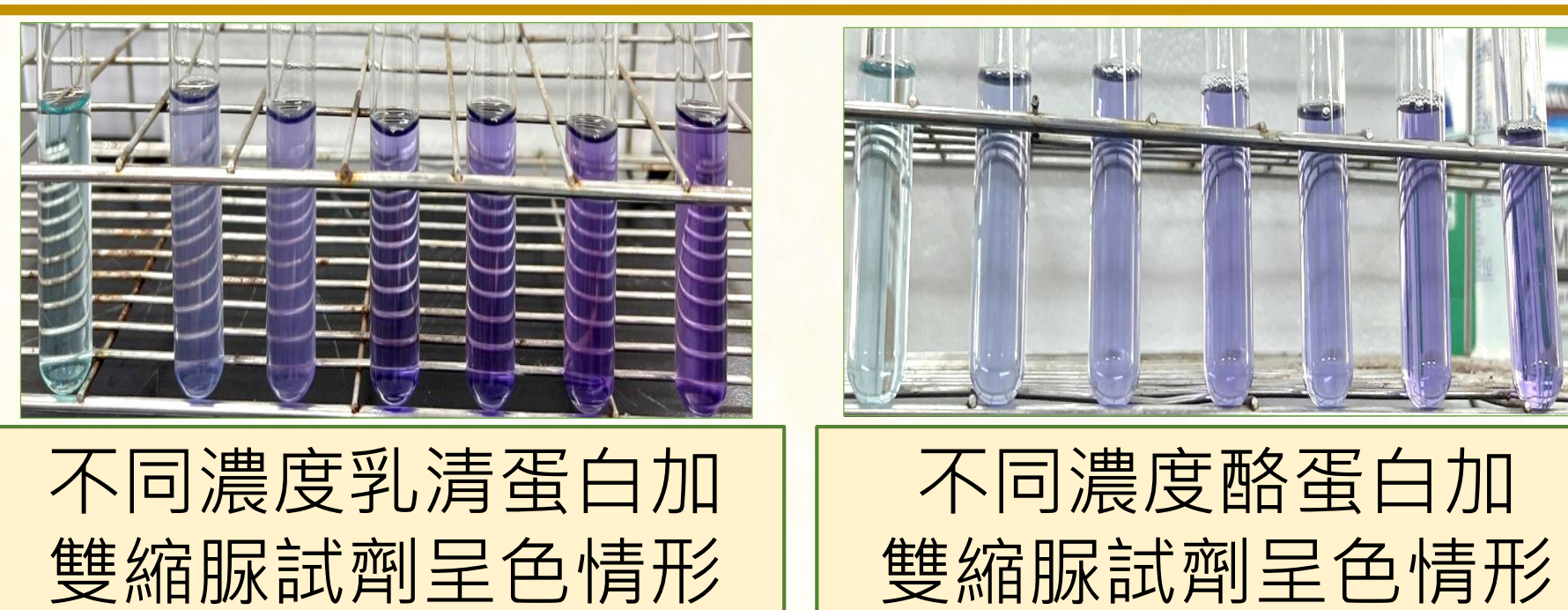
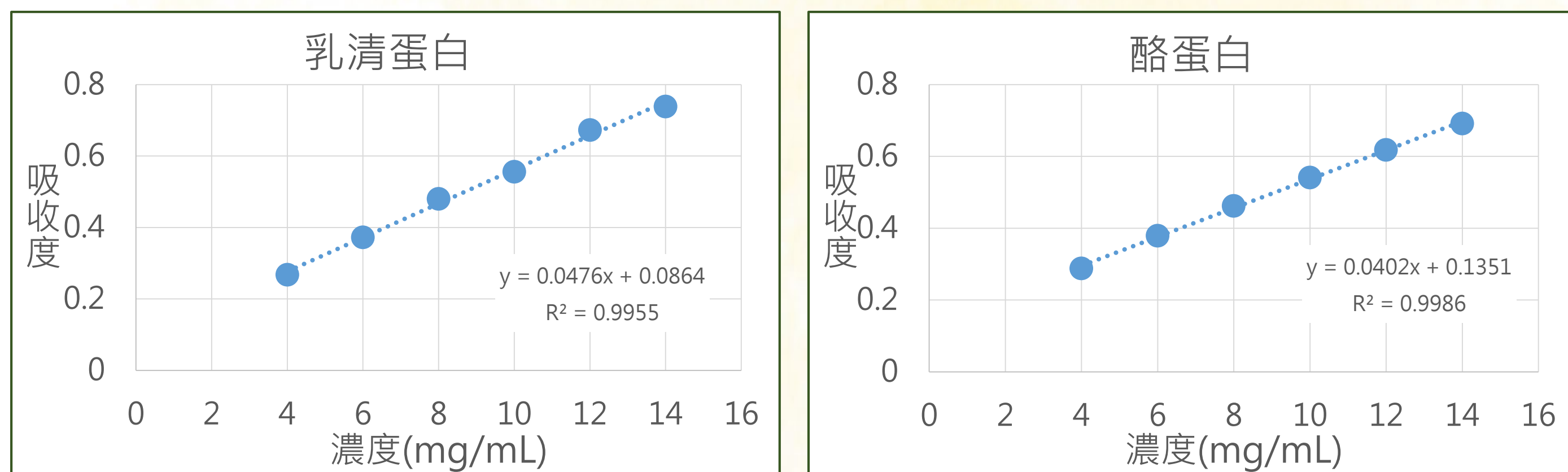
### 實驗1-7 測定加熱至不同溫度的鳳梨汁 pH 值

鳳梨汁處理溫度		常溫	40 °C	60 °C	80 °C
鳳梨果肉 pH 值	第 1 類	4.3	4.3	4.3	4.3
	第 2 類	4.1	4.2	4.2	4.2
	第 3 類	3.86	3.85	3.85	3.85
	第 4 類	3.46	3.55	3.54	3.58
鳳梨果心 pH 值	第 1 類	4.1	4.1	4.1	4.1
	第 2 類	4.2	4.2	4.2	4.2
	第 3 類	4.03	4.00	3.97	3.98
	第 4 類	3.52	3.39	3.42	3.44

同一類鳳梨果汁加熱前後的 pH 值僅有微小差異，且不同類鳳梨的果肉、果心汁的 pH 值並沒有隨著加熱的溫度有固定的趨勢變化。

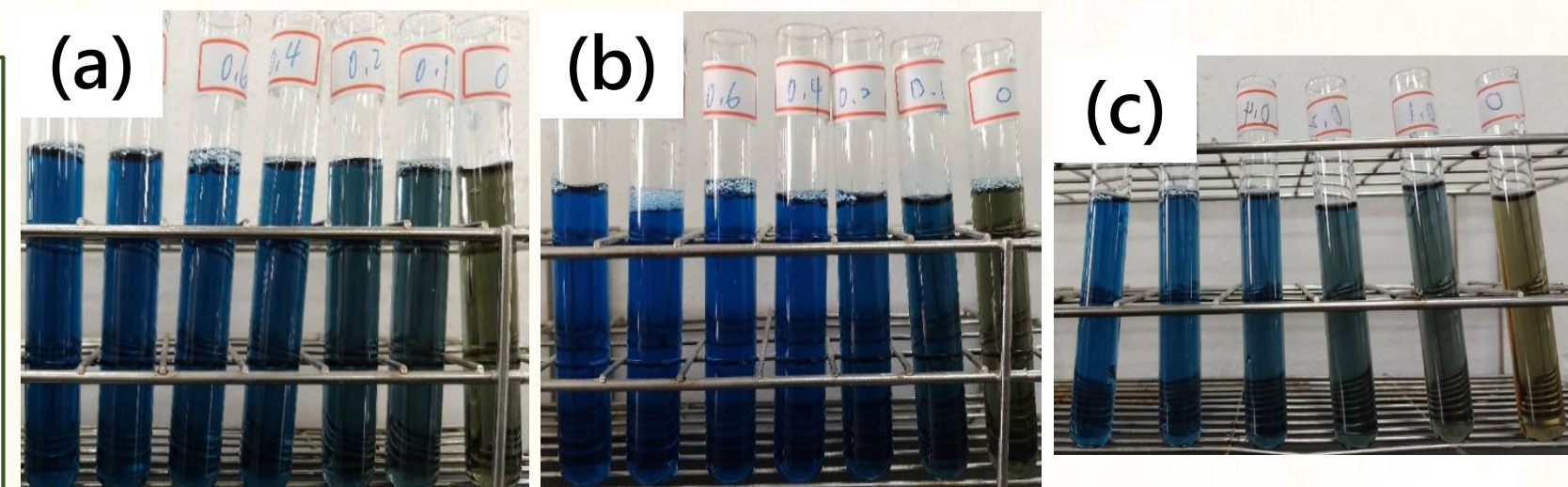
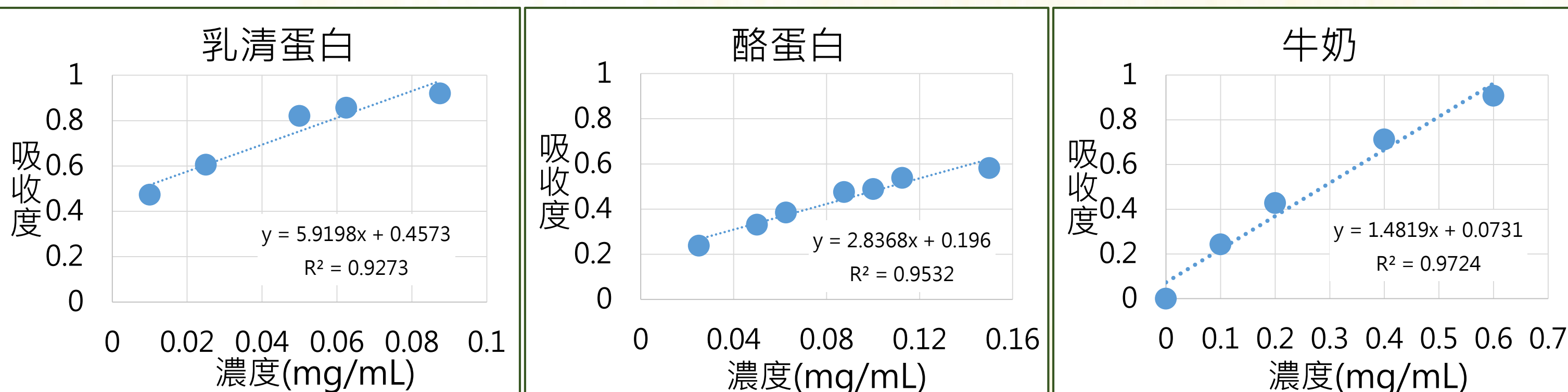
## 研究二、測定牛奶特性

### 實驗2-1 利用雙縮脲試劑製作乳清蛋白及酪蛋白檢量線



乳清蛋白檢量線之斜率略高於酪蛋白，但在各濃度下的吸光度差異不大。

### 實驗2-2 利用考馬斯亮藍試劑製作蛋白質檢量線



不同濃度(a)乳清蛋白/(b)酪蛋白/(c)牛奶加考馬斯亮藍試劑呈色情形



實驗2-3 測定蛋白質溶液還原碘之能力

蛋白質溶液	牛奶	乳清蛋白	酪蛋白
滴入的碘液 (mL)	0.20	0.11	2.55

酪蛋白的抗氧化力遠高於牛奶及乳清蛋白。

實驗2-4 測定蛋白質溶液清除DPPH自由基之能力

乳製品	牛奶	乳清蛋白	酪蛋白
517nm 平均吸收度	57.03%	58.49%	45.28%

乳清蛋白之清除DPPH自由基能力最佳，略大於牛奶，明顯高於酪蛋白。

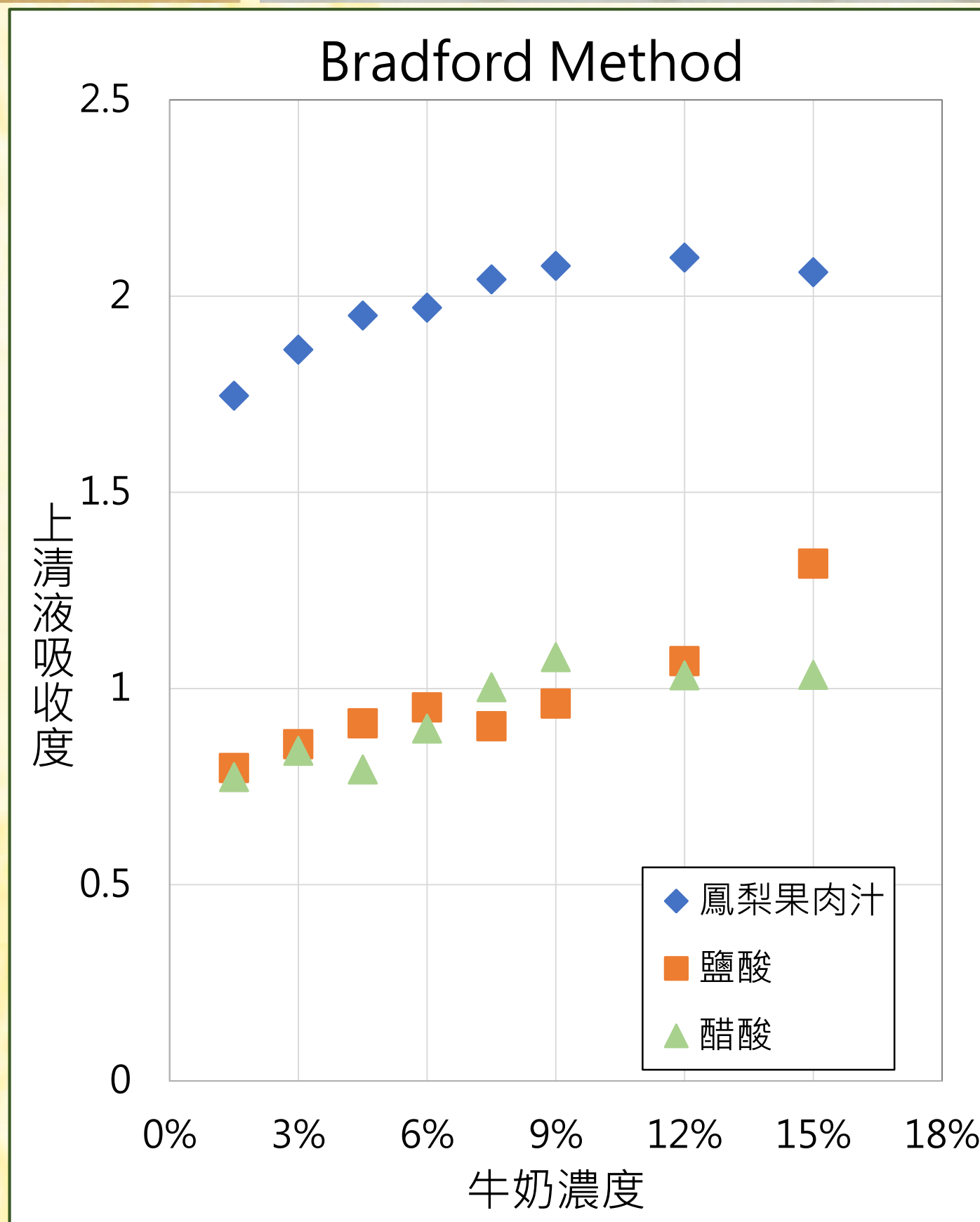
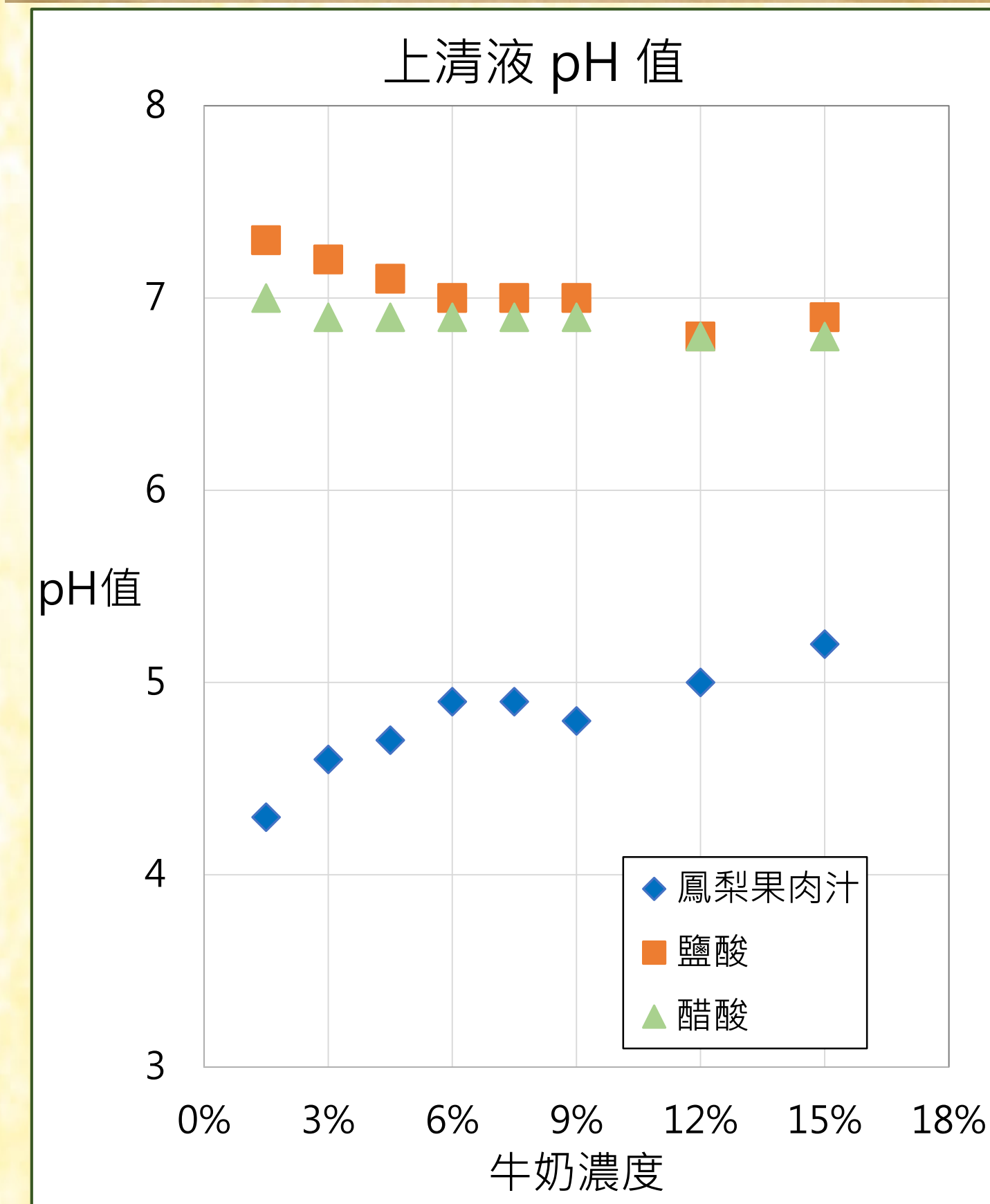
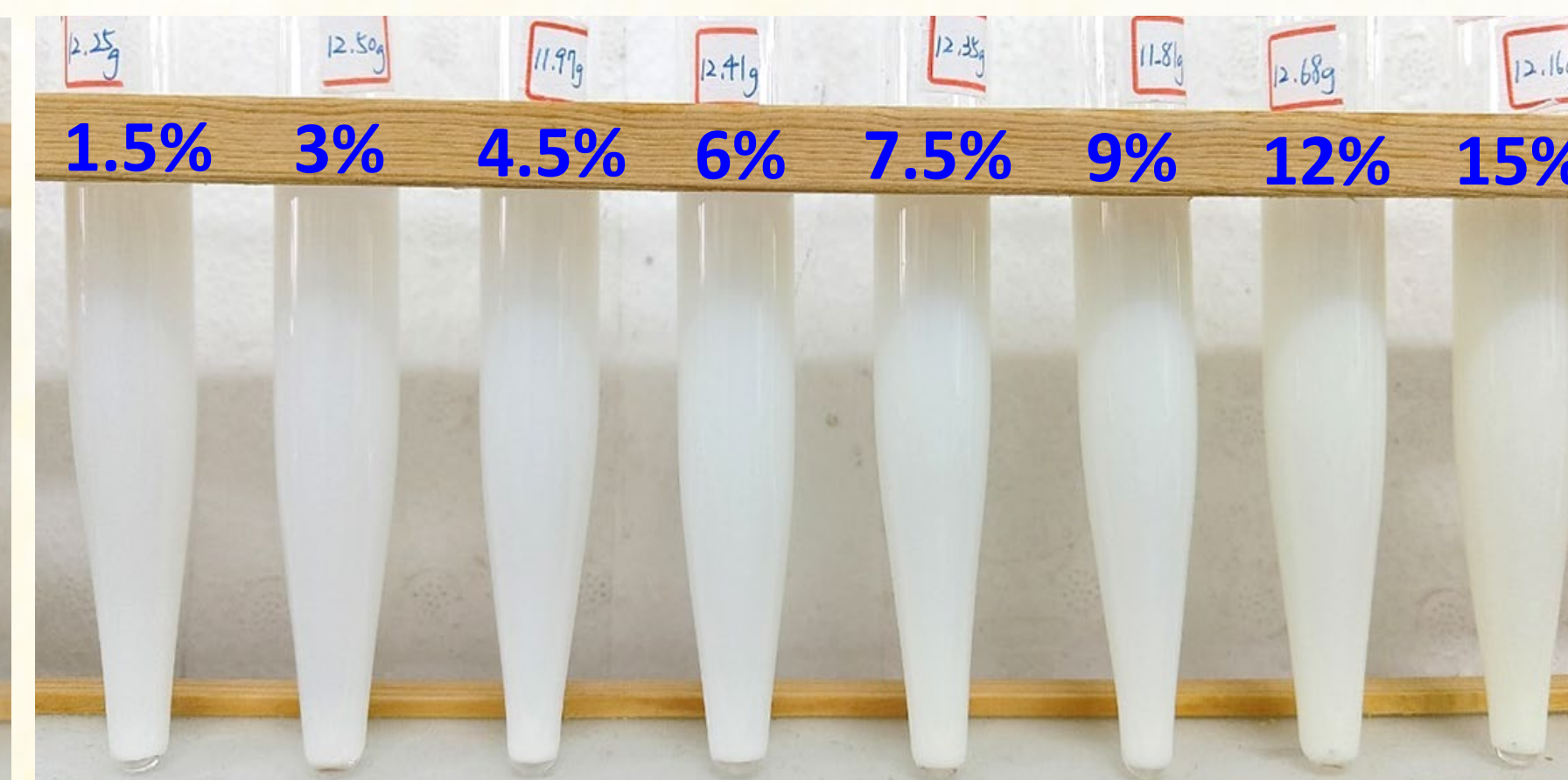
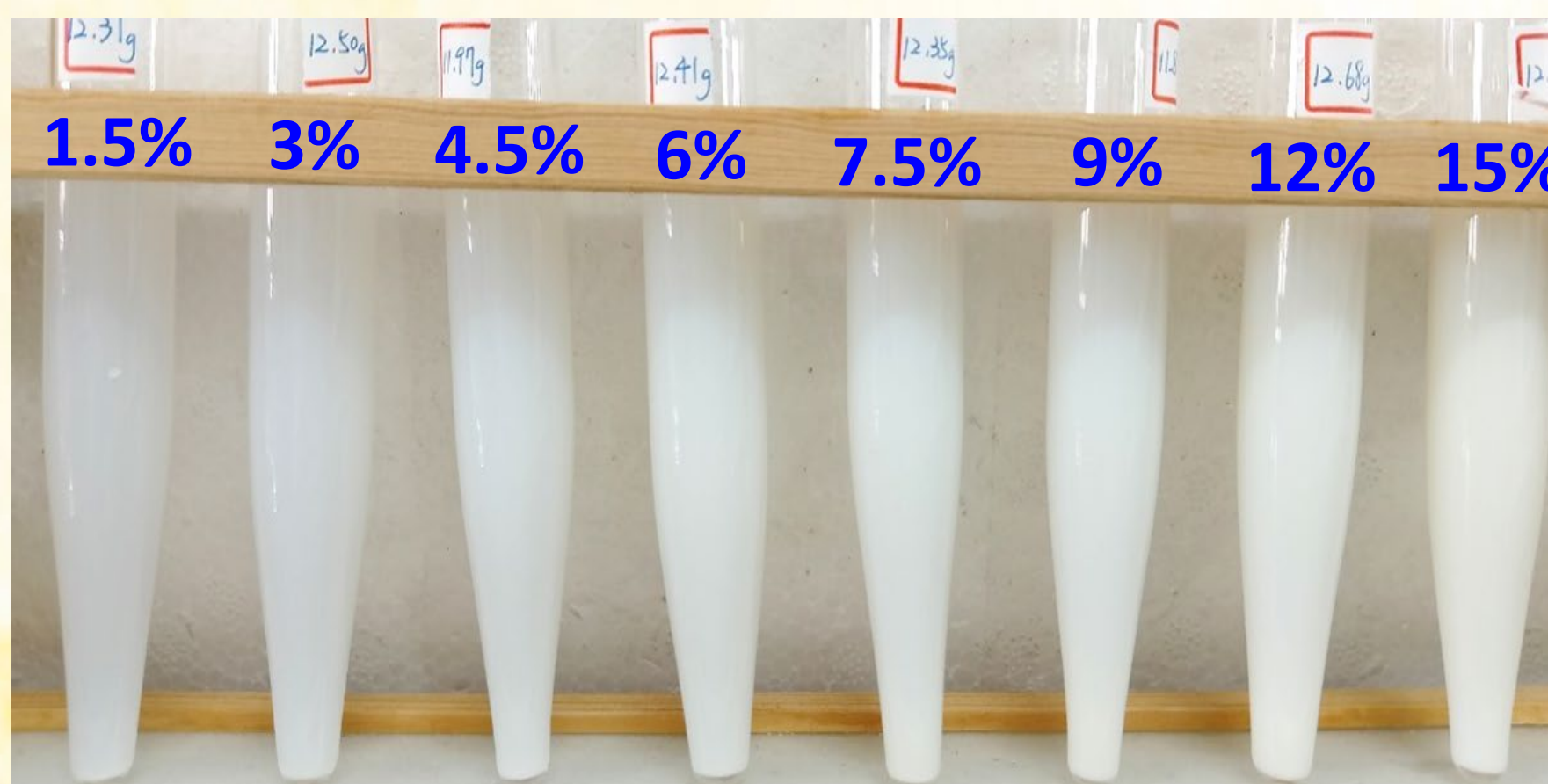
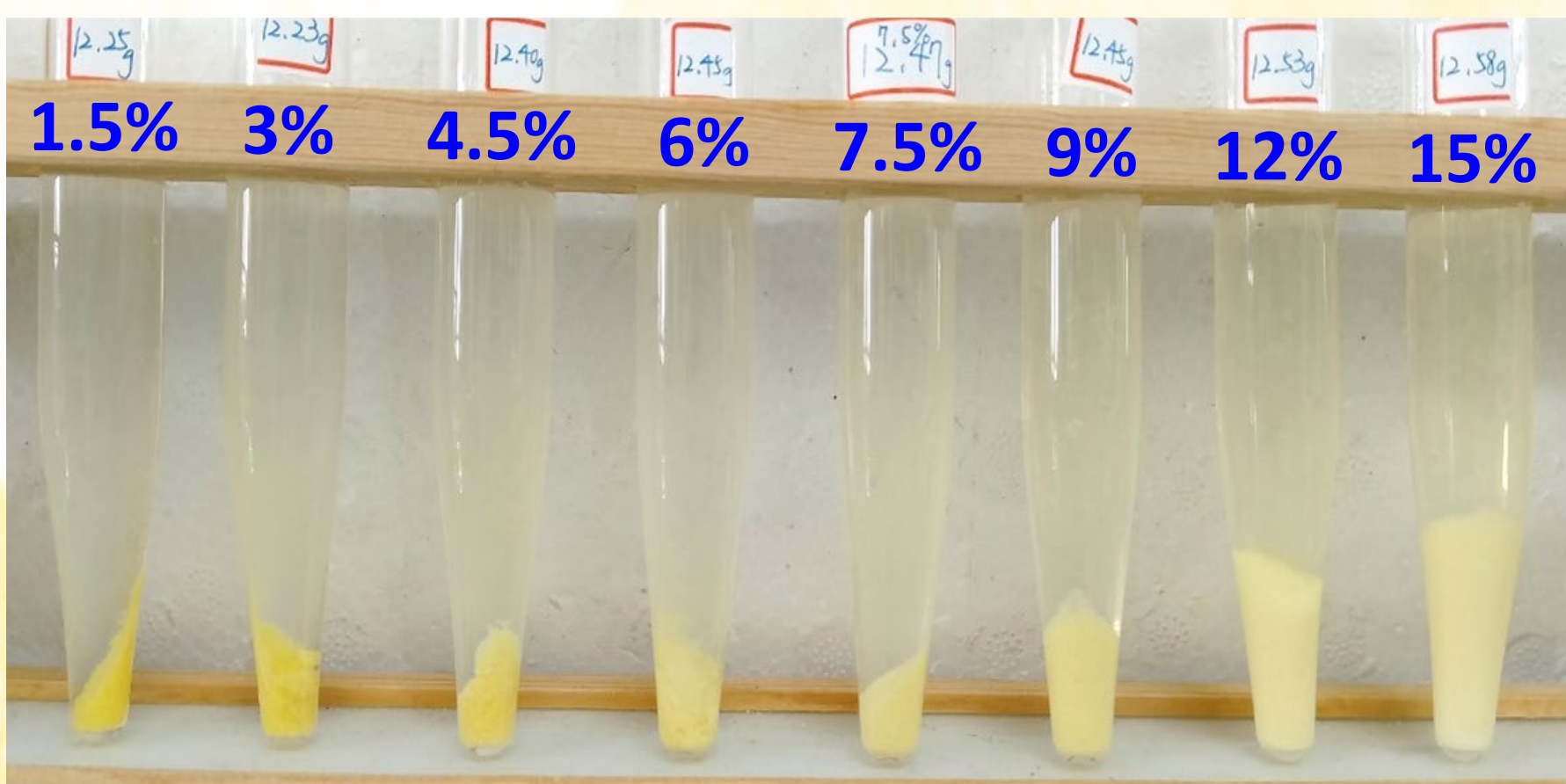
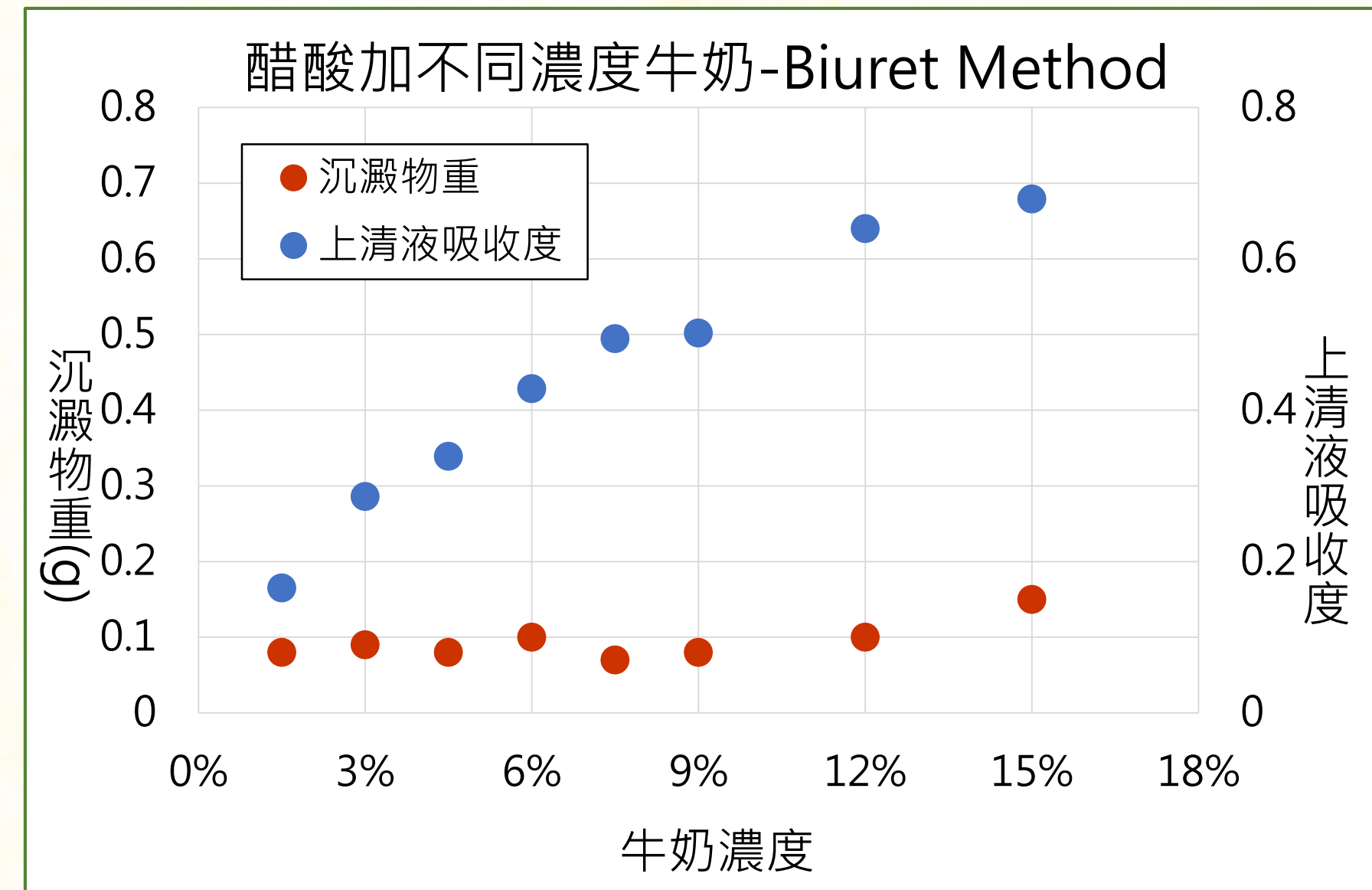
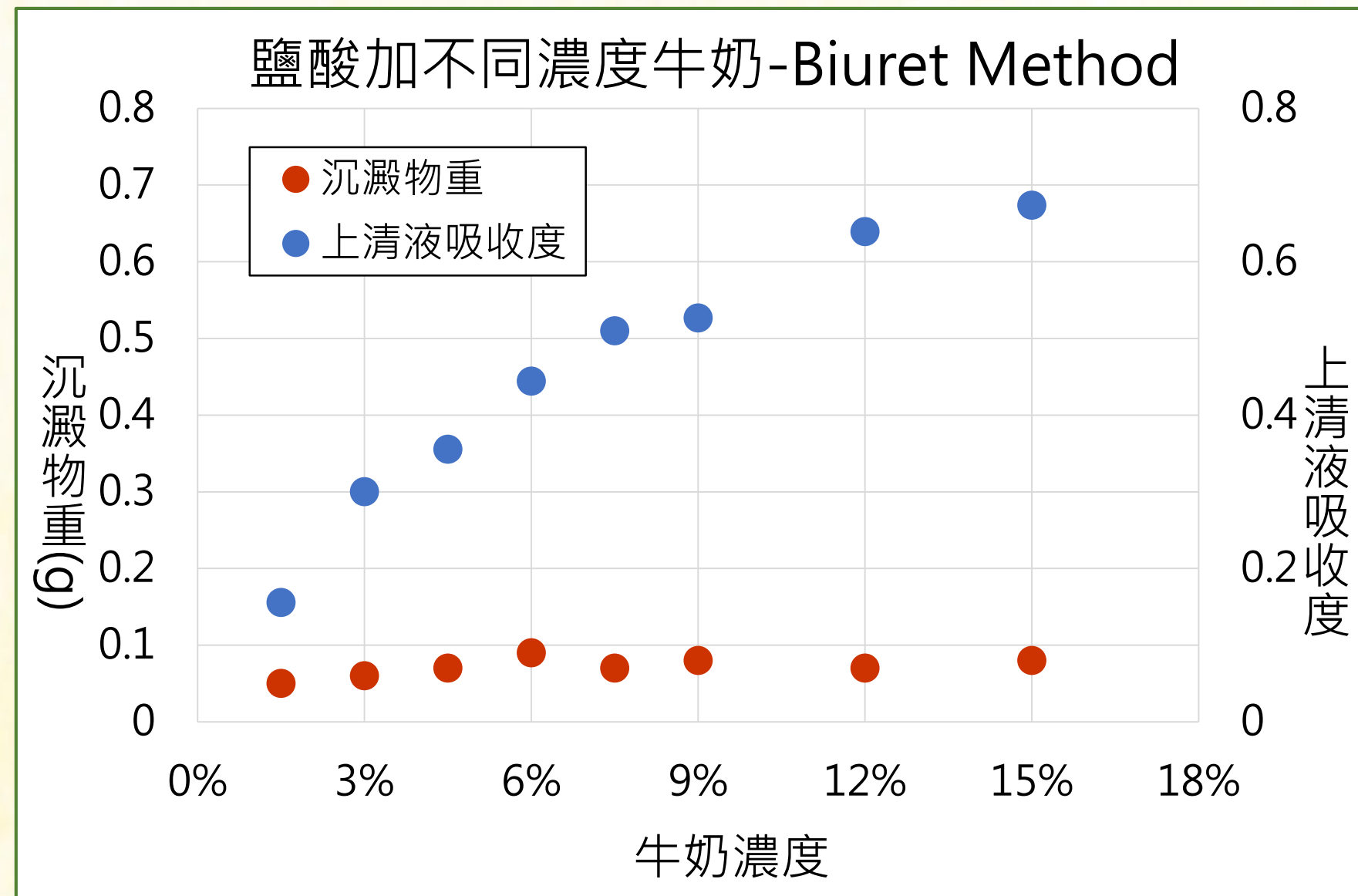
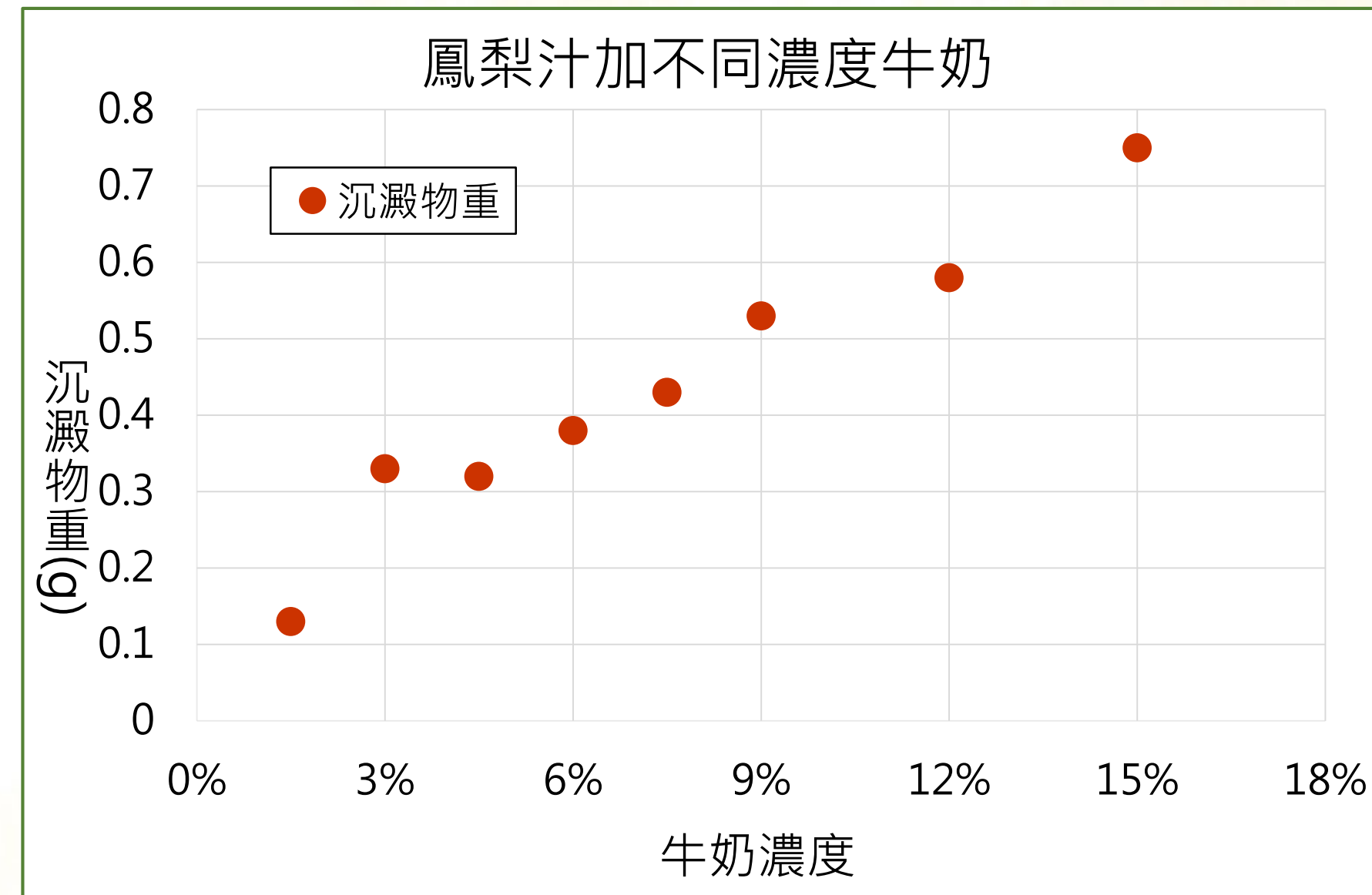
實驗2-5 測定蛋白質溶液之還原力

乳製品	牛奶	乳清蛋白	酪蛋白
700nm 平均吸收度	0.201	0.178	0.180

牛奶還原力略高於乳清蛋白與酪蛋白，而乳清蛋白與酪蛋白則無顯著差異。

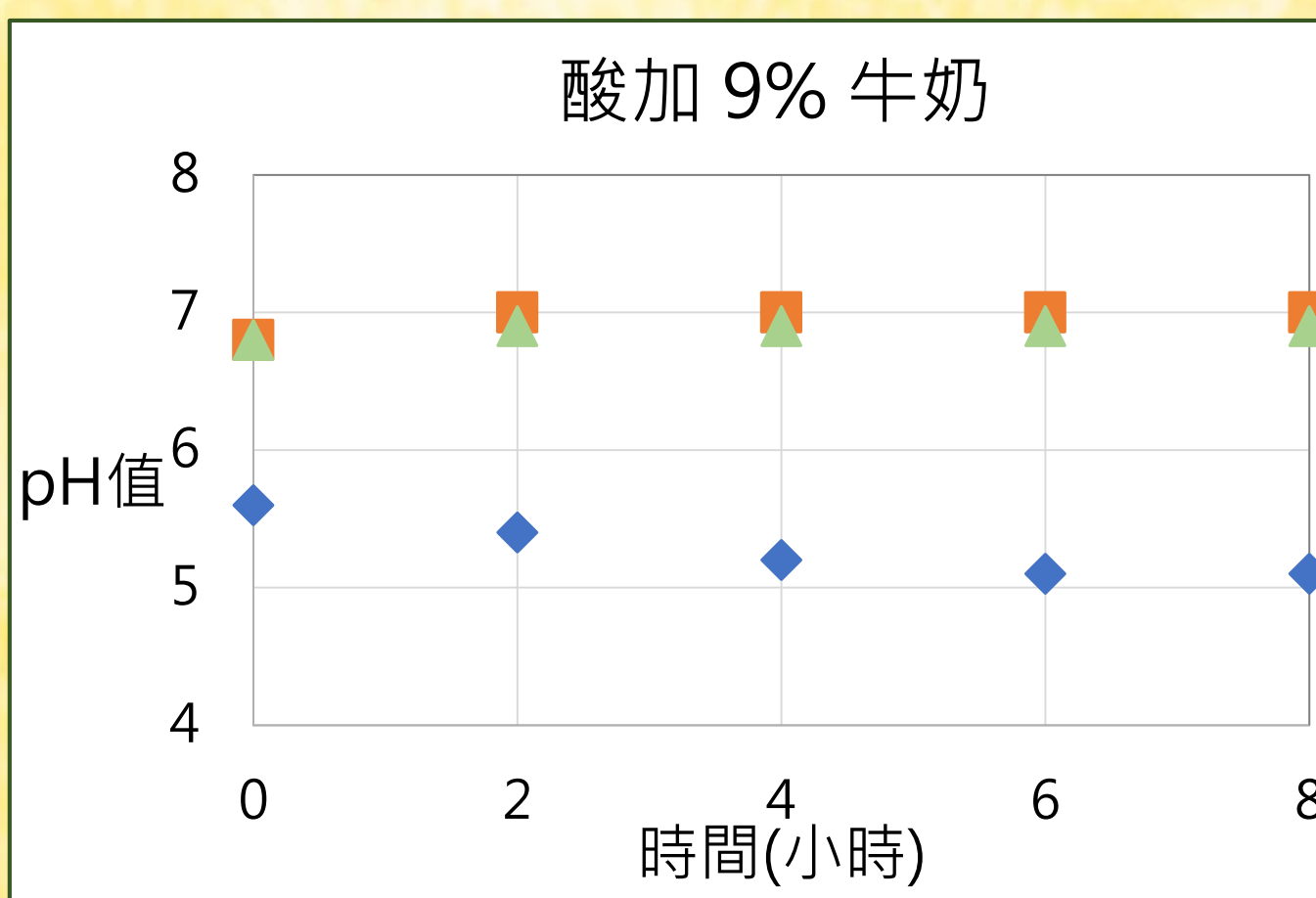
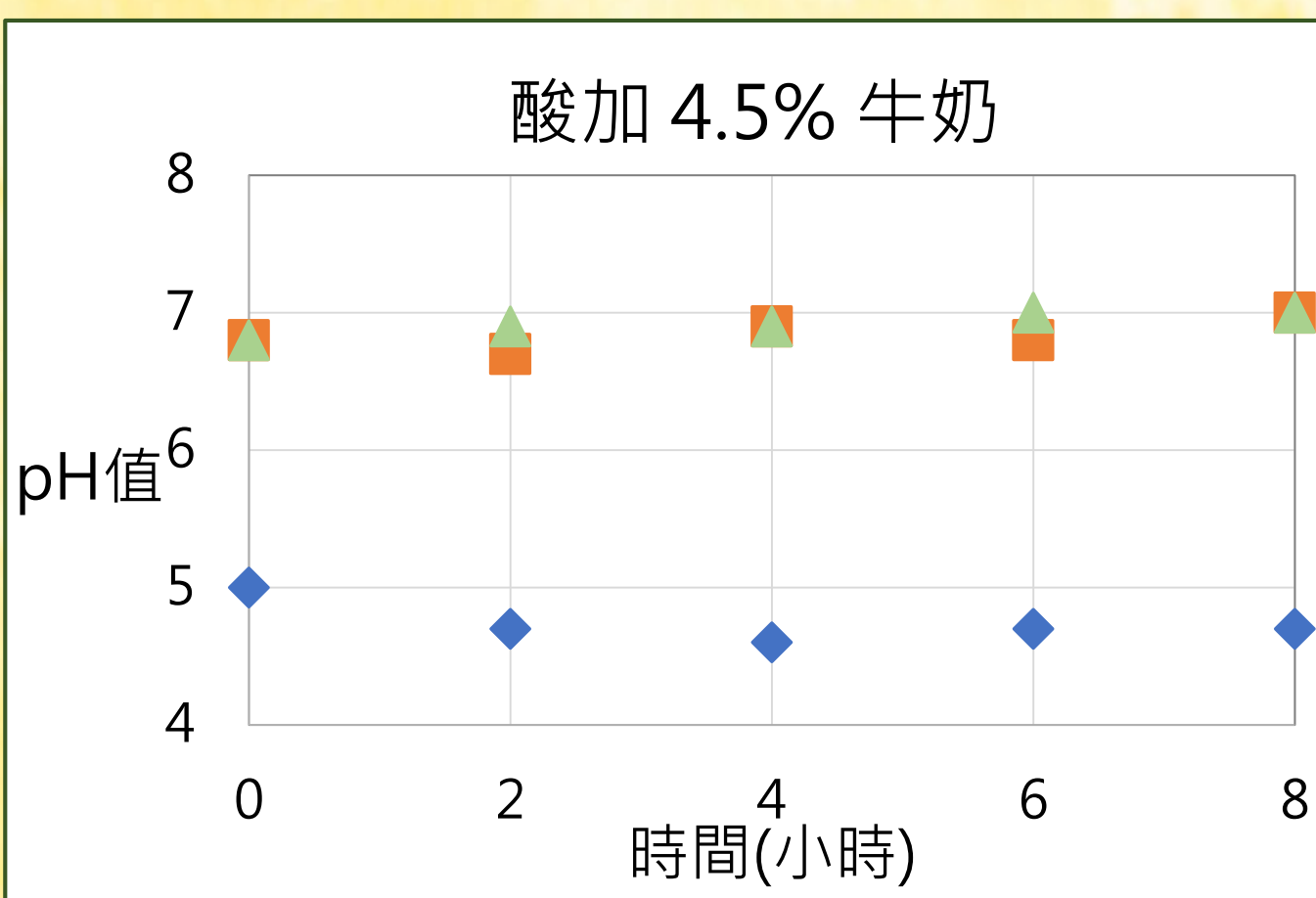
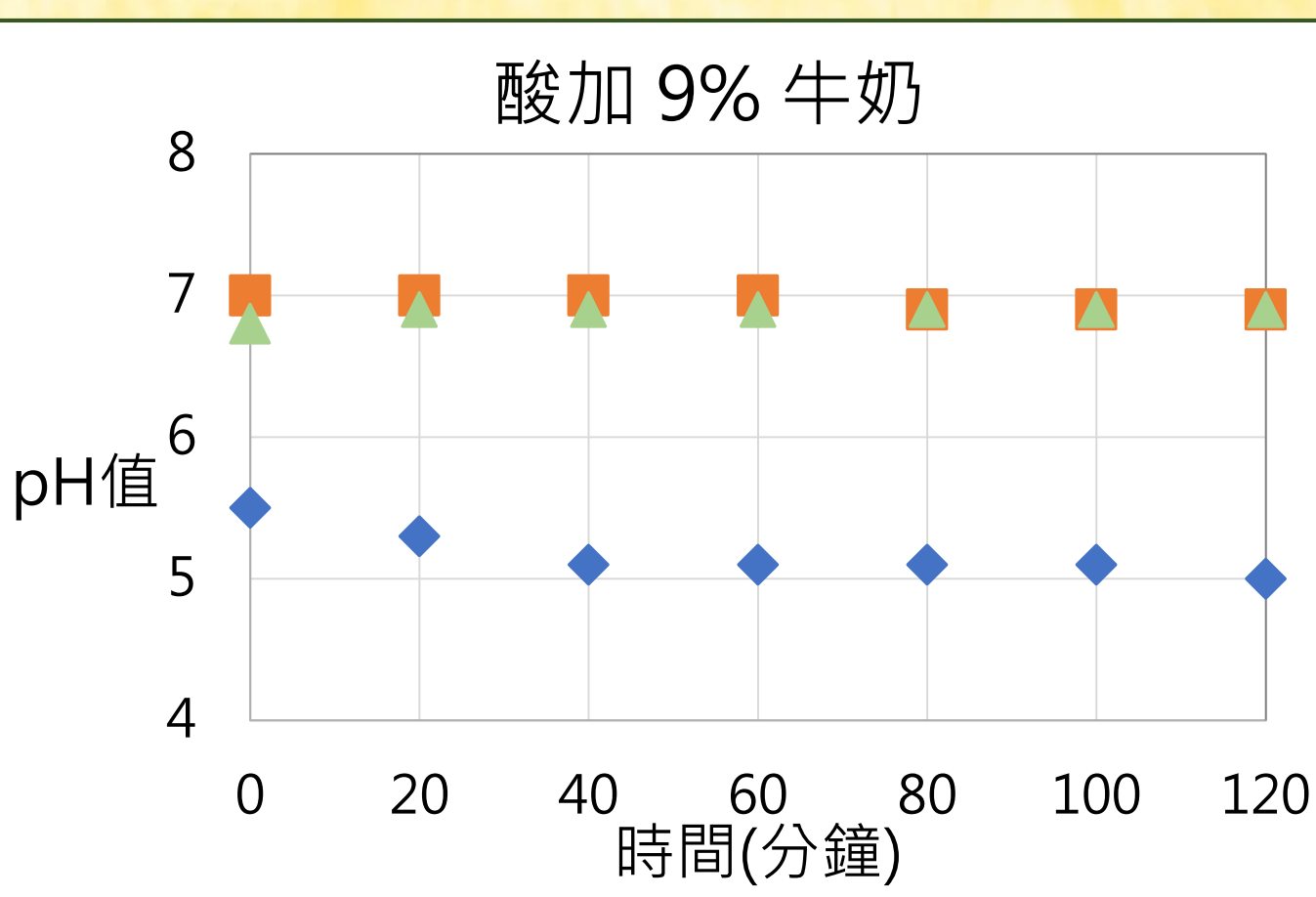
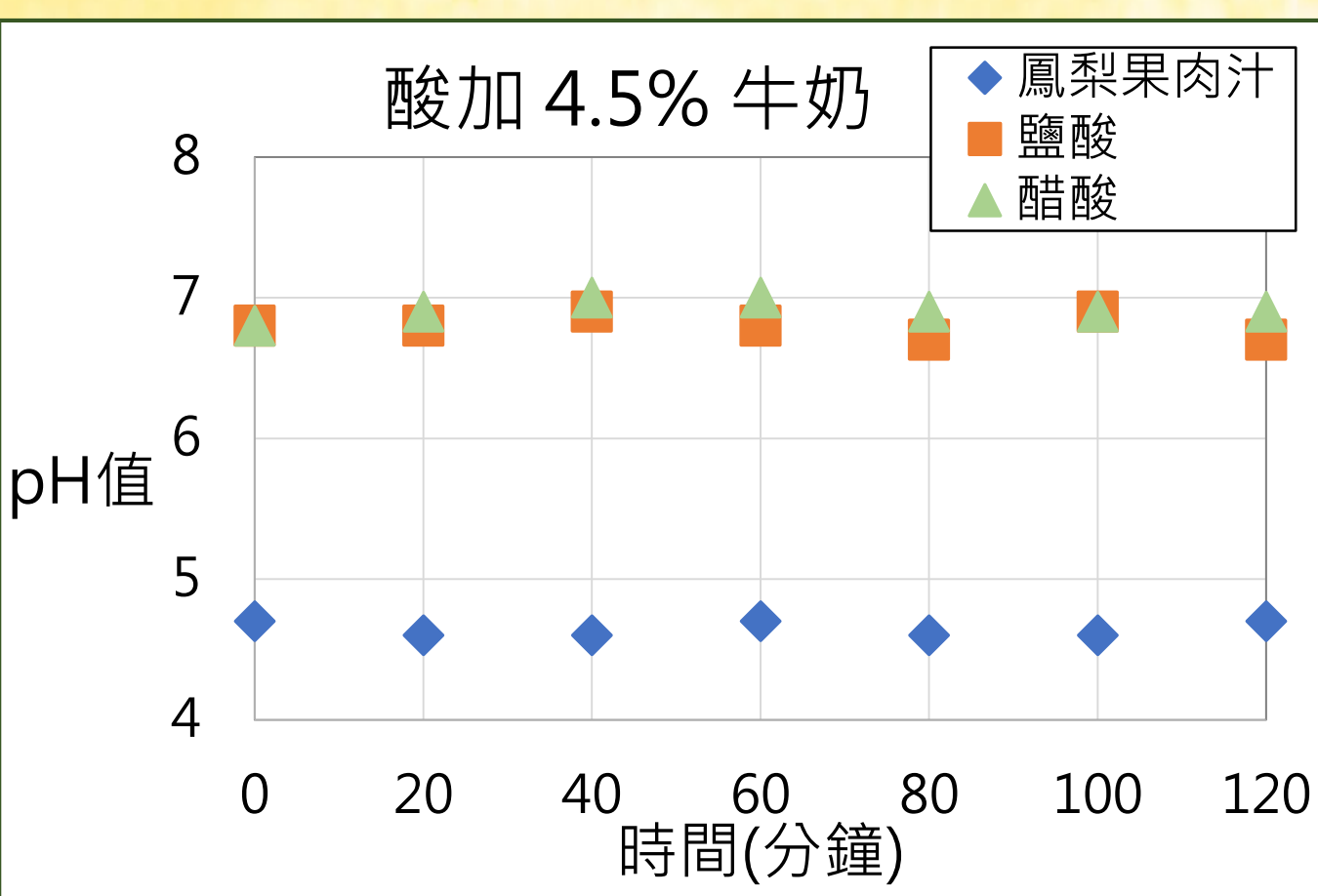
研究三、探討鳳梨與牛奶的反應情形

實驗3-1、3-2 鳳梨果汁和酸與不同濃度牛奶的反應情形



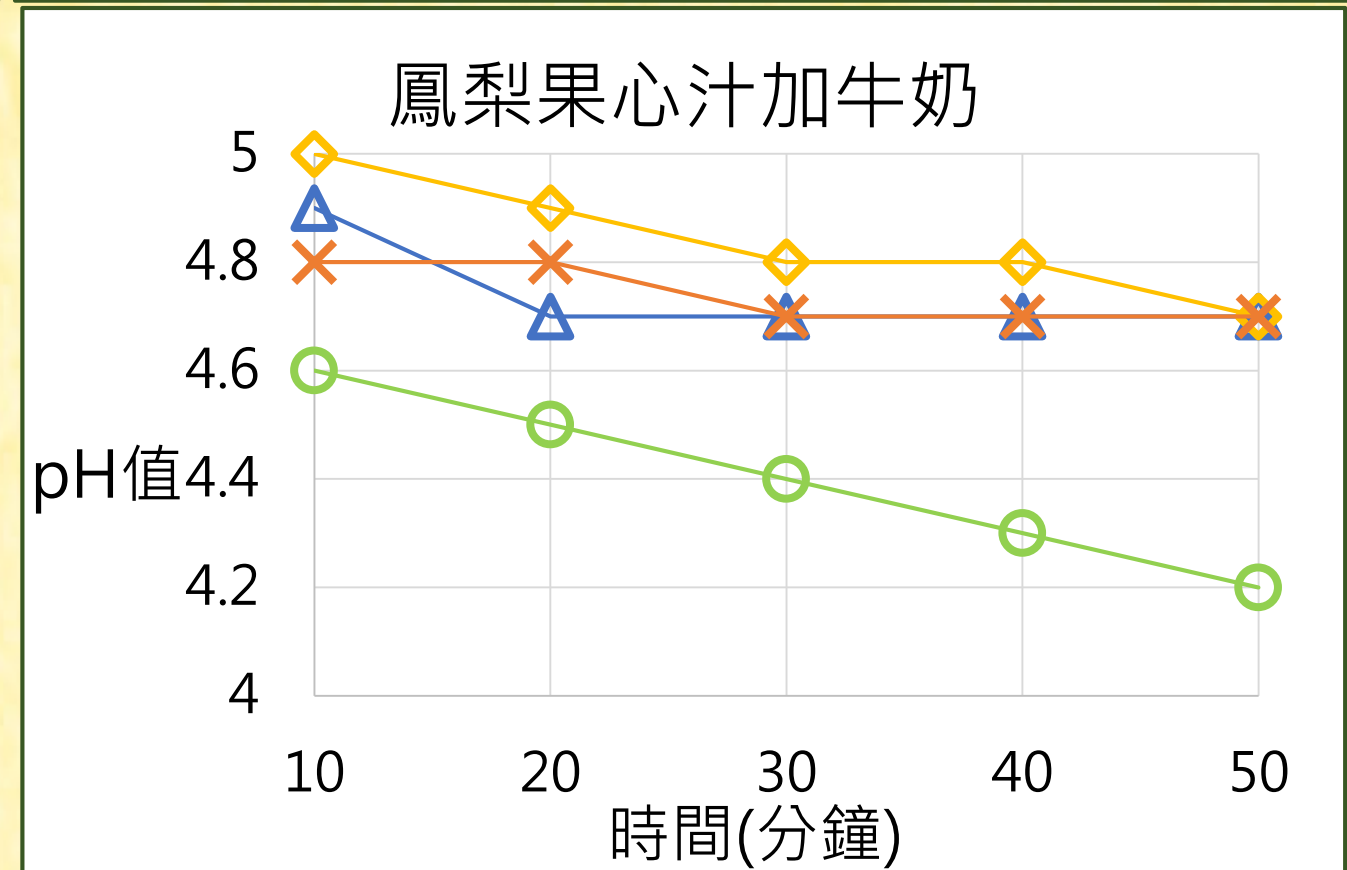
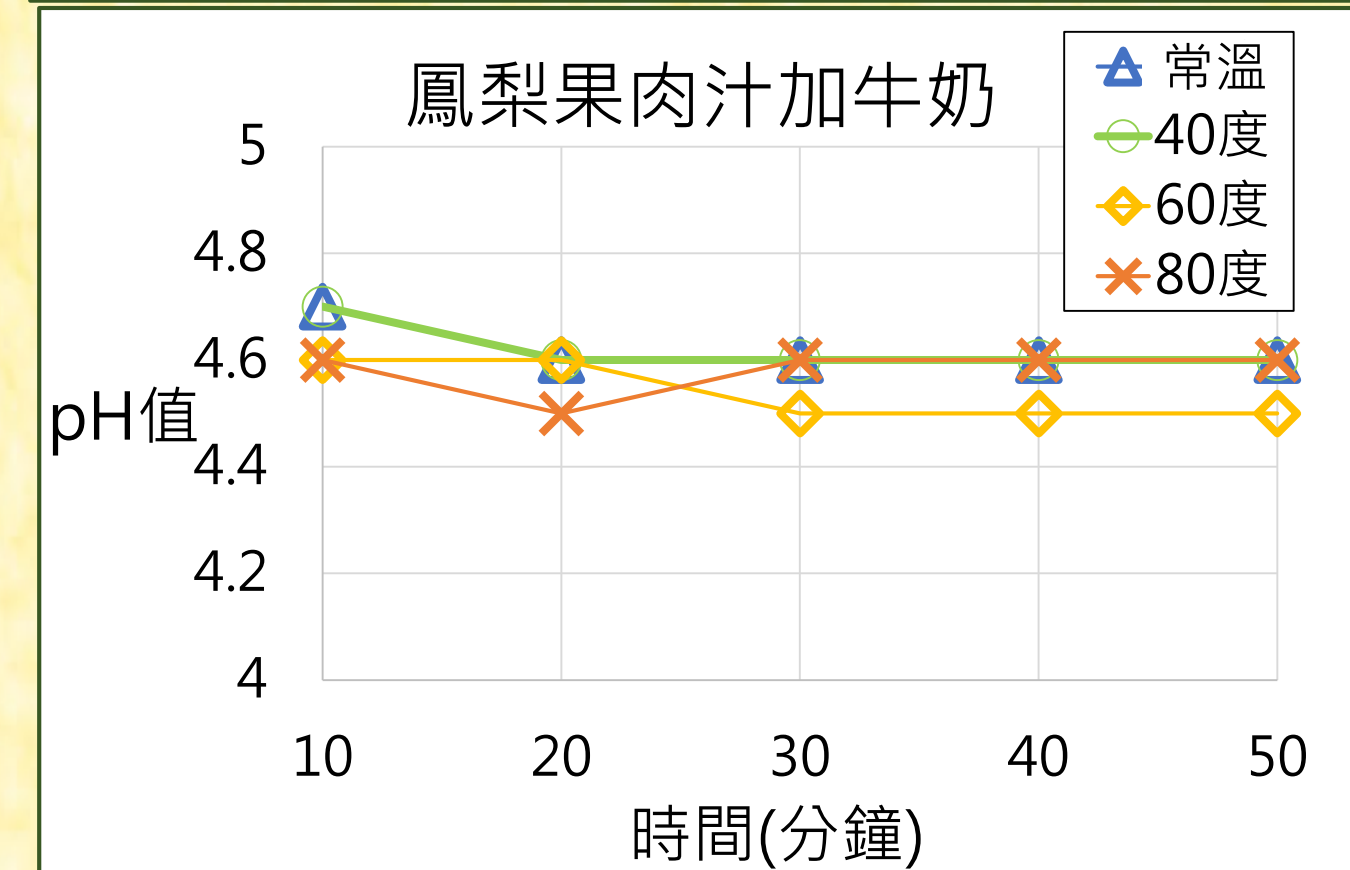
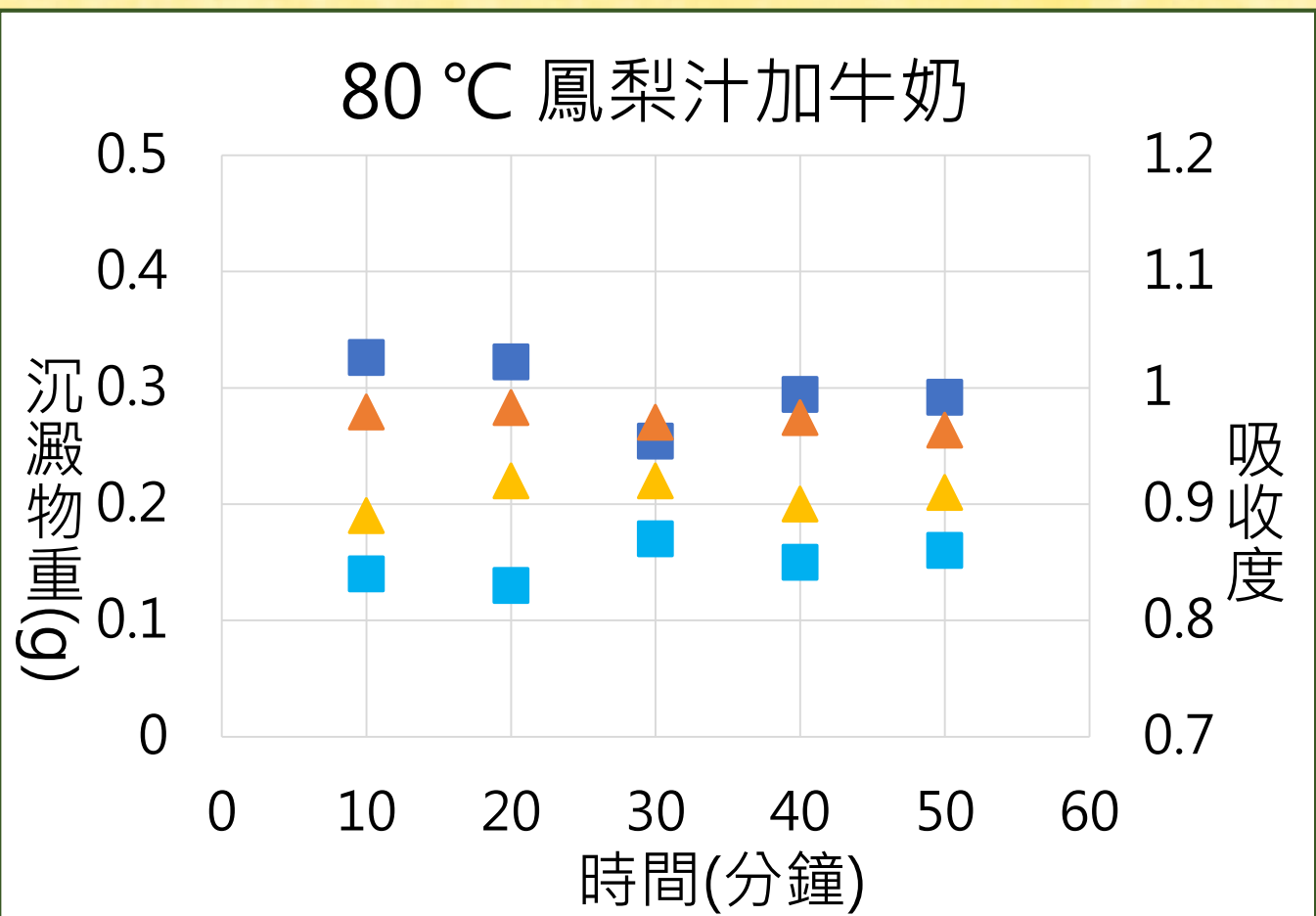
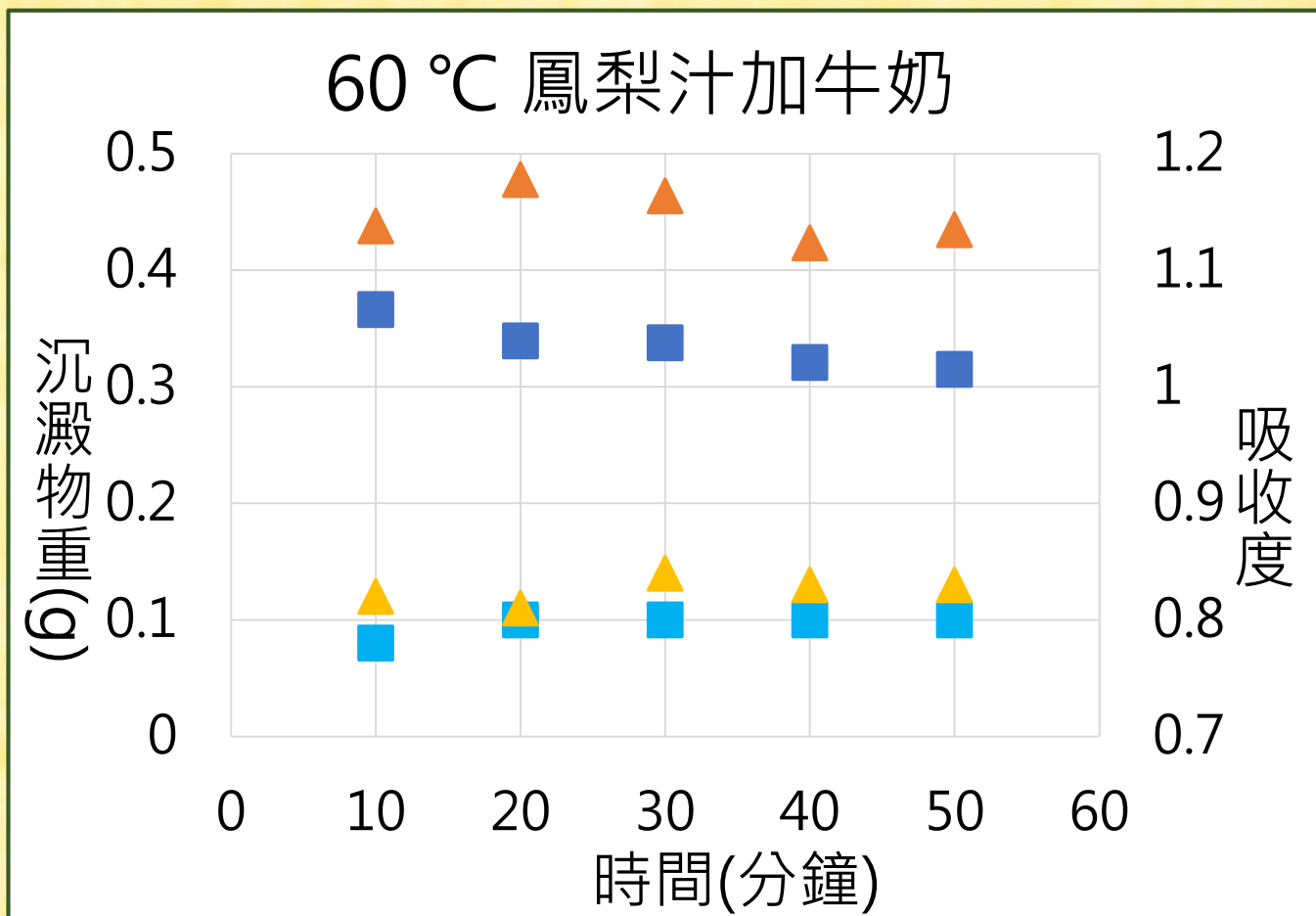
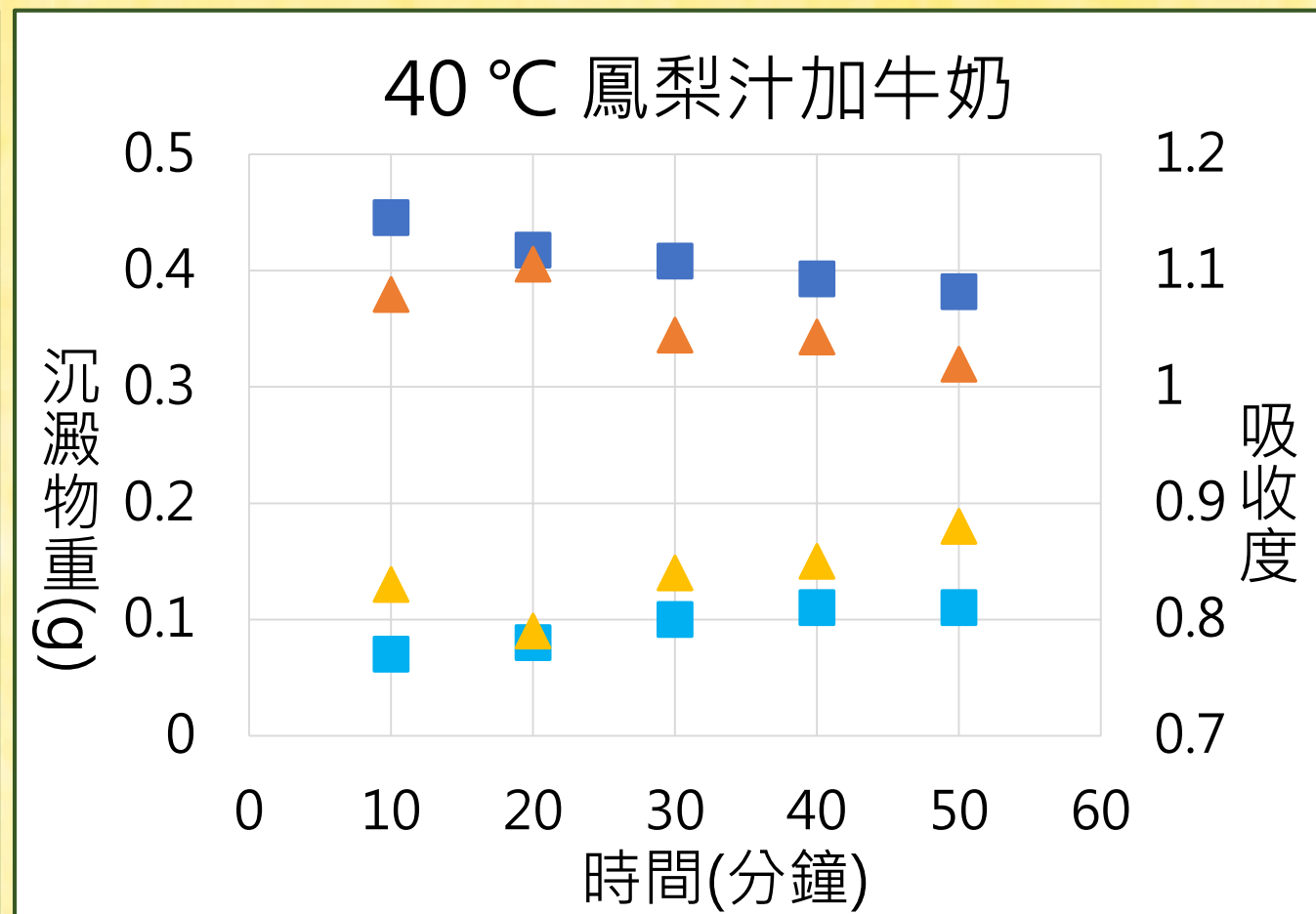
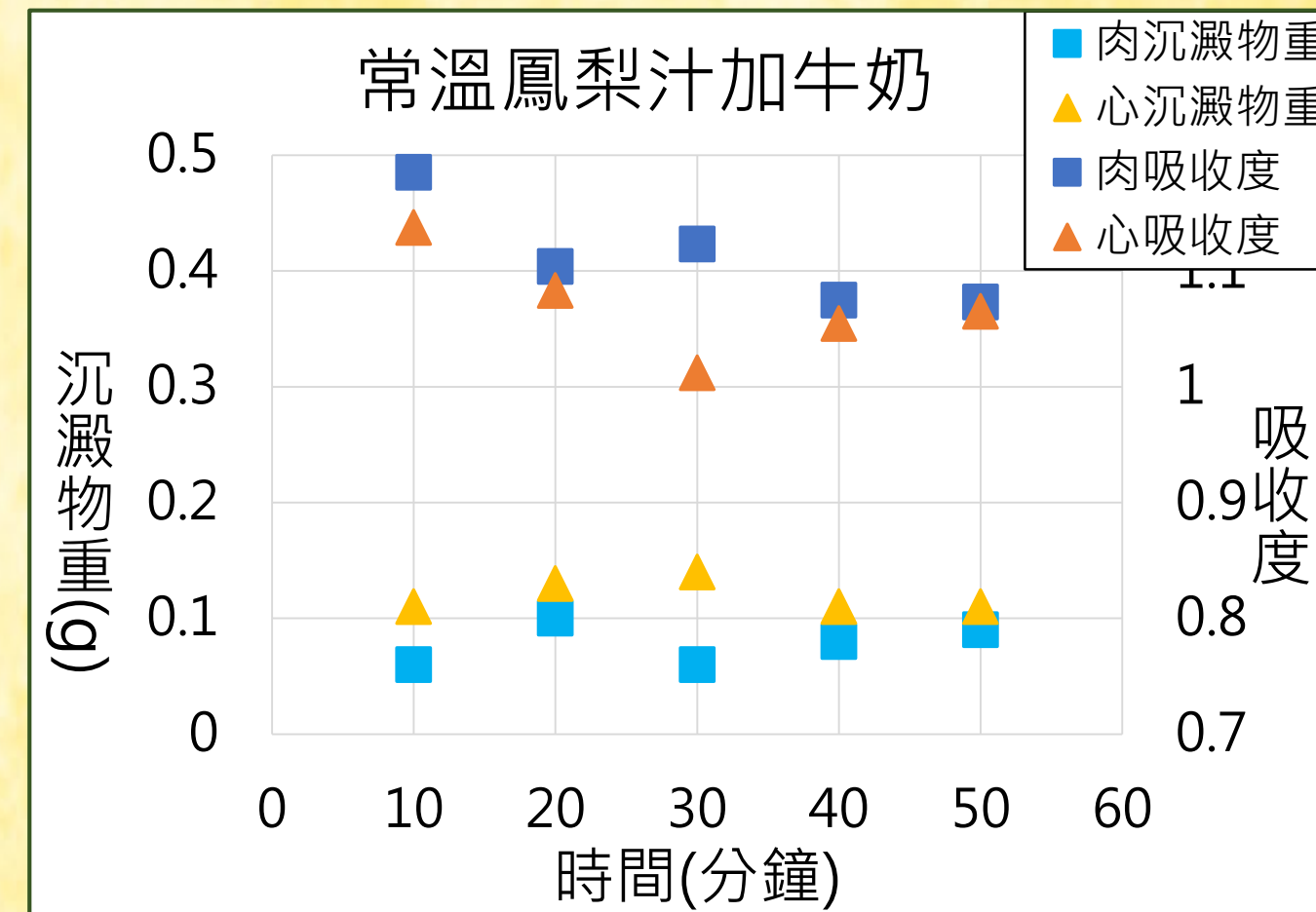
1. 加鳳梨汁的牛奶的 pH 值與加入其他酸類的牛奶的酸鹼值有顯著不同。牛奶的原先的 pH 值為 6.6，加入 pH=4 的鹽酸和醋酸後 pH 值竟上升至 7。由於酸和酵素皆能水解蛋白質，在經過一天的反應時間後，可以推論以鳳梨汁水解牛奶中的蛋白質產物主要為酸性，而以酸水解的產物則為中性或鹼性。
2. 因為醋酸為弱酸，能與蛋白質上的胺基或羧基起到緩衝作用，而使 pH 值的變化較加入鹽酸小。由於酪蛋白的 pI 值為 4.6，越接近 pI 值，酪蛋白的沉澱量越多，而加入鳳梨汁反應後的 pH 值最低且接近 pI 值，因此沉澱量最多。
3. 由於鹽酸和醋酸加牛奶後的上清液與考馬斯亮藍混合後的吸收度過大，分光光度計無法量測，因此我們將鹽酸和醋酸牛奶的上清液先稀釋 1000 倍後再加考馬斯亮藍試劑，可得到左圖的結果。

實驗3-3、3-4 鳳梨果汁和酸與不同濃度牛奶隨時間變化之情形



1. 牛奶的 pH 值為 6.6，而鳳梨汁、鹽酸及醋酸加入 5 mL 去離子水代替牛奶，得到的 pH 值分別為 4.3、4.3、4.2。
2. 鹽酸和醋酸加牛奶後，前 120 分鐘 pH 值無明顯變化，皆接近 7 左右，但鳳梨汁加 4.5% 牛奶的 pH 值一直約為 4.6，加 9% 牛奶的 pH 值則明顯可看出隨著時間經過 pH 值逐漸下降，進一步驗證了我們的想法：鳳梨牛奶中之鳳梨酵素隨著時間與蛋白質反應，產生酸性之產物；鹽酸和醋酸牛奶隨著時間產生主要為鹼性及中性之產物。
3. 拉長時間觀察，pH 值的變化變得更明顯，鳳梨牛奶上清液之 pH 值有逐漸下降之趨勢；鹽酸和醋酸牛奶上清液之 pH 值微微上升。

實驗3-5 不同溫度鳳梨汁加牛奶隨時間變化之情形



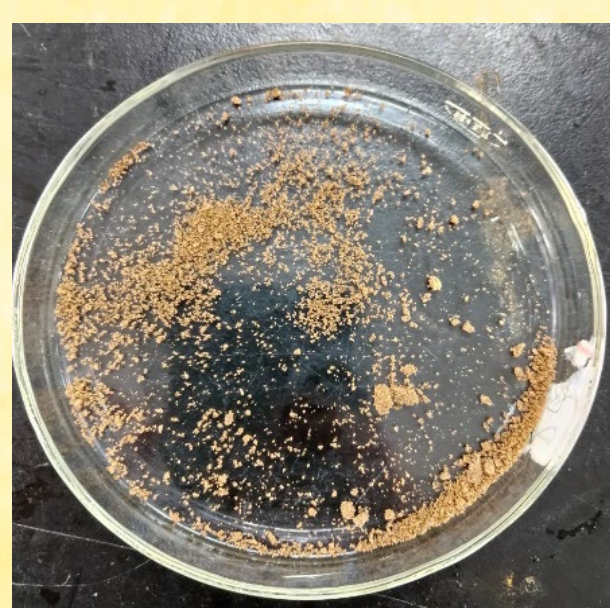
1. 在常溫時，鳳梨果心汁可使等量的牛奶吸收度下降得較多，我們認為可能是因為在鳳梨果心部位的鳳梨酵素活性較高。
2. 經不同溫度處理後，鳳梨酵素的活性大小不同，當牛奶加入 60°C 處理的鳳梨果肉汁時，可發現上清液吸收度明顯較低溫處理的鳳梨果肉汁低，代表經過 60°C 處理的鳳梨果肉汁與蛋白質反應的活性較高，而鳳梨果心汁則以 80°C 處理後與蛋白質反應的活性較高。



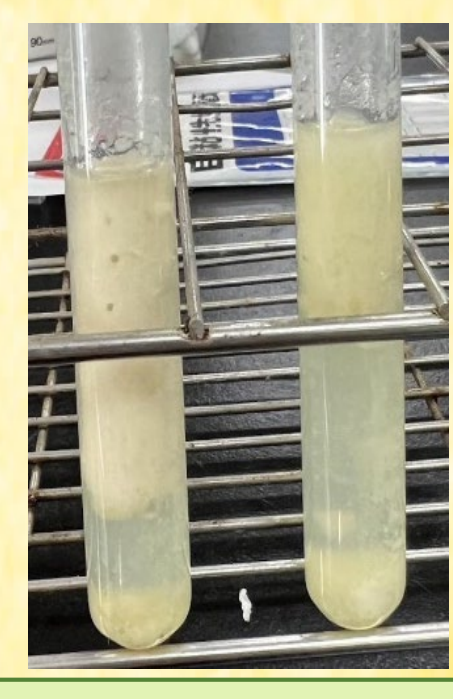
### 實驗3-6 鳳梨酵素對牛奶的影響



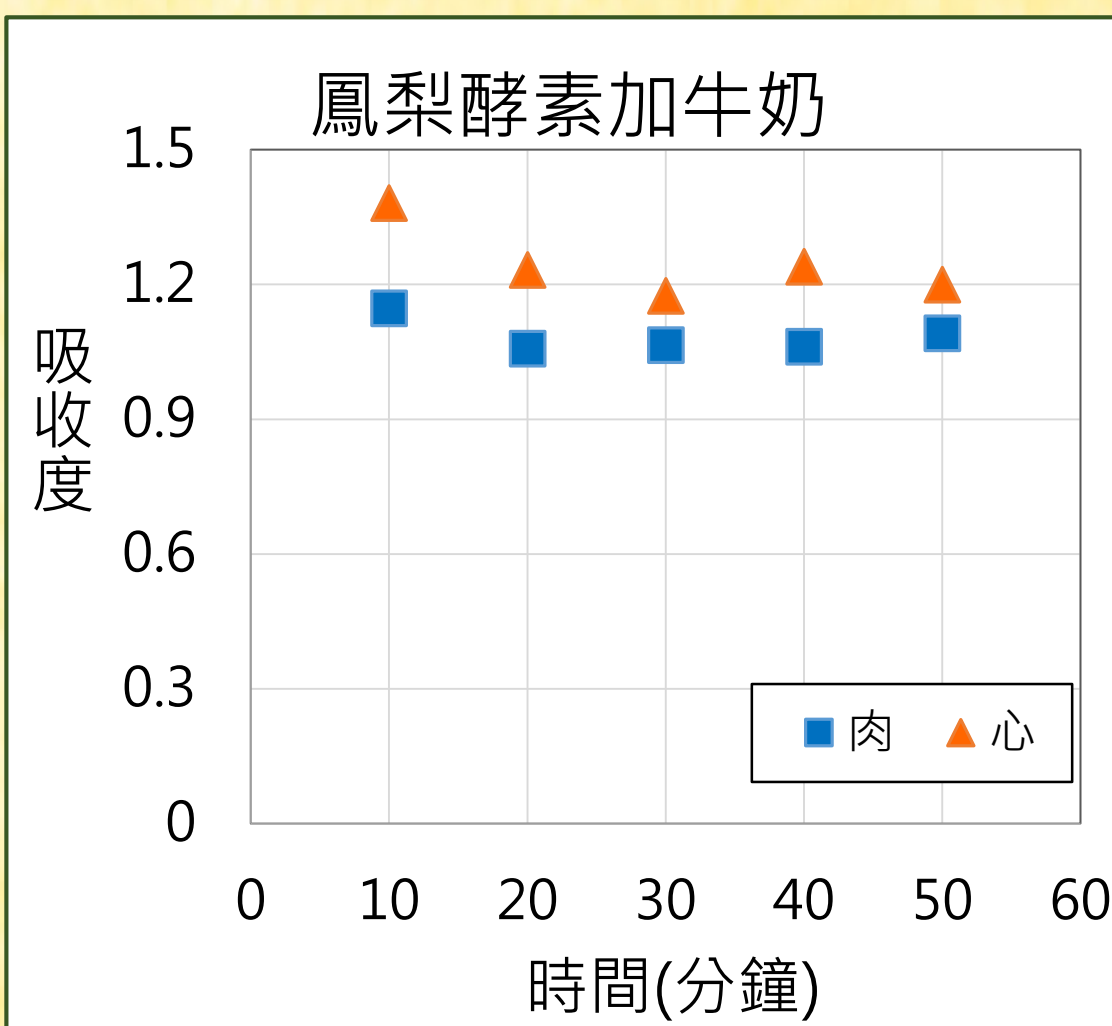
鳳梨果肉酵素



鳳梨果心酵素



鳳梨果肉及果心酵素加牛奶之結果

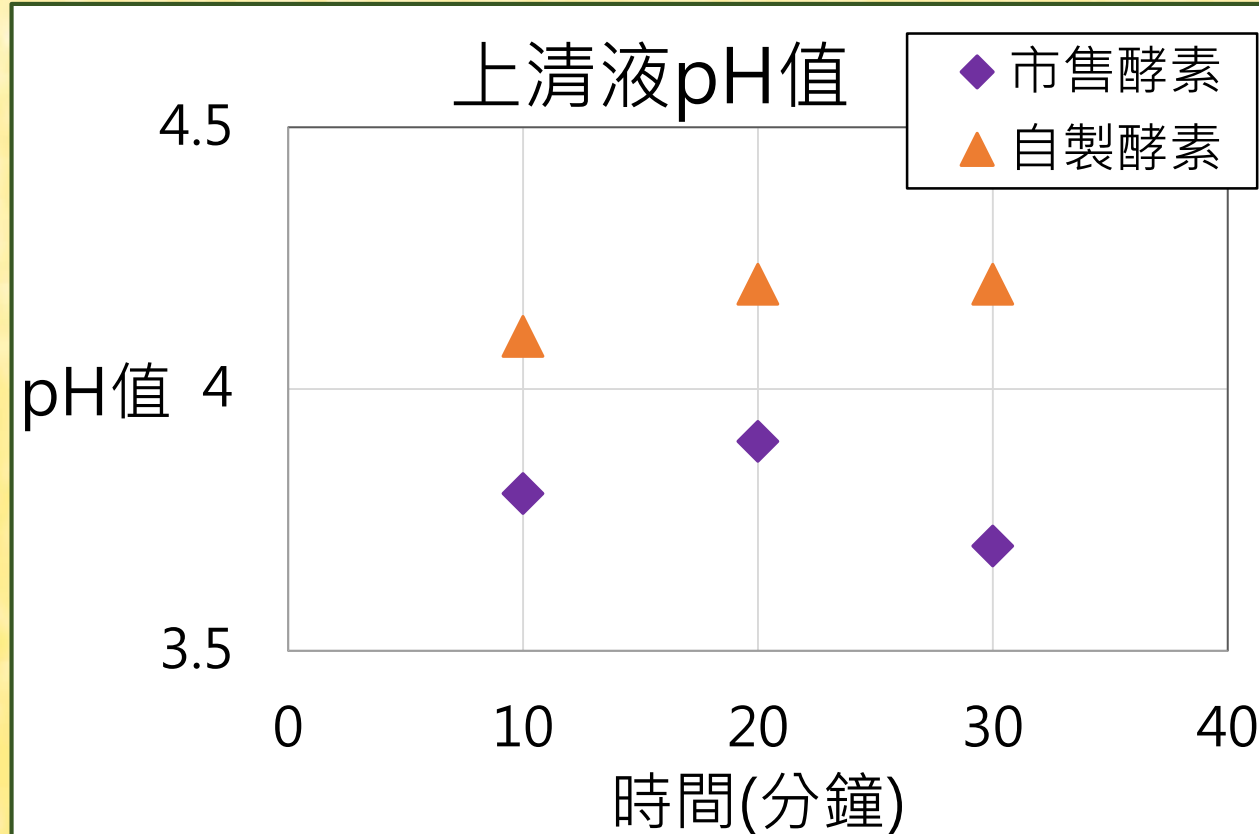
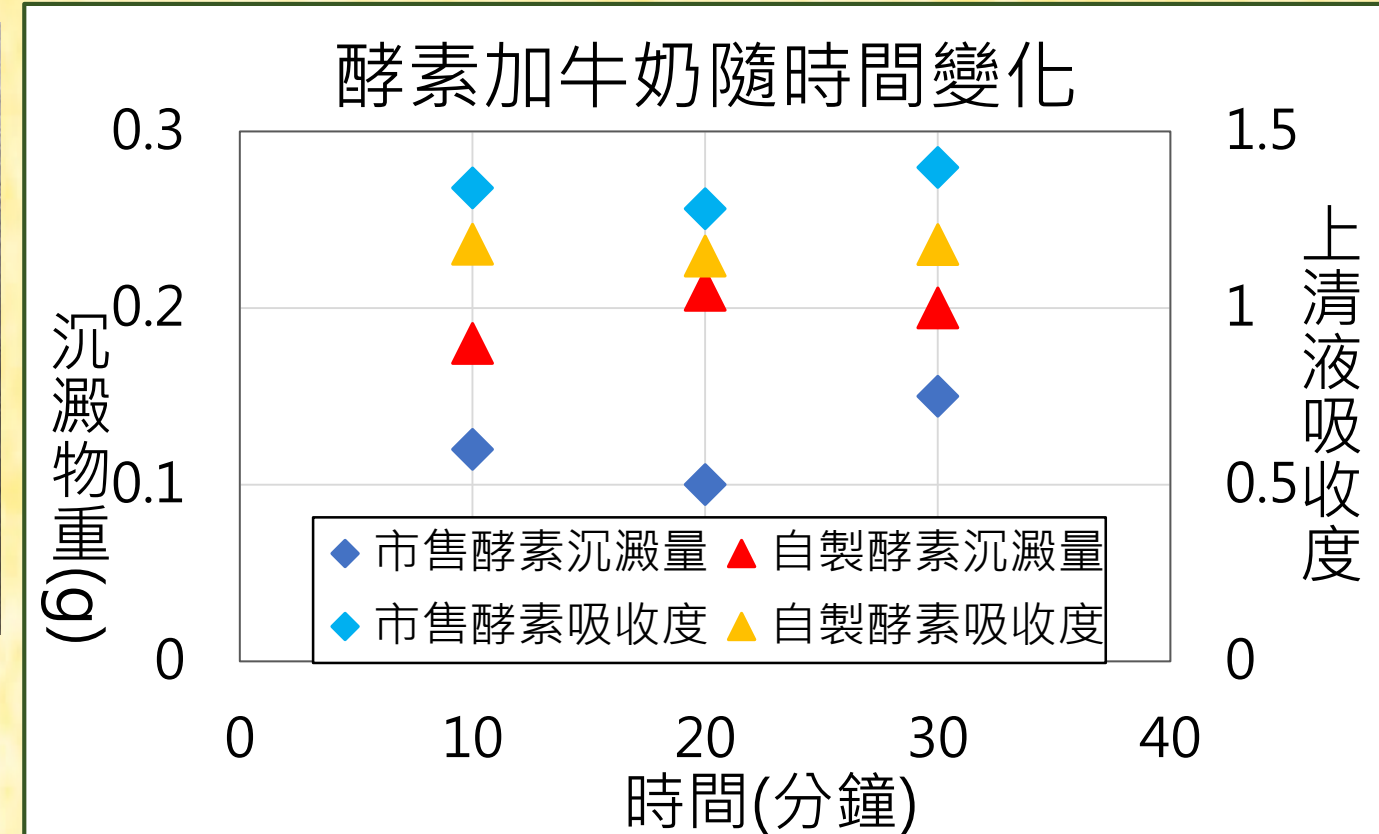


- 於等體積的鳳梨果肉汁及鳳梨果心汁中萃取出來的鳳梨酵素，以從鳳梨果肉汁得到的粗產物較多。
- 以 55 °C 烘乾後的所得的鳳梨酵素加牛奶，和實驗 2 中將鳳梨果汁加熱至 60 °C 冷卻後加牛奶，其上清液的吸收度皆是果心大於果肉，因此我們認為鳳梨果肉中的酵素經約 60 °C 的處理可以使其活性提高。

### 實驗3-7 比較自製鳳梨酵素與市售鳳梨酵素對牛奶結塊之影響



市售鳳梨酵素



- 市售鳳梨酵素亦可使牛奶產生沉澱，但其沉澱量較自製酵素少，在上清液的吸收度較高，酸鹼值則較低。
- 自製鳳梨酵素與牛奶中蛋白質反應性較好

## 研究四、製作鳳梨牛奶面膜

### 實驗4-1 水解酪蛋白產物之抗氧化力



分別加入鳳梨汁及醋酸至牛奶中，抽濾得沉澱的酪蛋白



取 1 g 的酪蛋白沉澱，加入 10 mL 的碘液，攪拌均勻後，用濾紙過濾。取 5 mL 的濾液倒入錐形瓶，以硫代硫酸鈉滴定至變呈透明無色。

酸的種類	鳳梨汁					醋酸					
	時間(分)	10	20	30	40	50	10	20	30	40	50
平均Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 消耗體積(mL)		7.5	6.3	5.6	3.2	1.9	9.1	7.7	6.6	3.4	2.9

- 以硫代硫酸鈉滴定 5 mL 原來的碘液，需要 24.1 mL 恰能達滴定終點。
- 隨著時間經過，沉澱的酪蛋白逐漸水解，需消耗的硫代硫酸鈉體積會逐漸減少，代表以鳳梨汁或醋酸水解酪蛋白的時間越長，抗氧化力越好。推論水解酪蛋白後的產物（胜肽或胺基酸）具有高度的抗氧化力，而且以鳳梨汁水解的抗氧化力高於醋酸。

### 實驗4-2 海藻酸鈉的抗氧化力

添加 1 g 海藻酸鈉的碘液需要 16.15 mL 的硫代硫酸鈉才能變色，代表海藻酸鈉具有較水解酪蛋白弱的抗氧化力，因此使鳳梨水解酪蛋白與海藻酸鈉混合製備成面膜後，有望提升整體的抗氧化力。

### 實驗4-3 製作鳳梨水解酪蛋白面膜

- 海藻酸鈉可與鈣離子交聯而具有良好的成膜性質，我們發現將鳳梨水解酪蛋白與海藻酸鈉溶液混合後，竟自然形成一片凝膠狀薄膜。
- 牛奶中的酪蛋白會以酪蛋白化鈣 ( calcium caseinate ) 的形態存在，並與磷酸鹽形成複合物分散成膠質狀態的微膠粒 ( micelles )，加入鳳梨汁水解的酪蛋白中仍含有鈣離子，鈣離子會與海藻酸鈉中的羧基 ( —COO— ) 發生反應，取代原本的鈉離子 ( Na<sup>+</sup> ) 而形成離子架橋，導致液體凝固成膠體。



### 實驗4-4 自製鳳梨水解酪蛋白面膜的抗氧化力

剛做好的面膜抗氧化力較佳，但 10 分鐘後的面膜的抗氧化力即變差，與單純只有水解酪蛋白產物的抗氧化力隨時間變化的趨勢不同，因此，若要使用海藻酸鈉做為鳳梨水解酪蛋白面膜的載體，需要做好之後立即使用，以確保其抗氧化力。

面膜製成時間	0 分鐘	10 分鐘
平均Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 消耗體積(mL)	9.77	12.05

## ..... 討論 .....

- 利用雙縮脲試劑及考馬斯亮藍染劑製作蛋白質檢量線，觀察雙縮脲試劑及考馬斯亮藍染劑在蛋白質含量不同時的顏色變化情形，但若牛奶顏色過深，會影響分光光度計之吸收值，所以必須調整稀釋牛奶至適合測量之濃度。
- 考馬斯亮藍加入相同濃度但不同蛋白質種類之溶液，吸收度不同；而雙縮脲試劑雖可在同一濃度、不同蛋白質種類的溶液測得相近之吸收度，但加入鳳梨牛奶上清液會產生變色情形，故無法採用兩者的檢量線進一步得知鳳梨牛奶上清液中所含的蛋白質濃度。

## ..... 結論 .....

### 測定鳳梨汁各項性質

- 利用考馬斯亮藍試劑檢測鳳梨汁中的蛋白質含量，鳳梨果肉中所含的蛋白質比果心多。
- 測定鳳梨汁的抗氧化力時發現，鳳梨果肉汁還原碘液的能力、清除DPPH自由基的能力及還原力皆高於果心
- 鳳梨果肉汁較果心汁酸，加熱至不同溫度後冷卻，其 pH 值變化不大。

### 測定牛奶的抗氧化力及蛋白質含量

- 以不同濃度的乳清蛋白及酪蛋白加雙縮脲試劑後，其吸收度成線性關係；考馬斯亮藍試劑測量不同濃度的牛奶、乳清蛋白及酪蛋白在低濃度下有線性關係。
- 在抗氧化力的部分，酪蛋白還原碘液的能力最佳，高於牛奶和乳清蛋白；乳清蛋白清除 DPPH 之能力最佳、牛奶還原力最佳，但三者之間無明顯差異。

### 探討鳳梨與牛奶的反應情形

- 將相同 pH 值的鳳梨汁、鹽酸及醋酸分別加入牛奶混合後，鳳梨牛奶之沉澱物最多，生成沉澱的速度也最快，且上清液 pH 值最低、最澄清。推論酸和鳳梨酵素水解蛋白質成胜肽或胺基酸等產物與其他兩者不同。
- 鳳梨酵素在果心部位的活性較高，經過 60 °C 處理後的鳳梨果肉汁及 80 °C 處理後的鳳梨果心汁與蛋白質反應的活性較高，萃取後的鳳梨酵素則以果肉部位與蛋白質反應的活性較高，自製鳳梨酵素與蛋白質反應活性較市售鳳梨酵素佳。

### 製作鳳梨牛奶面膜

- 以鳳梨水解酪蛋白的產物較醋酸水解酪蛋白的抗氧化力為佳。
- 水解酪蛋白放置的時間愈久，其還原碘液的能力愈好。
- 將鳳梨牛奶的沉澱物加入海藻酸鈉可以形成薄膜，但抗氧化力會隨時間經過而減少。