

中華民國第 64 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國小組 化學科

佳作

080214

自製幾丁聚醣化身紋身貼紙

學校名稱： 臺北市私立靜心高級中學附設國小部

作者： 小六 許睿恩 小六 游怡樂 小六 劉若晞 小六 許睿宸	指導老師： 王晶瑩 蔡垂其
---	-----------------------------

關鍵詞： 幾丁聚醣、去乙醯化、紋身貼紙

摘 要

研究生物材料的幾丁聚醣萃取及去乙醯化程度測量和製膜方法，並且製成自製幾丁聚醣紋身貼紙。以滴定法測量不同生物材料的去乙醯化程度，發現室溫下甘油加超音波再經檸檬酸萃取方法，胭脂蝦的去乙醯化程度最高 81.7 %。找到最環保萃取法：甘油處理後加蛋白酵素去除蛋白質，經 20 % 檸檬酸浸泡及 40 % 蔗糖萃取，能去除蝦殼中碳酸鈣，再以 40 % 氫氧化鈉溶液 100°C 加熱 2 小時，製成的自製幾丁聚醣去乙醯化程度 88.2 % 和市售 88 % 相近。以 1g 自製幾丁聚醣加 4 % 醋酸 40 mL 的成膜比例，經電解後加果膠，再浸於 2 % 氫氧化鈉溶液後加天然色素，可得到具黏性、拉伸強度大、不產生澎潤、遇酸鹼溶液能變色且菌落數低 13.67 RLU 的自製幾丁聚醣紋身貼紙，也可推廣至食品保鮮貼紙。

壹、前言

一、研究動機

我們很常受傷，有一次使用到液態ok繃，覺得很新奇，但是味道很臭，於是我們就開始研究液態ok繃，發現裡面主要成分是幾丁聚醣，幾丁聚醣是從甲殼動物的外殼中取得，全球每年產生的海鮮甲殼廢棄物高達 600 至 800 萬噸，很值得廢物利用，但經由資料搜尋後發現幾丁聚醣的萃取方法會使用鹽酸，既危險又不環保，於是我們決定研究幾丁聚醣的萃取方法，試著做出幾丁聚醣膜，希望可以得到最安全、環保具綠色化學的萃取法，且利用幾丁聚醣抗菌的性質，研究出幾丁聚醣紋身貼紙，來取代市面上含有塑化劑及重金屬成分的紋身貼紙。

二、研究目的

- (一) 探討不同生物材料的幾丁聚醣去乙醯化程度
- (二) 探討添加蛋白酵素對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響
- (三) 探討檸檬酸濃度對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響
- (四) 探討蔗糖溶液對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響
- (五) 探討去乙醯化方法對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響
- (六) 探討幾丁聚醣、純水、冰醋酸所形成膜之最佳比例
- (七) 探討不同電解條件對幾丁聚醣膜的影響

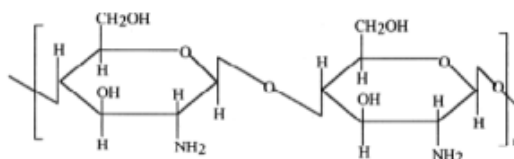
(八) 探討自製幾丁聚醣膜的改質方法

(九) 探討加入不同色素對自製幾丁聚醣紋身貼紙變色的影響

三、文獻回顧

(一) 幾丁聚醣

幾丁聚醣 (chitosan)，又稱甲殼素，由幾丁質經鹼液或酵素進行脫乙酰基反應而製成，將結構中的乙酰基 (-C₂H₃O) 移除並形成胺基 (-NH₂)，為 D-葡萄糖胺 (D-glucosamine) 和 N-乙酰葡萄糖胺 (N-acetyl-D-glucosamine) 以 β(1→4) 鍵結之直線長鏈結構【圖 1】。



【圖 1】幾丁聚醣的化學結構，圖引自百度百科「殼聚醣」

(二) 去乙酰化程度

幾丁聚醣經去乙酰化而得到不溶於水的陽離子多醣，乙酰基 (-COCH₃) 被遊離胺基 (-NH₂) 取代。此胺基可以在酸性介質中質子化 (-NH₃⁺)。在幾丁聚醣方面，去乙酰基的程度愈高，所表現的生理活性就愈明顯，如抗菌活性。因此，去乙酰基程度常用來做為幾丁聚醣品質檢定的一項重要指標，目前常用的檢測方法，包括：測定游離胺基、破壞法、核磁共振光譜測定法，本研究採用滴定法，避免複雜的前處理步驟及昂貴的儀器設備，試著找出實驗操作容易的滴定幾丁聚醣方法。

【表 1】幾丁聚醣相關的研究

作品類型	題目	研究焦點
中華民國第 56 屆中小學科學展覽會	蝦殼哇哇挖-幾丁聚醣薄膜之研究	蝦殼清洗、晾乾，經鹽酸去除碳酸鈣、氫氧化鈉去除蛋白質後磨碎得幾丁質，再經去 50% 氫氧化鈉溶液，80°C 加熱 2 小時得幾丁聚醣。醋酸和水 5 種不同比例製成保鮮膜。
國內期刊	蝦蟹殼中的寶貝—幾丁質	一般生產幾丁聚醣的流程，把甲殼類外殼粉碎後，在 100°C 下，以 8% 的氫氧化鈉溶液加熱處理一個晚上去除蛋白質，洗滌後以鹽酸浸泡一個晚上去除礦物質，再經過洗滌及乾燥程序。
國外期刊	Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications	使用較低濃度 HCl (0.55 M) 和 NaOH (0.3 M) 分別連續萃取 2-3 次，可以減少化學溶劑對生物聚合物的降解。

一般工業生產幾丁聚醣的方法，以氫氧化鈉溶液及鹽酸萃取。我們試著以甘油和蛋白酶去除蛋白質，檸檬酸去除礦物質，並建立檢驗自製幾丁聚醣去乙醯化程度的方法，目標找出最環保的幾丁聚醣萃取方法，並利用幾丁聚醣的抗菌活性自製出天然且安全的紋身貼紙。

貳、研究設備及器材

- 一、市售材料或藥品：蔗糖、果膠、甘油、鹿角菜膠、海藻膠、甜菜根、紫薯、蝶豆花、花青素、薑黃、木瓜蛋白酶、市售幾丁聚醣、甘油、檸檬酸、氫氧化鈉、甲基橙、苯胺藍、酚酞、鹽酸、冰醋酸、廣用指示劑
- 二、器材：燒杯、50 mL 滴定管、pH 計、三角錐形瓶、三角錐形瓶塞、滴定管夾、滴定管架、25 mL 滴定管、薊頭漏斗、塑膠軟管、離心管、離心管架、漏斗、篩網、攪拌棒、玻璃樣品罐、塑膠樣品罐、針筒、不鏽鋼容器、玻璃容器、計時器、紫外光燈箱、磁鐵、迴紋針、鋁箔盒、導線鱷魚夾、濾紙、手機架、砝碼、滴管、i Pad
- 三、儀器：離心機、烘箱、超音波震盪機、旋轉攪拌加熱器、光度計、電子秤、電源供應器

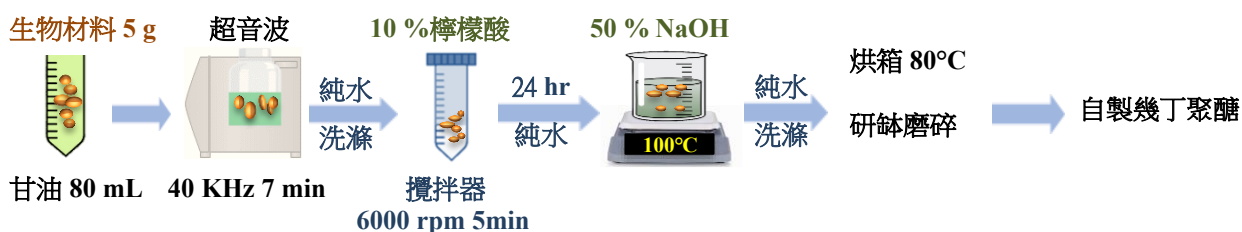
【表 2】本研究使用的生物材料



參、研究過程或方法

第一部分：預備實驗

一、自製幾丁聚醣萃取



【圖 2】自製幾丁聚醣萃取示意圖

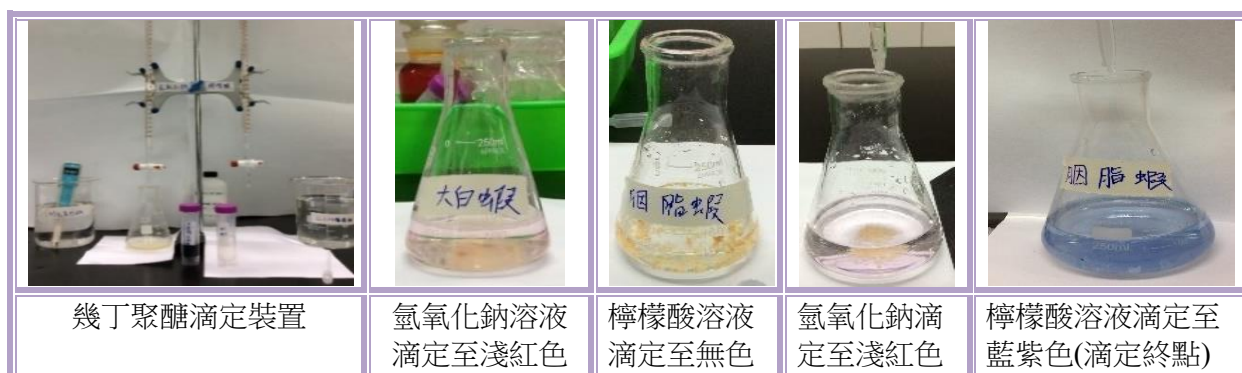
二、幾丁聚醣滴定

(一) 原理：去乙醯基程度愈高，抗菌活性就愈佳，殼聚醣的化學結構上會根據去乙醯

化程度而改變。我們參考文獻 (原料「幾丁聚醣」中去乙醯化程度之檢驗研究)，將 0.1 M 鹽酸溶液改為 0.1 M 檸檬酸溶液，測量自製幾丁聚醣的去乙醯化程度。

(二) 步驟：

1. 甲基橙-苯胺藍指示劑配製：秤取甲基橙 5 mg，加入純水定量至 5mL，秤取苯胺藍 0.4 g，加 2 % 醋酸溶解定量至 10 mL，將兩溶液混勻。
2. 取 0.2 g 自製幾丁聚醣，置於三角錐形瓶中，加入 0.1 M 檸檬酸溶液 30 mL，搖晃混合，再以滴管滴入酚酞指示劑 3 滴。
3. 第一階段滴定：以滴定管滴入 0.1 M 氫氧化鈉溶液至淺紅色，再以 0.1 M 檸檬酸溶液滴定至無色。
4. 第二階段滴定：以 0.1 M 氫氧化鈉調整至淺紅色，記錄 0.1 M 氫氧化鈉溶液滴定體積 (鹼滴定體積) 及滴定後 pH，加入甲基橙-苯胺藍指示劑溶液 0.4 mL 於幾丁聚醣溶液中，溶液呈藍綠色，以 0.1 M 檸檬酸溶液緩慢滴定至藍紫色 (達到滴定終點)，記錄 0.1 M 檸檬酸溶液滴定體積 (酸滴定體積) 及滴定後 pH，如【圖 3】。



【圖 3】幾丁聚醣滴定過程

(三) 測量結果：我們取市售幾丁聚醣進行幾丁聚醣滴定。

【表 3】市售幾丁聚醣經滴定後結果

市售幾丁聚醣	滴定一	滴定二	滴定三
鹼滴定體積 (mL)	1.6	0.8	1.4
酸滴定體積 (mL)	117	112	109
DD (%)	80.12	80.29	80.14
平均 DD (%)	80.18		

(四) 幾丁聚醣滴定分析：以預備實驗一測量市售幾丁聚醣，測量值與標示值的百分比

$$\frac{\text{測量值}}{\text{標示值}} \times 100 \% \rightarrow \frac{80.18}{88} \times 100 \% = 91.11 \% \text{ 我們整理滴定結果及參考 (A facile}$$

approach for the determination of degree of deacetylation of chitosan using acid-base titration) 期刊後，可得去乙醯化程度公式：

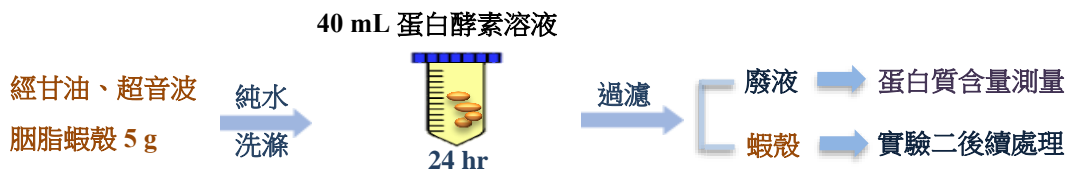
$$DD (\%) = \frac{(\text{酸濃度} \times \text{酸滴定體積} \times 3 - \text{鹼濃度} \times \text{鹼滴定體積}) \times 16}{\text{酸滴定體積} \times 3 \times 9.94 \times \text{幾丁聚醣重}} \times 100 \% \times \frac{1}{91.11 \%}$$

三、蛋白質含量測量

(一) 原理：含有苯環的胺基酸，對於波長 250 nm 以上的光有吸收作用，我們想知道自製幾丁聚醣經甘油或檸檬酸處理後，是否有效地去除蛋白質，因此利用紫外光燈箱以 254 nm 紫外光照射幾丁聚醣廢液，測量通過幾丁聚醣廢液後的光度。

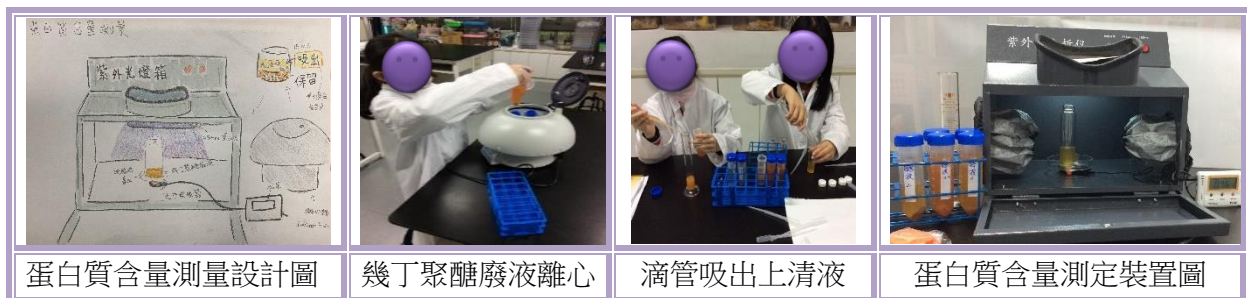
(二) 步驟：

1. 經實驗二處理後幾丁聚醣廢液【圖 4】放入離心機，3400 rpm 5 分鐘。



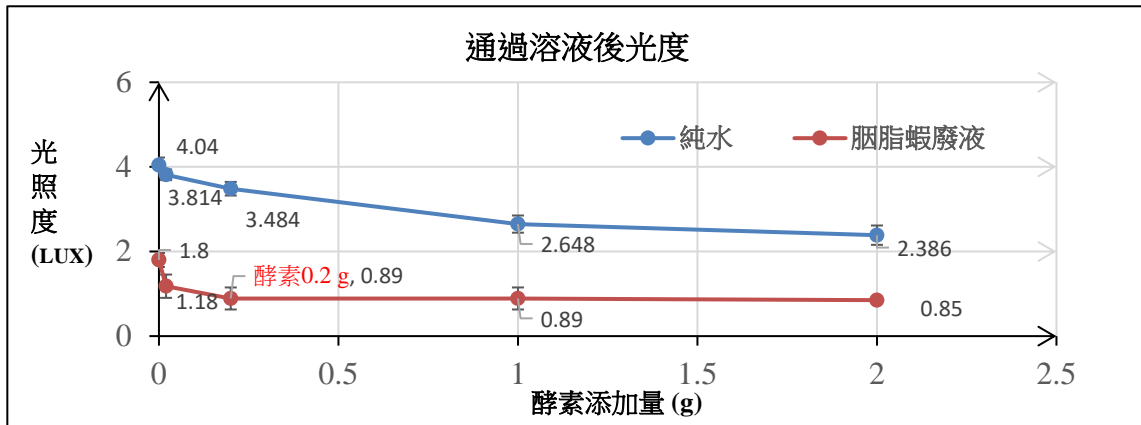
【圖 4】幾丁聚醣廢液示意圖

2. 滴管吸出上清液 15 mL 於玻璃瓶中。
3. 紫外光燈箱內放入光度接收器，光度接收器上放置倒立的玻璃培養皿並以油土固定，將步驟 2 的玻璃瓶放在玻璃培養皿上。
4. 關上紫外光燈箱蓋，以 254 nm 紫外光照射，紀錄光度計上的光度。
5. 另取 5 個離心管，分別加入蛋白酵素重量 (0、0.02、0.2、1、2 g) 及 40 mL 的純水混合均勻，作為對照組，其餘同步驟 1-4。



【圖 5】蛋白質含量測量過程

(三) 測量結果：



【圖 6】幾丁聚醣廢液紫外光照射後通過的光度

(四) 結果分析：

1. 隨著蛋白酵素添加量增加，溶液中吸收光度越多，導致通過溶液後的光照度下降，發現添加蛋白酵素確實可以將蛋白質分解在水中，從而去除蝦殼中的蛋白質，且我們發現胭脂蝦殼 5g 在酵素添加量 0.2g 時，已達到最大去除蛋白質含量。
2. 我們也發現蛋白酵素本身也具有苯環的胺基酸，在純水中也會吸收 254 nm 紫外光。

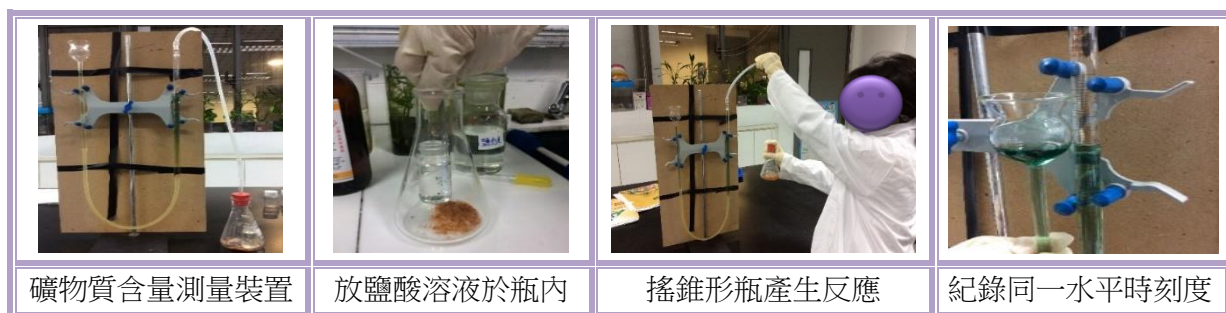
四、礦物質含量測量

(一) 原理：蝦殼中約含有 30 % 以上礦物質，主要成分是鈣鹽 (碳酸鈣)，我們想知道經檸檬酸、蔗糖處理後的自製幾丁聚醣是否有效的去除碳酸鈣，我們根據碳酸鈣與酸反應，會生成鈣離子、水和二氧化碳的原理，參考 Calcimeter Bernard Method，自製碳酸鈣含量測定儀，以 16 % 鹽酸溶液進行試驗，計算自製幾丁聚醣的碳酸鈣含量。

(二) 步驟：

1. 秤取 1g 自製幾丁聚醣於三角錐形瓶。
2. 將 16 % 鹽酸溶液 20 mL 裝入玻璃瓶，以鑷子小心放入步驟 1 的三角錐形瓶內，玻璃瓶保持直立。
3. 將連接玻璃管的塞子封住錐形瓶口，然後將漏斗拿起調整高低，直至與玻璃管柱液面呈同一水平面，紀錄玻璃管柱刻度 (v1)。

4. 用手輕輕搖晃錐形瓶，使玻璃瓶內鹽酸溶液充分與自製幾丁聚醣反應。
5. 將漏斗拿起調整高低，同時持續步驟 4 動作，直至與玻璃管柱液面不再下降，且與漏斗水面呈同一水平面，紀錄玻璃管柱刻度 (v2)。
6. 二氧化碳體積 (mL) = v2- v1



【圖 7】礦物質含量測量過程

(三) 測量結果：我們取市售幾丁聚醣進行礦物質含量測量。

【表 4】市售幾丁聚醣礦物質含量測量結果

市售幾丁聚醣	測量一	測量二	測量三
v1 玻璃管柱刻度 (mL)	3.5	5.3	4.3
v2 玻璃管柱刻度 (mL)	5.8	7.5	6.2
二氧化碳體積 (mL)	2.3	2.2	1.9
平均二氧化碳體積 (mL)	2.1		

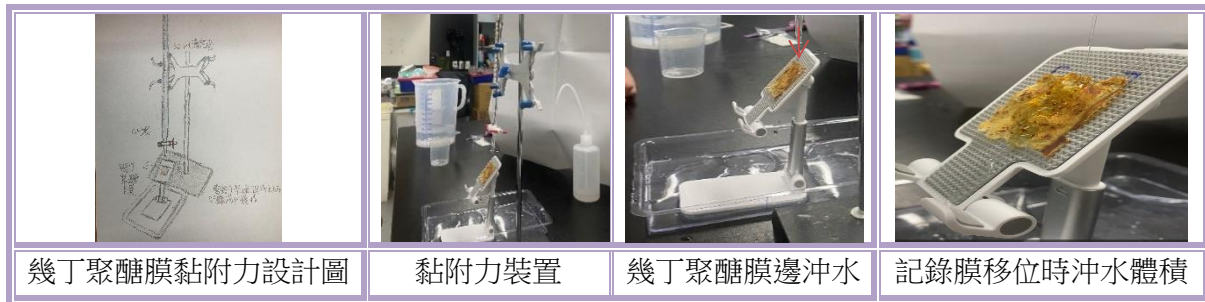
(四) 結果分析：鹽酸與市售幾丁聚醣反應後，反應生成的二氧化碳體積 2.1 mL。

五、幾丁聚醣膜黏附力測量

(一) 原理：為了比較電解後是否能增加幾丁聚醣膜的黏性，我們將未經電解的幾丁聚醣膜放置於手機支架上，找到休止角為 53°，以 0.4 mL/s 的水流對幾丁聚醣膜邊緣進行沖水，測量經不同電解條件後幾丁聚醣膜的黏附性。

(二) 步驟：

1. 調整手機支架角度，將未經電解幾丁聚醣膜放置於手機支架上，測量出處於沿斜面下滑的臨界角為 53°。
2. 測試好滴定管流速後轉開旋鈕，以 0.4 mL/s 的水流對幾丁聚醣膜邊進行沖水，幾丁聚醣膜偏離原來位置時停止沖水，記錄沖水的體積。



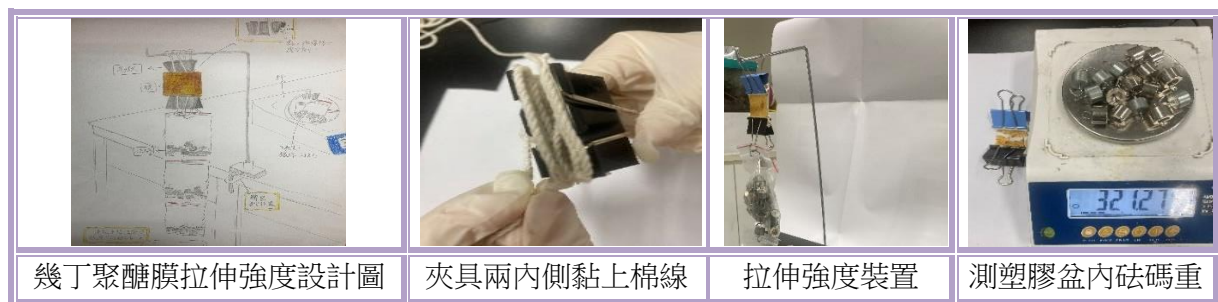
【圖 8】幾丁聚醣幾丁聚醣膜黏附力過程

六、幾丁聚醣膜拉伸強度測量

(一) 原理：我們想要了解幾丁聚醣膜能抵抗拉伸破裂的能力，於是我們研究將夾具夾在幾丁聚醣膜上下方，下方夾具懸掛砝碼，測量幾丁聚醣膜能抵抗拉力的大小，而且為了解決應力集中於夾具及幾丁聚醣膜打滑的現象，我們在夾具兩內側黏上棉線，使斷裂口集中在幾丁聚醣膜上。

(二) 步驟：

1. 在長尾夾兩內側貼上寬度 1cm 強力雙面膠，將棉線以環繞方式貼於雙面膠上，兩側長度一樣，下方長尾夾架上鐵絲，用於懸掛砝碼，夾具正下方地面放置塑膠盆接砝碼。
2. 將支架架於桌子邊緣，再將長尾夾及幾丁聚醣膜懸掛上，增加懸掛砝碼的數量，幾丁聚醣膜斷裂時量測塑膠盆內砝碼重與下夾具及鐵絲重量並記錄。



【圖 9】幾丁聚醣膜拉伸強度測量過程

七、幾丁聚醣膜防水能力測量

(一) 原理：接觸角，利用自製接觸角測試工具量測幾丁聚醣膜的防水程度，接觸角越大，表示幾丁聚醣越能防水。

(二) 步驟：

1. 在紙箱上繪製架設平板的位置並進行裁切，在紙箱上找出幾丁聚醣膜與相

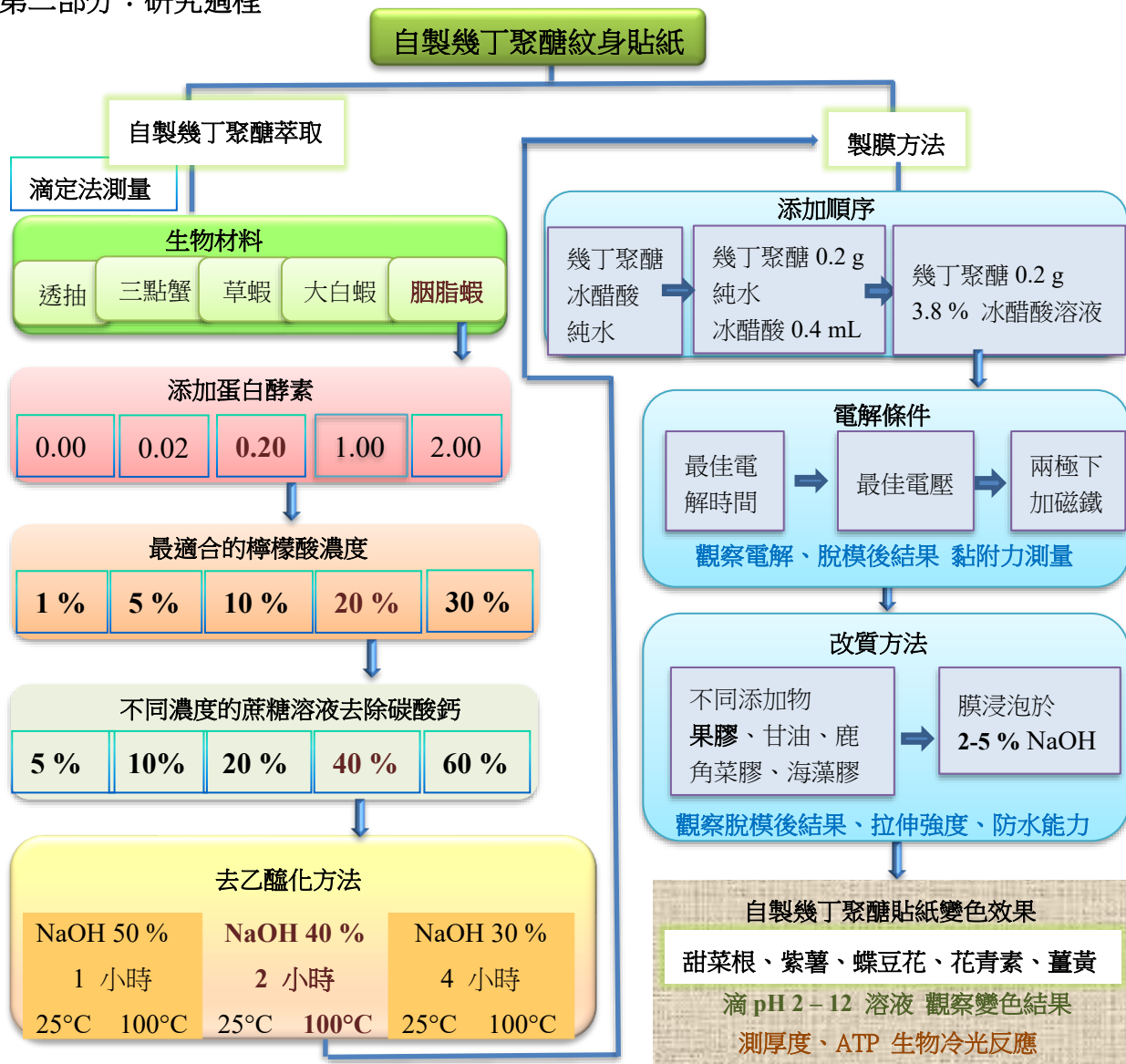
機的焦距並在紙箱上做記號。

2. 以針筒注射 0.01 mL 水滴 3 滴於幾丁聚醣膜上，同步照相及計時。
3. 以平板監控水滴，水滴形狀改變時同步照相及停止計時，記錄防水時間。
4. IC Measure 找出圓心，畫出切線計算切線與幾丁聚醣膜的夾角為接觸角。



【圖 10】幾丁聚醣膜防水能力測量過程

第二部分：研究過程



【圖 11】研究架構

一、實驗一 探討不同生物材料的幾丁聚醣去乙醯化程度

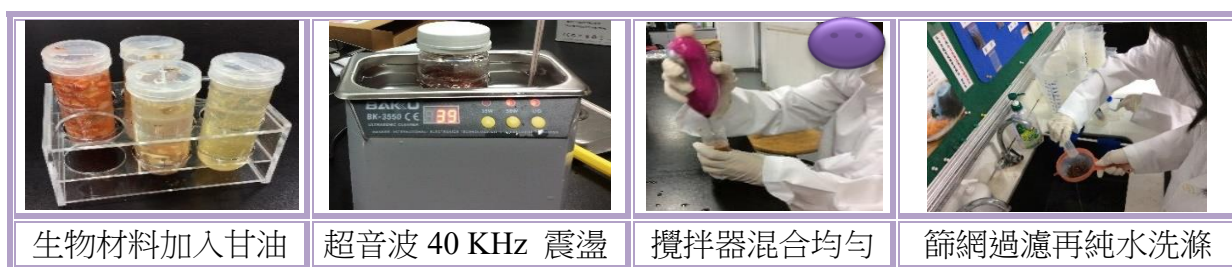
(一) 實驗目的：從資料得知幾丁質廣泛分布在自然界中，主要存在於甲殼動物（蝦、蟹等）的外殼、軟體動物的內骨骼，因此我們參考 (Pretreatment in Hot Glycerol for Facile and Green Separation of Chitin from Prawn Shell Waste) 期刊，將 200°C 熱甘油改為室溫加超音波處理，想知道哪一種生物材料的幾丁聚醣去乙醯化程度最高？

(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：生物材料 (透抽軟骨、三點蟹殼、胭脂蝦殼、草蝦殼、大白蝦殼)
2. 控制變因：生物材料重量、甘油體積、搖晃次數、超音波震盪時間、檸檬酸濃度體積、攪拌時間、氫氧化鈉濃度體積、烘箱乾燥時間溫度、純水洗滌體積

(三) 實驗步驟：

1. 秤取五種生物材料各 5 g 剪成小塊，分別加入甘油 80 mL，放入離心管搖晃 50 下混合均勻。
2. 以超音波 40 KHz 震盪 7 分鐘，以篩網過濾經 1000 mL 純水洗滌，去除雜質。
3. 取 10% 檸檬酸溶液 30 mL，分別加入步驟 2 之不同生物材料，放入離心管，以轉速 6000 rpm 攪拌器攪拌 5 分鐘混合均勻，24 小時後以篩網過濾經 1000 mL 純水洗滌，去除雜質。
4. 取 50% 氫氧化鈉溶液 35 mL，分別加入步驟 3 之不同生物材料混合均勻，加熱至 100°C 持續 1 小時，再以篩網過濾經 1000 mL 純水洗滌，去除雜質。
5. 將步驟 4 之不同生物材料，放入烘箱 80°C 乾燥，24 小時後以研鉢磨碎，得到自製幾丁聚醣。
6. 進行自製幾丁聚醣滴定，取三份樣本進行滴定並計算平均值，去乙醯化程度計算同預備實驗二。



【圖 12】比較不同生物材料的去乙醯化程度過程

二、實驗二 探討添加蛋白酵素對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

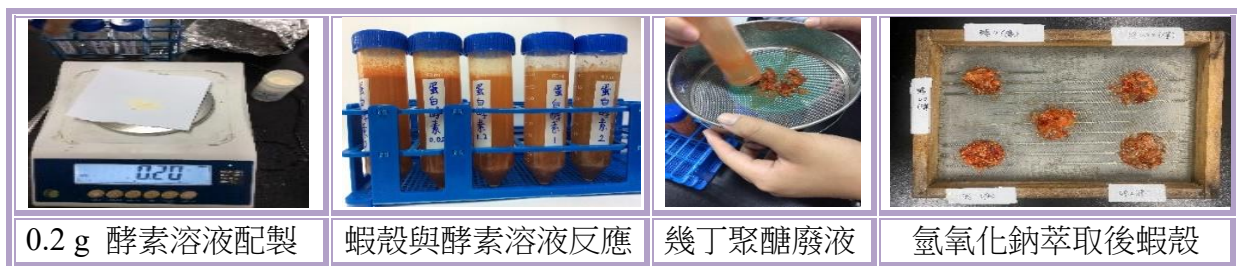
(一) 實驗目的：實驗一得知胭脂蝦殼的去乙醯化程度最高，我們想知道實驗一中以室溫甘油加超音波的方法，是否真的能有效去除幾丁聚醣中的蛋白質？以及添加蛋白酵素後對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響？

(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：蛋白酵素重量 (0.00、0.02、0.20、1.00、2.00 g)
2. 控制變因：胭脂蝦殼重量、酵素溶液體積、甘油體積、搖晃次數、超音波震盪時間、檸檬酸濃度體積、攪拌時間、氫氧化鈉濃度體積、烘箱乾燥時間溫度、純水洗滌體積

(三) 實驗步驟：

1. 秤取經實驗一步驟 1-2 胭脂蝦殼各 5 g。
2. 酵素溶液配製：分別於離心管中加入不同重量的蛋白酵素於 40 mL 純水中，混合均勻。
3. 將步驟 1 的胭脂蝦殼加入酵素溶液中，在室溫下搖晃 50 下混合均勻，24 小時後篩網過濾，濾液為幾丁聚醣廢液，進行蛋白質含量測量 (同預備實驗三)。
4. 步驟 3 的胭脂蝦殼處理與實驗一步驟 3-6 相同。
5. 進行自製幾丁聚醣滴定並計算去乙醯化程度。



【圖 13】添加蛋白酵素於胭脂蝦殼過程及收集幾丁聚醣廢液

三、實驗三 探討檸檬酸濃度對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

(一) 實驗目的：為了了解檸檬酸是否能有效的去除蝦殼中的礦物質，我們比較不同濃度的檸檬酸溶液，想知道哪種濃度可以得到最高去乙醯化程度的幾丁聚醣？

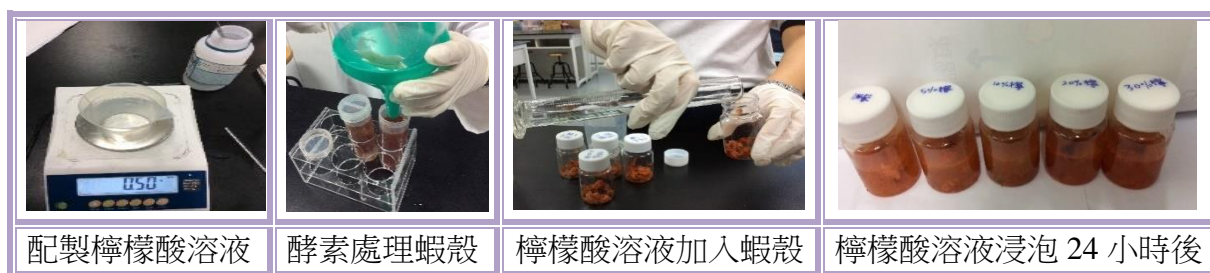
(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：不同濃度檸檬酸溶液 (1 %、5 %、10 %、20 %、30 %)

2. 控制變因：胭脂蝦殼重量、酵素溶液體積、甘油體積、搖晃次數、超音波震盪時間、檸檬酸體積、攪拌時間、氫氧化鈉濃度體積、烘箱乾燥時間溫度、純水洗滌體積

(三) 實驗步驟：

1. 秤取經實驗二步驟 1-3 胭脂蝦殼各 5 g，但酵素重量改為 0.2 g。
2. 取不同濃度檸檬酸溶液 30 mL，分別加入步驟 1 之胭脂蝦殼，以轉速 6000 rpm 攪拌器攪拌 5 分鐘混合均勻，24 小時後以篩網過濾經 1000 mL 純水洗滌，去除雜質。
3. 步驟 2 的胭脂蝦殼處理與實驗一步驟 4-6 相同。
4. 進行自製幾丁聚醣滴定並計算去乙酰化程度，取三份樣本進行礦物質含量測量並計算二氧化碳平均體積，步驟同預備實驗四。



【圖 14】以不同濃度檸檬酸浸泡酵素處理後胭脂蝦殼

四、實驗四 探討蔗糖溶液對幾丁聚醣去乙酰化程度的影響

(一) 實驗目的：我們想要增加胭脂蝦殼中礦物質的去除量，又想要以最環保的萃取方法來代替常使用的鹽酸溶液，於是我們參考 (Method of recovering chitosan and other by-products from shellfish waste and the like) 專利，利用蔗糖的糖苷鍵在鹼性及高溫的條件下會與鈣形成配位錯合物的原理來去除蝦殼中剩餘的碳酸鈣，並比較不同濃度蔗糖溶液，想要得到去乙酰化程度最高的幾丁聚醣。

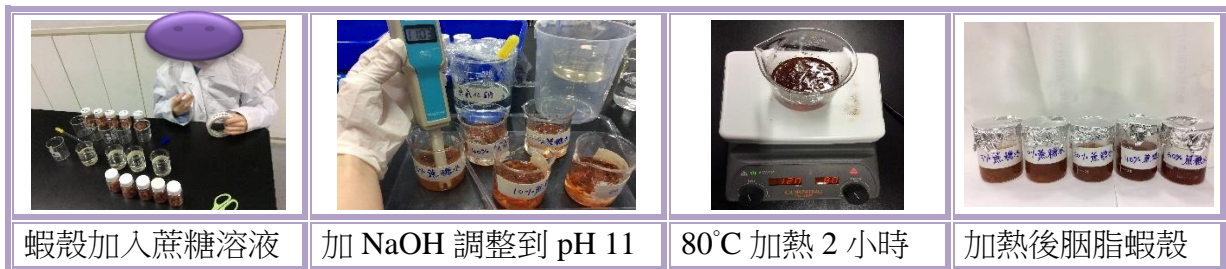
(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：不同濃度蔗糖溶液 (5 %、10 %、20 %、40 %、60 %)
2. 控制變因：胭脂蝦殼重量、酵素溶液體積、甘油體積、搖晃次數、超音波震盪時間、檸檬酸濃度體積、攪拌時間、氫氧化鈉濃度體積、烘箱乾燥時間溫度、

純水洗滌體積、蔗糖溶液體積

(三) 實驗步驟：

1. 秤取經實驗三步驟 1-2 胭脂蝦殼各 5 g，但檸檬酸溶液濃度改為 20 %。
2. 取不同濃度蔗糖溶液 50 mL，分別加入步驟 1 之胭脂蝦殼，加入氫氧化鈉溶液調整到 pH 11，以旋轉加熱器轉速 120 rpm 80°C 加熱攪拌 2 小時，再以篩網過濾經 1000 mL 純水洗滌，去除雜質。
3. 步驟 2 的胭脂蝦殼處理與實驗一步驟 4-6 相同。
4. 進行自製幾丁聚醣滴定並計算去乙酰化程度，取三份樣本進行礦物質含量測量並計算二氧化碳平均體積，步驟同預備實驗四。



【圖 15】不同濃度蔗糖溶液去除檸檬酸處理後蝦殼

五、實驗五 探討去乙酰化方法對幾丁聚醣去乙酰化程度的影響

(一) 實驗目的：從實驗一～四我們使用最環保的萃取方法製成幾丁聚醣，最後一步驟我們試著以不同濃度的氫氧化鈉溶液進行實驗並且降低反應溫度進行比較，希望能找到最適量濃度的氫氧化鈉溶液及反應溫度、時間。

(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：不同去乙酰化方法 (1) 50 % NaOH、1 小時 (25°C、100°C)
(2) 40 % NaOH、2 小時 (25°C、100°C) (3) 30 % NaOH、4 小時 (25°C、100°C)
2. 控制變因：胭脂蝦殼重量、酵素溶液體積、甘油體積、搖晃次數、超音波震盪時間、檸檬酸濃度體積、攪拌時間、氫氧化鈉體積、烘箱乾燥時間溫度、純水洗滌體積、蔗糖溶液濃度體積

(三) 實驗步驟：

1. 秤取經實驗四步驟 1-2 胭脂蝦殼各 5 g，但蔗糖溶液濃度改為 40 %。

2. 取不同濃度氫氧化鈉溶液 35 mL，分別加入步驟 1 之胭脂蝦殼混合均勻，再以不同去乙醯化方法進行反應 (操縱變因)，之後以篩網過濾經 1000 mL 純水洗滌，去除雜質。
3. 將步驟 2 之胭脂蝦殼，放入烘箱 80°C 乾燥，24 小時後以研鉢磨碎，得到自製幾丁聚醣。
4. 進行自製幾丁聚醣滴定，取三份樣本進行滴定並計算平均值，去乙醯化程度計算同預備實驗一。

六、實驗六 探討幾丁聚醣、純水、冰醋酸所形成膜之最佳比例

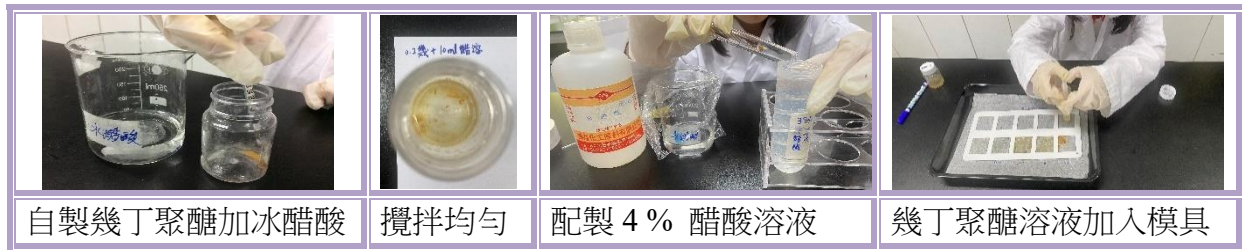
(一) 實驗目的：實驗五得到具有高去乙醯化程度 88.2 % 的自製幾丁聚醣，具高抗菌活性，於是我們想到將自製幾丁聚醣應用在紋身貼紙上，希望儘量薄且不容易破，我們試著找出以幾丁聚醣、純水、冰醋酸所形成膜之最佳比例。

(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：添加順序 (1) 幾丁聚醣 0.2 g→冰醋酸→純水 1 mL (2) 幾丁聚醣 0.2 g →純水→冰醋酸 0.4 mL (3) 幾丁聚醣 0.2 g→ 4 % 醋酸溶液
2. 控制變因：幾丁聚醣體積、攪拌次數、烘箱溫度、乾燥時間

(三) 實驗步驟：

1. 秤取 0.2 g 的自製幾丁聚醣，分別加入 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 冰醋酸，再加入純水 1 mL，攪拌均勻，觀察混合後結果並記錄。
2. 根據步驟 1 最佳結果 0.4 mL 冰醋酸，秤取 0.2 g 的自製幾丁聚醣，分別加入純水 1、5、10、20、30 mL，再加入 0.4 mL 冰醋酸，攪拌均勻，觀察加純水後、加冰醋酸後混合結果並記錄。
3. 取步驟 2 最佳結果 10 mL 純水 +0.4 mL 冰醋酸，配製成 4 % 醋酸溶液，秤取 0.2 g 的自製幾丁聚醣，分別加入 4 % 醋酸溶液 6、8、10、12、14 mL，攪拌均勻，觀察混合結果並記錄脫膜後膜的完整程度。
4. 將步驟 3 調配的幾丁聚醣溶液均勻加入模具中，模具尺寸為 4 x 4 cm²，並以烘箱 50 °C 烘乾 24 小時，觀察脫膜完整程度。



【圖 16】研究幾丁聚醣、純水、冰醋酸所形成膜之最佳比例

七、實驗七 探討不同電解條件對幾丁聚醣膜的影響

(一) 實驗目的：實驗六得到脫膜完整且厚度適中的自製幾丁聚醣膜，但我們發現自製幾丁聚醣膜沒有黏性，於是我們參考 (Electrophoretic deposition of chitosan: A rapid surface modification technique for centrifugal spun fibrous web) 對自製幾丁聚醣進行電解，利用電流能增加幾丁聚醣聚合度的原理，另外我們也想知道電流磁效應對幾丁聚醣膜的影響，於是我們改變不同電解條件，希望能得到具有理想黏附力的自製幾丁聚醣膜。

(二) 實驗變因：

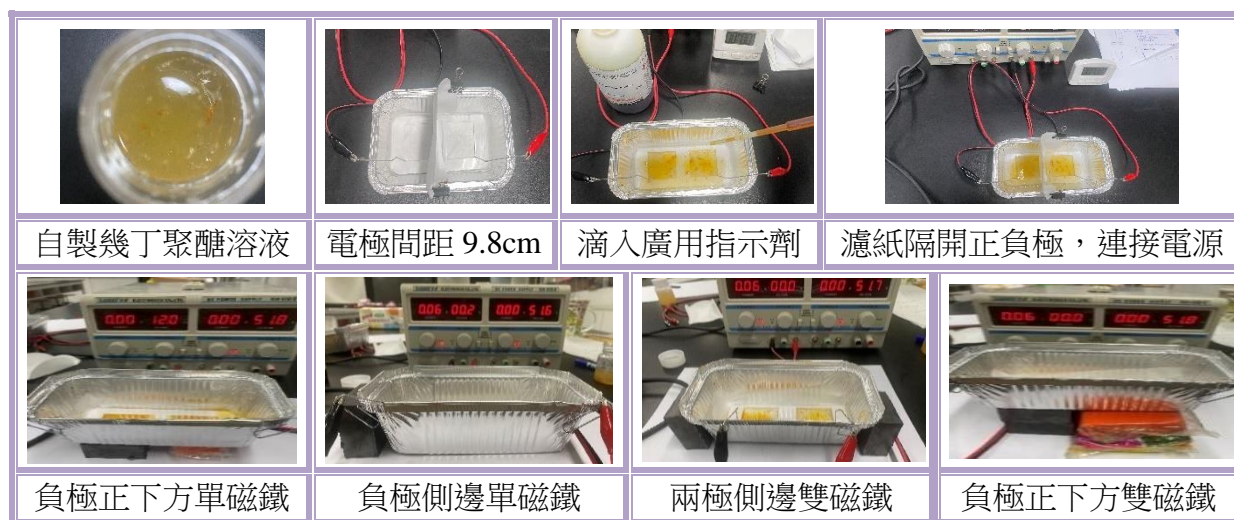
1. 操縱變因：不同電解條件 (電解時間、電壓、加磁鐵)
2. 控制變因：幾丁聚醣體積、攪拌次數、烘箱溫度、乾燥時間

(三) 實驗步驟：

1. 秤取 1 g 的自製幾丁聚醣，加入 4 % 醋酸溶液 40 mL，將自製幾丁聚醣溶液攪拌均勻。
2. 在鋁箔盒上鋪上烘焙紙以絕緣，在正負極各放上 4 x 4 cm² 模具。
3. 取兩隻迴紋針，拉開成半勾型，夾在鋁箔盒兩端，將導線鱷魚夾接於迴紋針上，電極間距 9.8 cm。
4. 將自製幾丁聚醣溶液倒入步驟 2 的鋁箔盒內，模具內正負極各滴入 3 滴廣用指示劑，中間以一張濾紙隔開正負極，進行電解。
5. 不同電解時間同實驗步驟 1-4，電源供應器設定電壓 9 V，收集經 0、5、30、60、300 s 電解後的自製幾丁聚醣溶液，觀察電解、脫膜後結果並記錄，進行平均黏附力測量，步驟如預備實驗五。
6. 不同電壓同實驗步驟 1-4，電解時間 30 s，電源供應器分別設定電壓 1.5 V、

3.0 V、9 V、12 V、24 V，微調降低電流收集電解後的自製幾丁聚醣溶液，觀察電解、脫膜後結果並記錄及進行平均黏附力測量。

7. 加磁鐵同實驗步驟 1-4，分別在鋁箔盒不同位置加磁鐵，磁鐵 50 x 50 x 20 cm、磁場大小 1470 Gs，如【圖 17】，電源供應器設定 12 V，電解時間 30 s，收集電解後的自製幾丁聚醣溶液，觀察電解、脫膜後結果並記錄及進行平均黏附力測量。



【圖 17】不同電解條件對幾丁聚醣溶液進行電解

八、實驗八 探討自製幾丁聚醣膜的改質方法

- (一) 實驗目的：實驗七後，我們得到具有黏附力的自製幾丁聚醣膜，但是發現膜無法拉伸且遇水容易產生膨潤，於是我們決定 (1) 參考 (A Model System for Chitosan Plasticization) 添加甘油作為自製幾丁聚醣膜的塑化劑，以及參考 (幾丁聚醣與海藻膠複合被覆薄膜之相關物性與細胞貼覆) 並與其他天然膠進行拉伸強度的比較。
- 。(2) 將拉伸強度最佳的自製幾丁聚醣膜浸泡於鹼液當中，想要得到最防水的自製幾丁聚醣紋身貼紙。

(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：改質方法 (不同添加物、2- 5 % 氫氧化鈉溶液浸泡)
2. 控制變因：不同添加物體積、幾丁聚醣膜面積、烘乾時間、氫氧化鈉溶液體積、浸泡氫氧化鈉時間

(三) 實驗步驟：

1. 取 5 個塑膠罐，分別加入果膠、甘油、鹿角菜膠、海藻膠 20 g，其中一罐未加入添加物為對照組。
2. 取實驗七最佳結果 (電壓 12 V、電解時間 30 s、負極下方雙磁鐵) 的自製幾丁聚醣溶液 20 mL 加在步驟 1 的塑膠罐中，攪拌均勻且觀察混合結果，再倒入 4 x 4 cm² 模具，烘箱 50°C 烘乾 24 小時，觀察脫膜後結果並記錄，測量平均拉伸強度，步驟如預備實驗六。
3. 將步驟 2 已烘乾的果膠幾丁聚醣膜浸泡於不同濃度氫氧化鈉溶液 4 小時，觀察浸泡結果，再放入烘箱 50°C 烘乾 24 小時，觀察乾燥後結果且進行防水能力測量，步驟同預備實驗七。



【圖 18】自製幾丁聚醣膜加入添加物及浸泡於氫氧化鈉溶液

九、實驗九 探討加入不同色素對自製幾丁聚醣紋身貼紙變色的影響

(一) 實驗目的：實驗八得到水可在表面擴展且不產生澎潤變形的自製幾丁聚醣紋身貼紙，於是我們想到利用自製幾丁聚醣紋身貼紙略親水的性質及天然色素在不同 pH 值會變色的特性，在自製幾丁聚醣紋身貼紙加入天然色素，讓液體滲入自製幾丁聚醣紋身貼紙內，希望能得到貼在手上就可以檢驗生活中溶液 pH 值的紋身貼紙。

(二) 實驗變因：

1. 操縱變因：不同天然色素 (甜菜根、紫薯、蝶豆花、花青素、薑黃)、不同 pH 值溶液 (pH 2-12)
2. 控制變因：自製幾丁聚醣紋身貼紙及天然色素重量比、自製幾丁聚醣紋身貼紙面積、不同 pH 溶液滴入體積

(三) 實驗步驟：

1. 取實驗八步驟 4 經 2 % 氫氧化鈉溶液浸泡後的幾丁聚醣膜 10 g，分別加入

0.2 g 不同天然色素，攪拌後倒入 4 x 4 cm² 模具，烘箱 50°C 烘乾 24 小時後紀錄脫膜後結果。

2. 配製不同 pH 值溶液：以純水、氫氧化鈉、檸檬酸分別配製 pH 2-12 溶液。
3. 將不同 pH 值溶液分別以滴管滴 2 mL 於步驟 1 的自製幾丁聚醣紋身貼紙上，5 分鐘後觀察變色情形並記錄。
4. 自製幾丁聚醣紋身貼紙成品製造方法同步驟 1，但烘乾 8 小時後先移除模具，鋪上烘焙紙以擀麵棍擀平，降低貼紙厚度，繼續烘乾 16 小時，進行 ATP 生物冷光反應及厚度測量。



【圖 19】自製幾丁聚醣紋身貼紙加入不同色素實驗過程

肆、研究結果

一、實驗一 探討不同生物材料的幾丁聚醣去乙酰化程度

(一) 實驗結果：

【表 5】不同生物材料的幾丁聚醣去乙酰化程度

種類	透抽		三點蟹		草蝦		大白蝦		胭脂蝦	
	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	18.3	29.7	10.1	20.4	9.0	22.1	8.4	32.0	7.3	31.6
滴定二	18.4	30.6	9.8	20.8	9.2	22.0	8.2	32.1	6.9	30.6
滴定三	18.1	30.1	9.6	22.3	8.7	23.0	8.0	31.4	6.8	30.9
滴定後平均 pH	9.3	3.6	9.4	3.5	9.6	3.6	9.0	3.7	9.4	3.4
平均 DD (%)	70.5		74.6		76.5		80.8		81.7	

(二) 結果分析：

1. 從去乙醯化程度顯示，不同生物材料的去乙醯化程度：**胭脂蝦 > 大白蝦 > 草蝦 > 三點蟹 > 透抽**，我們取胭脂蝦進行後續實驗。
2. 由不同生物材料的平均 DD 發現：以室溫甘油加超音波及檸檬酸的萃取方法，五種生物材料的去乙醯化程度達 70 % 以上，可以轉變成可溶於稀酸溶液的幾丁聚醣，為了提高胭脂蝦的去乙醯化程度，我們進行後續實驗。

二、實驗二 探討添加蛋白酵素對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

(一) 實驗結果：

【表 6】添加蛋白酵素處理及萃取後的幾丁聚醣去乙醯化程度比較

蛋白酵素質量 (g)	0.00		0.02		0.20		1.00		2.00	
幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	7.3	31.6	5.4	29.2	2.7	21.7	2.8	19.3	3.4	20.7
滴定二	6.9	30.6	5.8	26.0	2.6	21.4	3.1	21.7	3.5	21.2
滴定三	6.8	30.9	6.2	27.1	2.2	22.0	3.6	22.2	3.2	21.5
滴定後平均 pH	9.4	3.4	9.6	3.7	9.2	3.3	9.2	3.7	9.1	3.9
平均 DD (%)	81.7		82.1		84.9		83.9		83.6	




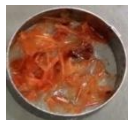

(二) 結果分析：

1. 從去乙醯化程度顯示，**蛋白酵素質量 0.20 g 時最高 84.9 %**，**蛋白酵素質量 0 g 平均 DD 81.7 % 最低**，顯示經蛋白酵素處理後的蝦殼能增加去乙醯化程度。
2. 在預備實驗二發現酵素添加量在 0.2 g 時，已達到最大去除蛋白質含量，顯示蝦殼中蛋白質去除量越多，幾丁聚醣的去乙醯化程度也會越高。
3. 從實驗一、二滴定後平均 pH 發現用氫氧化鈉滴定檸檬酸，當量點 pH 大約 9。我們發現鹼的滴定體積越少，平均 DD 也越高，代表氨基含量的百分比越高，在酸鹼滴定過程中需要較少鹼的滴定體積。
4. 從幾丁聚醣照片中發現蛋白酵素添加量越多，蝦殼顏色也越淡，推測蛋白酵素能去除蝦紅素。

三、實驗三 探討檸檬酸濃度對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

(一) 實驗結果：

【表 7】不同濃度檸檬酸處理及萃取後的幾丁聚醣去乙醯化程度比較

檸檬酸濃度	1 %		5 %		10 %		20 %		30 %	
經純水洗滌後幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	3.1	23.9	2.9	23.0	2.7	21.7	2.4	27.1	2.8	25.3
滴定二	2.9	26.3	3.1	22.8	2.6	21.4	2.3	29.6	2.9	24.1
滴定三	3.3	25.6	2.8	24.0	2.2	22.0	2.2	30.5	3.3	25.1
平均 DD (%)	84.7		84.6		84.9		86.2		84.8	
CO ₂ 平均體積 (mL)	33.7		21.1		21.0		16.4		14.2	






(二) 結果分析：

1. 從去乙醯化程度顯示，**檸檬酸濃度 20 % 時最高 86.2 %**。
2. 從 CO₂ 平均體積發現，檸檬酸濃度越高，CO₂ 平均體積也越低，顯示檸檬酸濃度越高，能去除蝦殼中碳酸鈣的量就越多，但檸檬酸濃度 30 % 時，平均 DD 反而降低，推測檸檬酸濃度太高也會影響幾丁聚醣的去乙醯化程度。

四、實驗四 探討蔗糖溶液對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

(一) 實驗結果：

【表 8】不同濃度蔗糖處理及萃取後的幾丁聚醣去乙醯化程度比較

蔗糖濃度	5 %		10 %		20 %		40 %		60 %	
幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	2.2	29.0	2.1	30.0	2.0	34.0	1.8	50.0	2.0	43.5
滴定二	2.3	30.0	2.2	30.3	2.1	36.7	1.7	54.5	1.9	44.3
滴定三	2.4	29.0	2.2	31.3	1.9	36.0	1.9	54.7	1.8	41.7
平均 DD (%)	85.8		86.2		86.7		87.3		87.0	
CO ₂ 平均體積 (mL)	12.7		11.5		7.6		4.4		2.1	

(二) 結果分析：

1. 從去乙醯化程度顯示，蔗糖濃度 40 % 時最高 87.3 %，其次是蔗糖濃度 60 % 平均 DD 87.0 %。
2. 從 CO₂ 平均體積發現，蔗糖濃度越高，CO₂ 平均體積也越低，發現經蔗糖溶液濃度 60 % 處理後，能達到與市售幾丁聚醣相同的 CO₂ 平均體積 2.1 mL。

五、實驗五 探討去乙醯化方法對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

(一) 實驗結果：

【表 9】經不同去乙醯化方法處理後胭脂蝦殼的去乙醯化程度

氫氧化鈉濃度	50 %				40 %				30 %			
時間	1 小時				2 小時				4 小時			
溫度(°C)	25		100		25		100		25		100	
滴定體積(mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	20.6	32.3	1.8	50.0	19.6	29.4	0.8	56.7	23.4	34.0	3.3	32.2
滴定二	21.3	30.2	1.7	54.5	18.4	29.8	0.3	59.0	25.8	30.0	3.5	30.0
滴定三	19.8	31.9	1.9	54.7	16.5	30.5	0.2	61.0	26.0	29.3	3.8	29.9
平均 DD (%)	69.1		87.3		70.4		88.2		64.4		84.9	

(二) 結果分析：

1. 從不同反應溫度可以發現，以室溫 25 °C 處理時，胭脂蝦殼的去乙醯化程度 ≤ 70.4 %，推論由於幾丁質分子間結構緊密，需要利用高溫才能打斷化學鍵，進行去乙醯基反應，於是在實驗中我們增加 100 °C 處理進行比較。
2. 以 100 °C 處理時，胭脂蝦殼的去乙醯化程度 ≥ 84.9 %，顯示高溫處理胭脂蝦殼可以得到較高去乙醯化程度的幾丁聚醣，在 6 組實驗中：**(1) 40 % NaOH、2 小時、100 °C 平均 DD 最高 88.2 %**，其次是 **(2) 50 % NaOH、1 小時、100 °C 平均 DD 87.3 %**，發現加熱時間增加 1 小時可以降低 10 % 氫氧化鈉溶液的用量。
3. 我們也發現以 **(1) 40 % NaOH、2 小時、100 °C** 的方法製成的自製幾丁聚醣去乙醯化程度 **88.2 %** 和市售幾丁聚醣 **88 %** 相近。

六、實驗六 探討幾丁聚醣、純水、冰醋酸所形成膜之最佳比例

(一) 實驗結果：

【表 10】經純水、冰醋酸混合後的幾丁聚醣及烘乾後的膜

添加順序	幾丁聚醣 0.2 g → 冰醋酸 → 純水 1 mL				
冰醋酸體積(mL)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
加冰醋酸後					
混合結果	粉狀顆粒狀	粉狀顆粒狀	顆粒狀	果凍狀	果凍狀
添加順序	幾丁聚醣 0.2 g → 純水 → 冰醋酸 0.4 mL				
純水體積(mL)	1	5	10	20	30
加純水後					
加冰醋酸後					
混合結果	顆粒狀	果凍狀	液體可流動	液體可流動	液體可流動
添加順序	幾丁聚醣 0.2 g → 4% 醋酸溶液				
醋酸溶液體積(mL)	6	8	10	12	14
混合結果					
脫膜後					
脫膜完整程度	脫膜完整 厚度較厚	脫膜完整 厚度適中	厚薄不均勻 容易皺摺	脫膜不完整	脫膜不完整

(二) 結果分析：

1. 從添加順序 (幾丁聚醣 0.2 g → 冰醋酸 → 純水 1 mL) 加冰醋酸後圖中發現，先加冰醋酸的實驗結果：不論冰醋酸添加體積多少，混合結果一樣不易流動，發現冰醋酸除了會揮發，即使蓋上蓋子攪拌，幾丁聚醣對於冰醋酸吸收體積

大，後續實驗取冰醋酸 0.4 mL 成果凍狀，且添加順序為**先加純水再加冰醋酸**。

- 從添加順序 (幾丁聚醣 0.2 g→純水→冰醋酸 0.4 mL) 加冰醋酸後圖中發現，純水體積 10 mL 時，幾丁聚醣呈液體可流動，且先加純水再加冰醋酸操作容易，我們取純水 10 mL、冰醋酸 0.4 mL 配成 4% 醋酸溶液進行後續實驗。
- 從添加順序 (幾丁聚醣 0.2 g→ 4% 醋酸溶液 8 mL) 脫膜後圖中發現，**冰醋酸溶液體積 8 mL 時，脫膜完整**厚度適中。





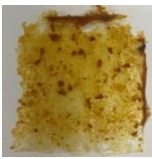



七、實驗七 探討不同電解條件對幾丁聚醣膜的影響

(一) 實驗結果：

【表 11】經不同電解時間、電壓電解後的幾丁聚醣溶液及脫膜後平均黏附力的結果

電壓	9 V				
電解時間 (s)	0	5	30	60	300
電解結果					
	溶液橘色	負極開始生氣泡顏色變黃	負極不斷生成氣泡顏色變紅	負極不斷生成氣泡顏色變紅	氣泡速度減緩顏色變紅褐
脫膜後					
	無氣泡	少許氣泡	有氣泡	氣泡多	氣泡多
平均黏附力(mL)	47.3	223.3	310.0	292.0	299.7
電解時間	30 s				
電壓 (V)	1.5	3	9	12	24
電解結果					
	負極顏色黃	負極顏色黃	負極顏色變紅	負極顏色變紅	負極顏色變紅
脫膜後					
	有氣泡	氣泡多	有氣泡	無氣泡有皺摺	厚薄不均皺摺
平均黏附力(mL)	64.3	105.3	306.0	415.7	502.0

【表 12】經加磁鐵電解後的幾丁聚醣溶液及脫膜後平均黏附力的結果

電解條件	電解時間 30 s、電壓 12 v			
磁鐵位置	負極下方單磁鐵	負極側邊單磁鐵	兩極側邊雙磁鐵	負極下方雙磁鐵
電解結果				
	負極變紅	正負極顏色橘	負極變紅	負極變紅速度快
脫膜後				
	膜邊緣黏住模具	厚薄不均勻	邊緣厚薄不均勻	膜邊緣黏住模具
平均黏附力(mL)	598.3	606.3	505.0	730.7

(二) 結果分析：

1. 在電解條件 9 V、電解時間 5 s 時的電解結果發現：開始有氣泡產生，推論為氫氣，另外由於幾丁聚醣帶正電荷會在負極析出，因此我們取負極模具的幾丁聚醣溶液進行脫膜後的觀察。
2. 從電解條件 9 V 的電解結果照片發現：負極從橘變黃再變橘最後轉紅，顯示電解時間 0-5 s 時 pH 上升，5-300 s 時 pH 逐漸下降，推論幾丁聚醣析出越多，pH 值下降越快。
3. 從電解條件 9 V 的脫膜後照片發現：電解會導致幾丁聚醣膜內有氣泡產生，後續實驗我們降低電流以減少氣泡產生；電解時間 30 s 平均黏附力最大 310 mL，電解時間 300 s 其次平均黏附力 299.7 mL，推論電解時間 30 s 能使幾丁聚醣溶液產生最大黏性。
4. 在電解時間 30 s 的電解結果照片發現：電壓 9 V 以上，負極顏色變紅，幾丁聚醣析出量增加；在電解過程中發現降低電流後氣泡有減少。
5. 在電解時間 30 s 的平均黏附力發現：電壓 9 V 以上，平均黏附力增加較多，但容易產生皺摺，比較脫膜後照片，我們選擇電壓 12 V 進行後續實驗，並改善膜的皺褶問題。

6. 在電解時間 30 s、電壓 12 V 的電解結果照片發現：負極下方雙磁鐵負極變紅速度快，電解約 5 s 後負極迅速轉紅，推論增加磁鐵於幾丁聚醣電解，可以減少電解的反應時間，達到節電效果。
7. 在電解時間 30 s、電壓 12 V 的脫膜後照片發現：在負極下方擺磁鐵，膜邊緣易黏住模具，在脫膜時一取膜就發生斷裂的問題；平均黏附力發現：增加磁鐵於幾丁聚醣電解確實可以增加幾丁聚醣膜的黏附力，實驗中也發現幾丁聚醣膜會吸水產生膨潤現象，我們取負極下方雙磁鐵條件進行後續膜改質實驗。

八、實驗八 探討自製幾丁聚醣膜的改質方法

(一) 實驗結果：

【表 13】經不同添加物混合後脫膜結果

電解後幾丁聚醣溶液					
不同添加物	對照	果膠	甘油	鹿角菜膠	海藻膠
混合結果					
	液體可流動	液體可流動	液體可流動	果凍狀	液體可流動
脫膜後				不易製膜	
	具黏性	具黏性	未乾燥		不具黏性
平均拉伸強度 (g)			—	—	
	340.2	1752.9	—	—	1086.8

【表 14】經不同濃度氫氧化鈉浸泡後膜的防水能力測量

氫氧化鈉濃度		果膠幾丁聚醣膜				
		對照	2 %	3 %	4 %	5 %
浸泡 4 小時後結果						
	—	膜完整	膜完整	膜邊緣溶解	膜部分溶解	
乾燥後						
	膜完整	局部變深	局部變深	膜焦黑破裂	膜焦黑破裂	
防水能力	平均接觸角 (°)	115.5	94.3	74.1	—	—
	平均防水時間 (s)	428	253	367	—	—
	結果					
		產生澎潤	無產生澎潤	無產生澎潤	—	—

(二) 結果分析：

1. 不同添加物脫膜後照片發現：對照、果膠、海藻膠皆可以成膜，手觸摸海藻膠幾丁聚醣膜發現無黏性。
2. 從平均拉伸強度可以發現：添加果膠後幾丁聚醣膜的拉伸強度是對照組的 5.2 倍，可以有效改善幾丁聚醣膜脆硬的性質。
3. 在不同濃度氫氧化鈉溶液浸泡 4 小時後結果我們發現：隨著氫氧化鈉濃度越高，膜被溶解的體積越多，在氫氧化鈉溶液濃度 2 %、3 % 浸泡及乾燥後還能得到完整的幾丁聚醣膜且無刺鼻的酸味。
4. 在防水能力試驗，與對照組相比，經不同濃度氫氧化鈉溶液浸泡後的幾丁聚醣膜接觸角變小，顯示經氫氧化鈉溶液浸泡後幾丁聚醣的表面與純水較親合，但水滴擴展開來後卻沒有產生澎潤現象，推論經果膠添加、氫氧化鈉溶液浸泡後可以增加水在幾丁聚醣膜表面擴展開程度且不產生膜內吸水的變形，適合製成自製幾丁聚醣紋身貼紙。

九、實驗九 探討加入不同色素對自製幾丁聚醣紋身貼紙變色的影響

(一) 實驗結果：

【表 15】幾丁聚醣膜加入不同天然色素後顏色及滴上不同酸鹼水溶液變色結果

不同色素										
天然色素	甜菜根		紫薯		蝶豆花		花青素		薑黃	
脫膜後										
不同 pH 溶液變色情況										
pH 2				橘紅		黃				
pH 3				橘紅		棕		橘紅		
pH 4		橘紅		棕		棕		橘紅		
pH 5		橘紅		棕		灰		橘紅		
pH 6		橘紅		棕		灰		紫		黃
pH 7		橘紅		棕		棕		紫		黃
pH 8		棕		棕		黑		紫		黃
pH 9		棕		棕		黑		紫		黃
pH 10		棕		棕		黑		紫		黃
pH 11		橘		黑		黃		黑		黃
pH 12		橘		黑		黃		黑		橘

(二) 結果分析：

1. 酸鹼水溶液滴到幾丁聚醣膜上後，會先出現小水滴，5 分鐘後出現顏色變化。
2. 甜菜根滴入 pH 8-9 會變棕色，可製成檢測弱鹼性水溶液的紋身貼紙；紫薯在

pH 11 以上會變黑，可製成檢測鹼性水溶液的紋身貼紙；蝶豆花在 pH 2 以下、pH 11 以上會變黃，可製成檢測強酸強鹼水溶液的紋身貼紙；花青素在 pH 5 以下會變橘紅、pH 11 以上會變黑，可製成檢測酸性及強鹼水溶液的紋身貼紙；薑黃只有在 pH 12 以上有明顯變橘，可製成檢測強鹼水溶液的紋身貼紙。

(三) 自製幾丁聚醣紋身貼紙成品

【表 16】自製幾丁聚醣紋身貼紙成品及檢驗結果

單一色素貼紙	天然色素組合的自製幾丁聚醣紋身貼紙	貼在手上實際情況
		
 <p>厚度 1.31 mm</p>	<p>ATP 生物冷光反應 測得平均 13.67 RLU</p>  <p>60 天後</p> <p>< 清洗後手術器械乾淨標準值 150 RLU</p>	 <p>ATP 生物冷光反應 測得平均 177.33 RLU</p>

伍、討 論

- 一、在預備實驗二，為了實驗安全性，一開始我們將 0.1 M 鹽酸溶液改為 0.1 M 醋酸溶液，發現滴定體積大且不易觀察變色，後來改用 0.1 M 檸檬酸溶液。在滴定過程中我們發現：第二階段氫氧化鈉溶液滴定體積比檸檬酸溶液滴定體積少，經文獻搜尋後得知，幾丁聚醣先溶解在檸檬酸溶液中，將 NH_2 基團轉化為相應形式的 NH_3^+ ，在第二階段氫氧化鈉溶液滴定過程中，幾丁聚醣溶液中的檸檬酸 H^+ 先被 OH^- 離子中和，然後質子化的胺基轉化為相應胺基，胺基含量越多溶液 pH 值會越高，在滴定過程需要氫氧化鈉溶液體積就較少，因此也證明我們在室溫條件下以甘油加超音波及檸檬酸的萃取方法製成的自製幾丁聚醣去乙酰化程度高，五種生物材料平均 DD 都達 70 % 以上。
- 二、我們的滴定方法以兩階段的方式滴定幾丁聚醣的胺基含量，以第一階段的檸檬酸溶液去滴定過量的氫氧化鈉溶液，再以第二階段的檸檬酸溶液計算滴定體積，計算出市售

幾丁聚醣的測量值 80.18 % 與標示值 88 % 相近，因此以 **91.11 %** 為校正值，與文獻相比較高於 **PVSK 滴定法、電位滴定法、甲基橙法、甲基橙-苯胺藍法**。

三、實驗一~五的結果發現：

實驗	一	二	三	四	五
萃取方法	甘油、超音波 →檸檬酸→氫 氧化鈉	甘油、超音波→ 蛋白酵素 →檸檬 酸→氫氧化鈉	甘油、超音波→ 蛋白酵素→ 檸檬 酸 →氫氧化鈉	甘油、超音波→ 蛋白酵素→檸檬 酸→ 蔗糖 →氫氧 化鈉	甘油、超音波→ 蛋白酵素→檸檬 酸→蔗糖→ 氫氧化鈉
最佳條件	胭脂蝦殼	酵素質量在 0.2 g 時，已達到最大 去蝦殼中蛋白質 含量，比未添加 酵素增加 3.4 % 去乙酰化程度	檸檬酸濃度越 高，能去除胭脂 蝦殼中碳酸鈣的 量越多 檸檬酸濃度 20 %	經蔗糖溶液 60 % 處理，達到與市 售幾丁聚醣相同 的 CO ₂ 平均體積 2.1 mL 蔗糖溶液 40 %	40 % NaOH 2 小時 100°C
平均 DD	81.7 %	84.9 %	86.2 %	87.3 %	88.2 %

與實驗一相比，實驗五得到的自製幾丁聚醣去乙酰化程度增加了 6.5 % 為 88.2 % 和
市售幾丁聚醣 88 % 相近，已達到歐美、日本食品級幾丁聚醣之標準。

四、我們萃取步驟與工業相比：

自製 幾丁聚醣	甘油、超音波震盪→蛋白酵素→檸檬酸→蔗糖 →40 % 氫氧化鈉	√ 去乙酰化程度和市售 幾丁聚醣相近 √ 環保且安全
工業	氫氧化鈉→鹽酸→過錳酸鉀→50 % 氫氧化鈉	廢水含大量化學物質

五、實驗六~八的結果發現：

形成膜之最佳比例	不同電解條件	自製幾丁聚醣膜的改質方法
1g 幾丁聚醣加入 4 % 醋酸 40 mL。 √操作容易且脫膜 完整。	1.發現幾丁聚醣帶正電荷會在負極析出。 2.電解時間 0-5 s 時 pH 上升，5-300 s 時 pH 逐 漸下降，幾丁聚醣析出越多。 3.電解時間 30 s、電壓 12 V 製成的幾丁聚醣膜 平均黏附力是對照組的 8.8 倍。 4.在負極下方擺放磁鐵可以改善幾丁聚醣膜皺 褶情況且 平均黏附力是對照組的 15.4 倍。	1.添加果膠後幾丁聚醣膜 拉伸強度 是對照組的 5.2 倍 ，有效改善幾丁 聚醣膜脆硬的性質。 2.經氫氧化鈉溶液濃度 2 % 浸泡 後的幾丁聚醣膜，可以增加水在 幾丁聚醣膜表面擴散程度且不產 生澎潤無原先刺鼻的酸味

陸、結 論

一、探討自製幾丁聚醣萃取的方法，經實驗一~五的最佳化條件，可以得到高去乙酰化程
度 88.2 % 的自製幾丁聚醣。

生物材料	製程	去乙酰化程度
胭脂蝦	室溫下甘油加超音波→酵素添加質量 0.2 g→檸檬酸濃度 20 %→蔗糖溶液 40 %→40 % NaOH、2 小時、100°C	88.2 % 和市售幾丁聚醣 88 % 相近

二、以自製幾丁聚醣研究製膜的方法，經實驗六~八的最佳化條件，可以得到操作容易且脫膜完整，具黏性、平均拉伸強度 1752.9 g、平均接觸角 94.3° 且不產生膨潤的自製幾丁聚醣膜。

純水、冰醋酸添加順序與比例	電解條件	改質方法
1g 幾丁聚醣加入 4 % 醋酸 40 mL	電解時間 30 s、電壓 12 V、負極下方擺放兩個磁鐵	添加果膠、經氫氧化鈉溶液 2 % 浸泡

三、以自製幾丁聚醣膜經實驗九添加不同天然色素後，製成的自製幾丁聚醣紋身貼紙，貼在身上可以檢測生活中接觸水溶液的酸鹼度，抗菌且安全。

加入不同天然色素	檢驗結果	未來發展
檢測強酸水溶液的紋身貼紙：蝶豆花	可做成各種造型	食品保鮮貼紙 彩色 ok 繡
檢測強鹼水溶液的紋身貼紙：紫薯、蝶豆花、花青素、薑黃	厚度 1.31 mm ATP 生物冷光反應	
檢測弱鹼水溶液的紋身貼紙：甜菜根	測得平均 13.67 RLU	
檢測弱酸水溶液的紋身貼紙：花青素	放置 2 個月後僅平均 177.33 RLU	

柒、參考文獻資料

1. 洪甄敏、吳白玟、林汝青、高雅敏、曾素香、王德原 (2020)。原料「幾丁聚醣」中去乙酰化程度之檢驗研究。食品藥物研究年報，Issue 11, 27-36。
2. Devi, R., Raghavachari, D. (2018). Pretreatment in Hot Glycerol for Facile and Green Separation of Chitin from Prawn Shell Waste: ACS Sustainable Chemistry & Engineering 6(1): 846–853.
3. Joydeep, D. (2022). A facile approach for the determination of degree of deacetylation of chitosan using acid-base titration: Heliyon, 8(7) :e09924.
4. Method of recovering chitosan and other by-products from shellfish waste and the like. Retrieved September 28, 2022, from <https://patents.google.com/patent/US3862122A/en>
5. VR, G.D., Senthilram, T., Neelakandan, R. (2015). Electrophoretic deposition of chitosan: A rapid surface modification technique for centrifugal spun fibrous web : Journal of Industrial Textiles Impact, 44(5): p725.

本作品說明書內所含圖片、照片，除了【圖 1】，其餘皆由作者親自製作及拍攝。

【評語】 080214

歷屆已有不少關於自製幾丁聚醣製膜的研究作品，題目雖不算新，但本研究著重於以環保方式萃取幾丁聚醣，避免使用強酸強鹼，並應用於製作具有檢測 pH 值功能的紋身貼紙，增加了題目的趣味性與實用性。研究中包括拉伸強度測試、黏附力強度測試、碳酸鈣含量測定等有趣的自製實驗設備及其驗證過程。

建議事項：

1. 研究中包含許多描述成果的部分，但對其量測原理缺乏深入討論。例如，幾丁聚醣的滴定與其礦物質含量測定中，僅給出了結果，未詳細解釋測試方法機制與原理。
2. 研究中提到蛋白酵素添加量增加會使溶液中吸收光度增加，但未討論如何排除因蛋白酵素引起的誤差。
3. 建議使用不同種類和濃度的蛋白酵素，並比較它們對幾丁聚醣去乙醯化程度和抗菌性能的影響。另外探索酵素處理的最佳條件(溫度、時間、pH 值等)，以提高幾丁聚醣的去乙醯化效率。

作品簡報

自製幾丁聚醣

化身紋身貼紙



摘要

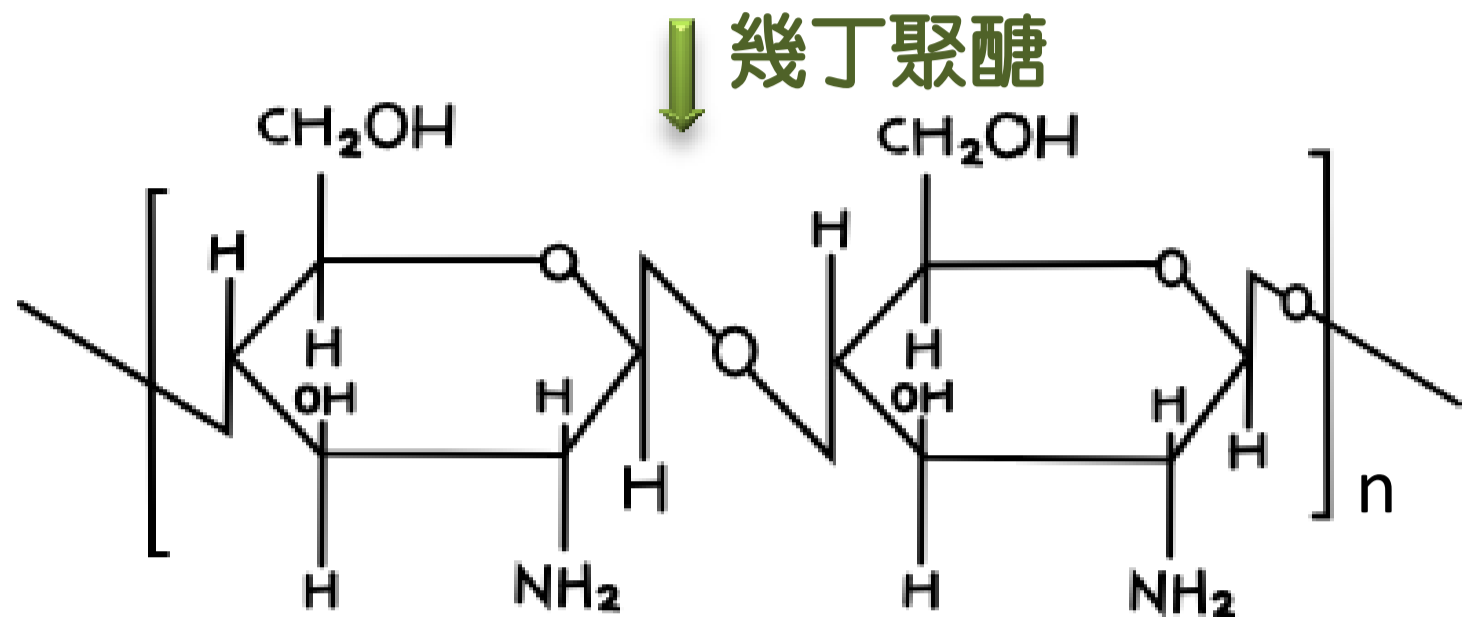
研究生物材料的幾丁聚醣萃取及去乙醯化程度測量和製膜方法，並且製成自製幾丁聚醣紋身貼紙。以滴定法測量不同生物材料的去乙醯化程度，發現室溫下甘油加超音波再經檸檬酸萃取方法，胭脂蝦的去乙醯化程度最高 81.7%。找到最環保萃取法：甘油處理後加蛋白酶去除蛋白質，經 20% 檸檬酸浸泡及 40% 蔗糖萃取，能去除蝦殼中碳酸鈣，再以 40% 氫氧化鈉溶液 100°C 加熱 2 小時，製成的自製幾丁聚醣去乙醯化程度 88.2% 和市售 88% 相近。以 1g 自製幾丁聚醣加 4% 醋酸 40 mL 的成膜比例，經電解後加果膠，再浸於 2% 氫氧化鈉溶液後加天然色素，可得到具黏性、拉伸強度大、不產生膨潤、遇酸鹼溶液能變色且菌落數低 13.67 RLU 的自製幾丁聚醣紋身貼紙，也可推廣至食品保鮮貼紙。

研究設備及器材

生物材料



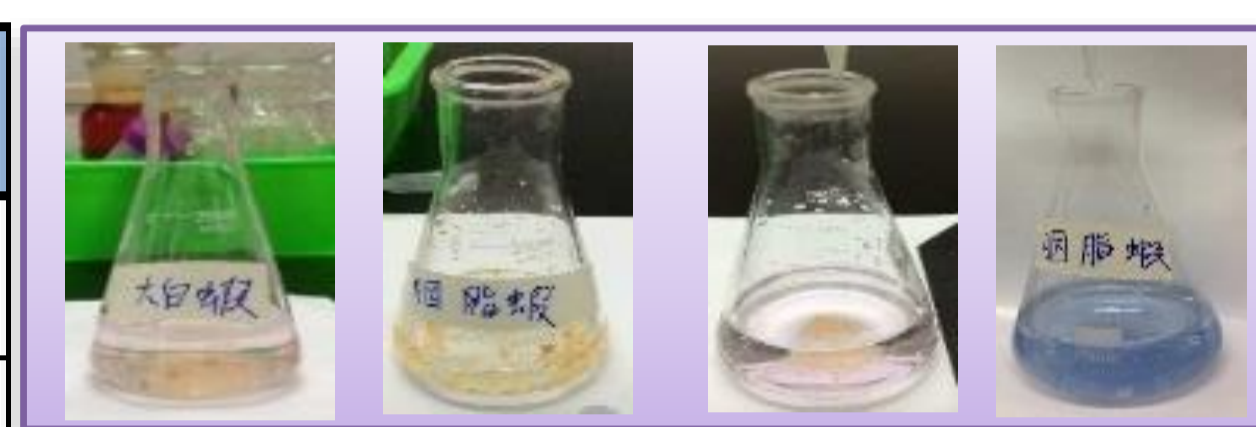
透抽軟骨 三點蟹殼 胭脂蝦殼 草蝦殼 大白蝦殼



市售幾丁聚醣	滴定一	滴定二	滴定三
鹼滴定體積 (mL)	1.6	0.8	1.4
酸滴定體積 (mL)	117	112	109
平均 DD (%)	80.18		

幾丁聚醣滴定

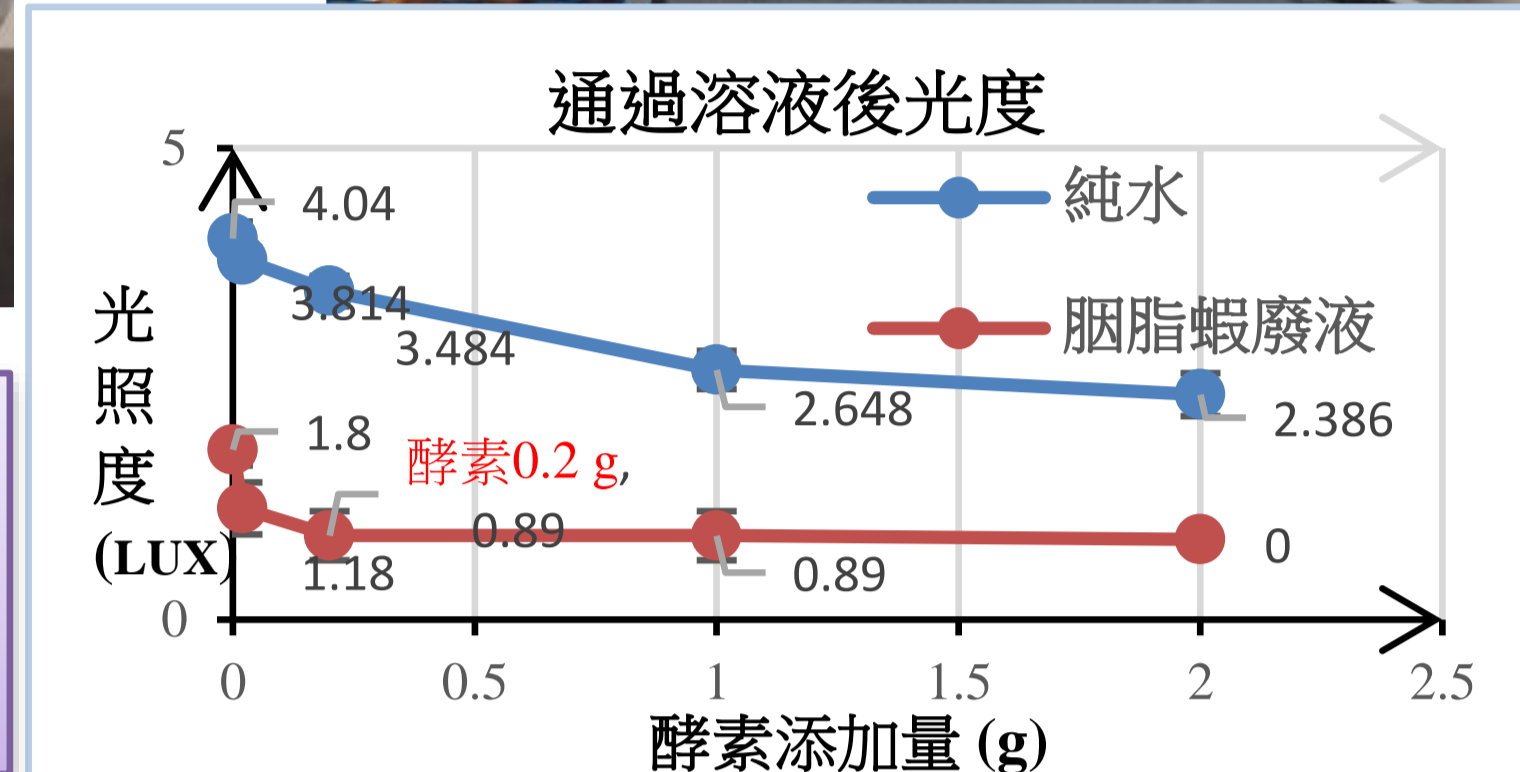
目的：幾丁聚醣去乙醯後，-COCH₃ 被 -NH₂ 取代且在酸性介質中質子化 -NH₃⁺，以 0.1 M 檸檬酸溶液、0.1 M 氫氧化鈉溶液滴定，測量去乙醯化程度。



$$DD(\%) = \frac{(\text{酸濃度} \times \text{酸滴定體積} \times 3 - \text{鹼濃度} \times \text{鹼滴定體積}) \times 16}{\text{酸滴定體積} \times 3 \times 9.94 \times \text{幾丁聚醣重}} \times 100\% \times \frac{1}{91.11\%}$$

蛋白質含量

目的：以 254 nm 紫外光照射幾丁聚醣廢液，測量通過後光度，檢視是否有效地去除蛋白質。



礦物質含量

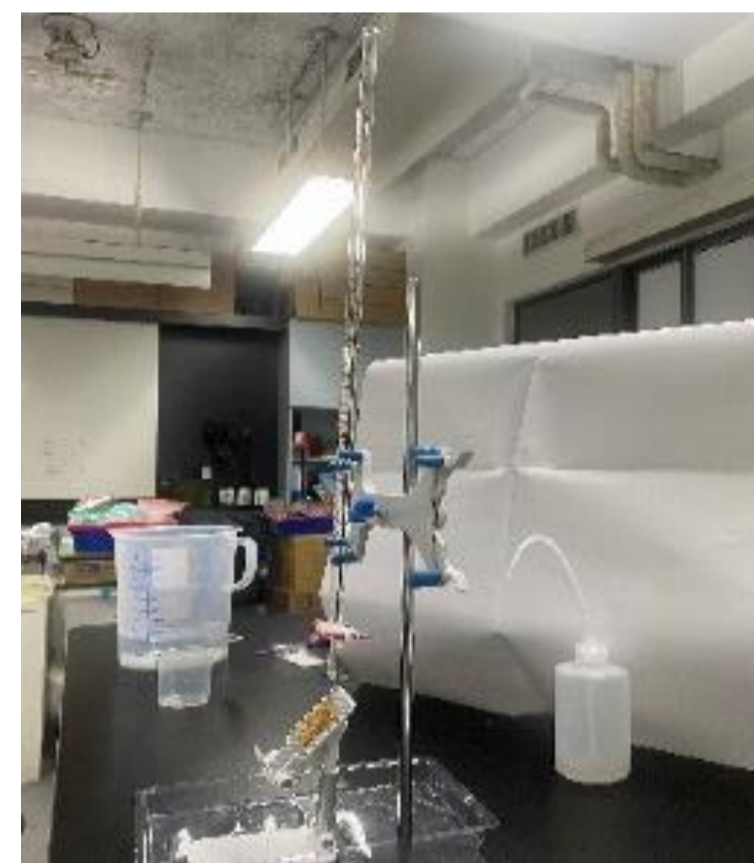


市售幾丁聚醣	測量一	測量二	測量三
v1 玻璃管柱刻度	3.5	5.3	4.3
V2 玻璃管柱刻度	5.8	7.5	6.2
CO ₂ 體積 (mL)	2.3	2.2	1.9
平均 CO ₂ 體積 (mL)	2.1		

$$\text{二氧化碳體積 (mL)} = v2 - v1$$

幾丁聚醣膜測量

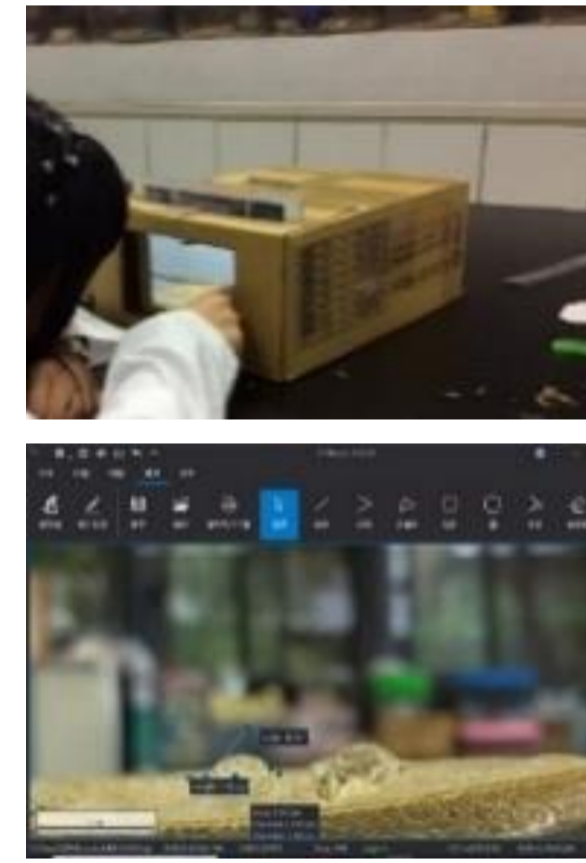
黏附力



拉伸強度



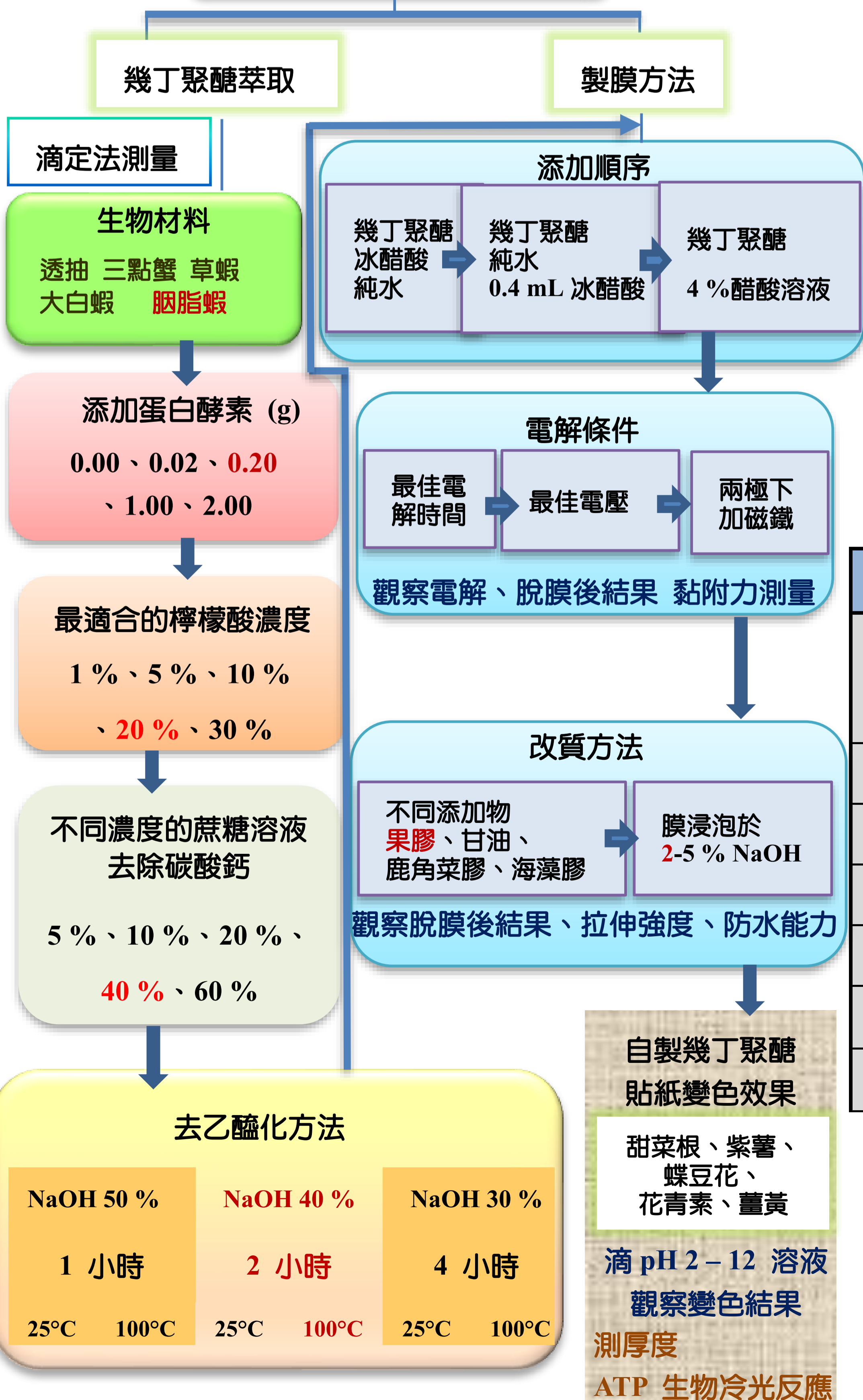
防水能力



研究方法及結果

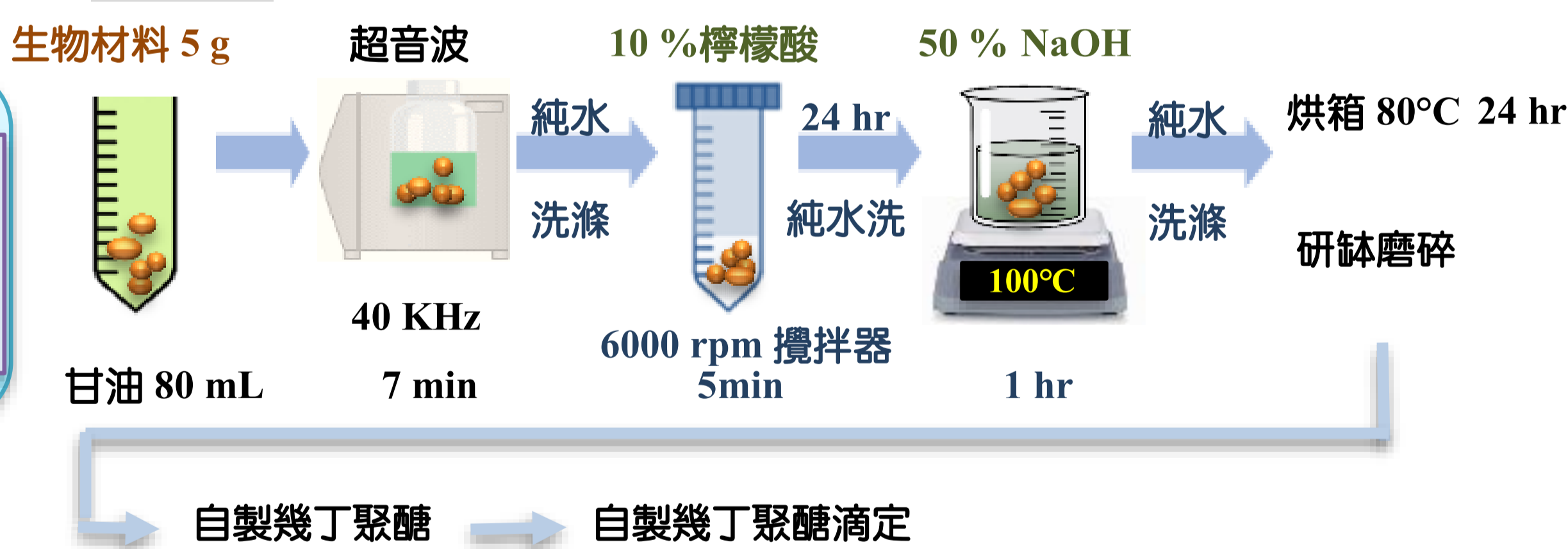
研究架構

自製幾丁聚醣紋身貼紙



實驗一：探討不同生物材料的幾丁聚醣去乙醯化程度

- 實驗目的：資料得知幾丁質主要存在於甲殼動物（蝦、蟹等）的外殼、軟體動物的內骨骼，我們想知道哪一種生物材料的幾丁聚醣去乙醯化程度最高？於是參考期刊，將 200°C 熱甘油改為室溫加超音波處理。
- 實驗方法：



3. 實驗結果：

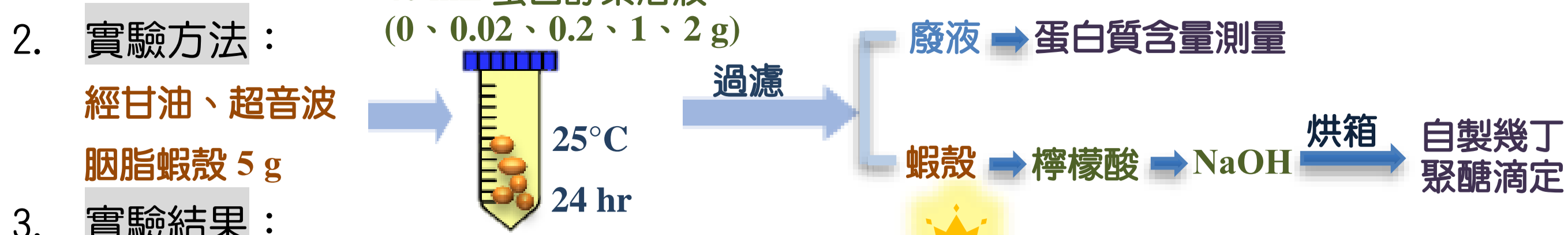
種類	透抽		三點蟹		草蝦		大白蝦		胭脂蝦	
幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	18.3	29.7	10.1	20.4	9.0	22.1	8.4	32.0	7.3	31.6
滴定二	18.4	30.6	9.8	20.8	9.2	22.0	8.2	32.1	6.9	30.6
滴定三	18.1	30.1	9.6	22.3	8.7	23.0	8.0	31.4	6.8	30.9
平均 DD (%)	70.5		74.6		76.5		80.8		81.7	
滴定平均 pH	9.3	3.6	9.4	3.5	9.6	3.6	9.0	3.7	9.4	3.4

4. 結果分析：

- 不同生物材料的去乙醯化程度：胭脂蝦 > 大白蝦 > 草蝦 > 三點蟹 > 透抽，我們取胭脂蝦進行後續實驗。
- 由不同生物材料的平均 DD 發現：以室溫甘油加超音波及檸檬酸的萃取方法，五種生物材料的去乙醯化程度達 70% 以上，可以轉變成可溶於稀酸溶液的幾丁聚醣。

實驗二：探討添加蛋白酶對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

- 實驗目的：我們想知道實驗一中以室溫甘油加超音波的方法，是否真的能有效去除幾丁聚醣中的蛋白質？以及添加蛋白酶後對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響？



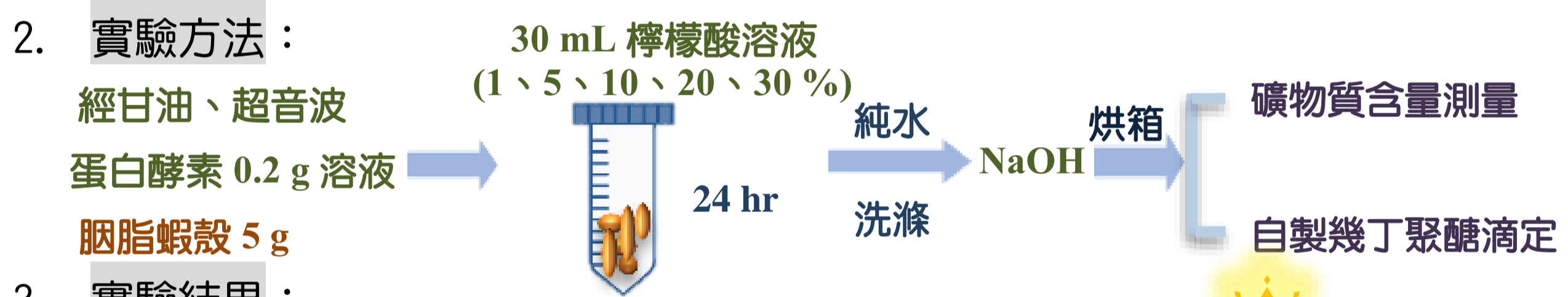
實驗結果：

蛋白酶質量 (g)	0.00		0.02		0.20		1.00		2.00	
幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	7.3	31.6	5.4	29.2	2.7	21.7	2.8	19.3	3.4	20.7
滴定二	6.9	30.6	5.8	26.0	2.6	21.4	3.1	21.7	3.5	21.2
滴定三	6.8	30.9	6.2	27.1	2.2	22.0	3.6	22.2	3.2	21.5
平均 DD (%)	81.7		82.1		84.9		83.9		83.6	
滴定後平均 pH	9.4	3.4	9.6	3.7	9.2	3.3	9.2	3.7	9.1	3.9

- 結果分析：
 - 當蛋白酶質量 0.20 g 時，去乙醯化程度最高 (84.9%)，顯示經蛋白酶處理後的蝦殼能增加去乙醯化程度。
 - 從實驗一、二滴定後平均 pH 發現用氫氧化鈉滴定檸檬酸，當量點 pH 大約 9。我們發現鹼的滴定體積越少，平均 DD 也越高，代表氨基含量的百分比越高，在酸鹼滴定過程中需要較少鹼的滴定體積。

實驗三：探討檸檬酸濃度對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

- 實驗目的：為了了解檸檬酸是否能有效的去除蝦殼中的礦物質，我們比較不同濃度的檸檬酸溶液，想知道哪種濃度可以得到最高去乙醯化程度的幾丁聚醣？



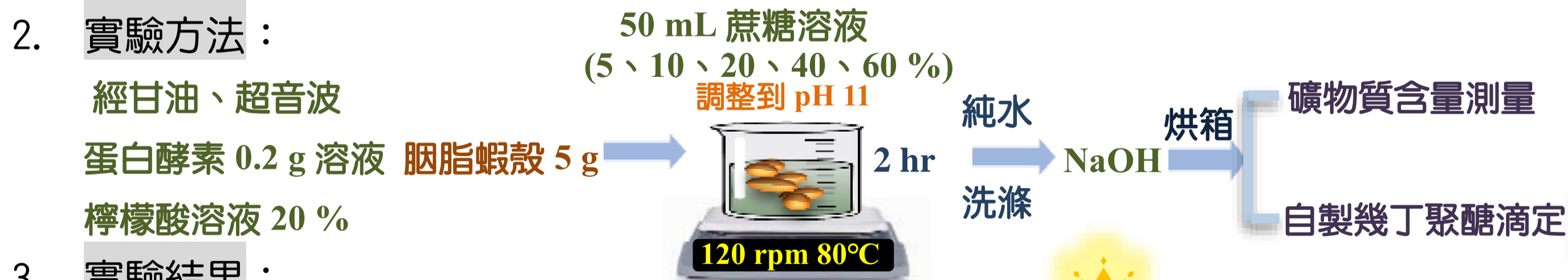
實驗結果：

檸檬酸濃度	1%		5%		10%		20%		30%	
經純水洗滌後幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	3.1	23.9	2.9	23.0	2.7	21.7	2.4	27.1	2.8	25.3
滴定二	2.9	26.3	3.1	22.8	2.6	21.4	2.3	29.6	2.9	24.1
滴定三	3.3	25.6	2.8	24.0	2.2	22.0	2.2	30.5	3.3	25.1
平均 DD (%)	84.7		84.6		84.9		86.2		84.8	
CO ₂ 平均體積 (mL)	33.7		21.1		21.0		16.4		14.2	

- 結果分析：
 - 當檸檬酸濃度 20% 時，去乙醯化程度最高 (86.2%)。
 - 從二氧化碳平均體積發現，檸檬酸濃度越高，二氧化碳平均體積也越低，顯示檸檬酸濃度越高，能去除胭脂蝦殼中碳酸鈣量越多。
 - 經純水洗滌後照片發現檸檬酸濃度越高，蝦殼顆粒越小，但檸檬酸 30% 時，平均 DD 未提高，推測檸檬酸濃度太高也會影響幾丁聚醣的去乙醯化程度。

實驗四：探討蔗糖溶液對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

- 實驗目的：我們想增加礦物質去除量，又想以最環保的萃取法來代替鹽酸，我們參考國外專利，比較不同濃度蔗糖溶液，想得到平均 DD 最高的幾丁聚醣。



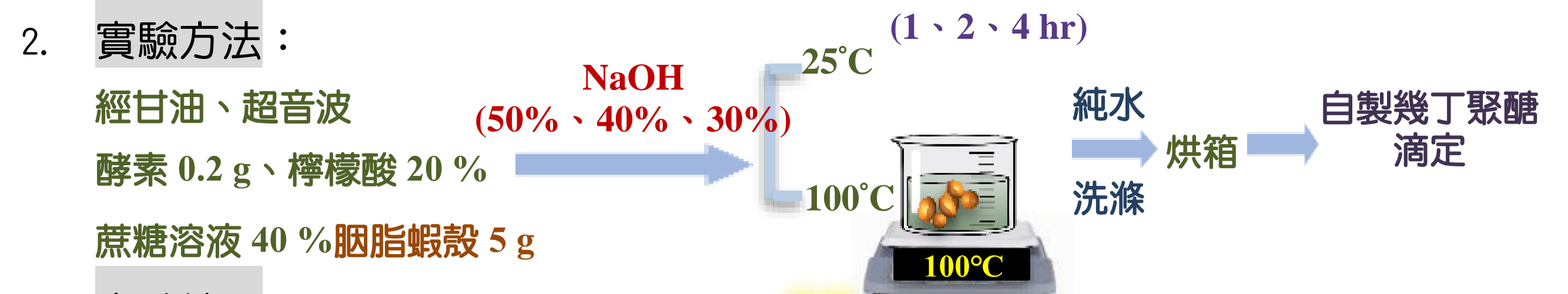
實驗結果：

蔗糖濃度	5%		10%		20%		40%		60%	
幾丁聚醣照片										
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	2.2	29.0	2.1	30.0	2.0	34.0	1.8	50.0	2.0	43.5
滴定二	2.3	30.0	2.2	30.3	2.1	36.7	1.7	54.5	1.9	44.3
滴定三	2.4	29.0	2.2	31.3	1.9	36.0	1.9	54.7	1.8	41.7
平均 DD (%)	86.0		86.2		86.7		87.3		87.0	
CO ₂ 平均體積 (mL)	12.7		11.5		7.6		4.4		2.1	

- 結果分析：
 - 當蔗糖濃度 40% 時，去乙醯化程度最高 (87.3%)。
 - 從二氧化碳平均體積發現，蔗糖濃度越高，二氧化碳平均體積也越低，發現經蔗糖溶液濃度 60% 處理後，能達到與市售幾丁聚醣相同的二氧化碳平均體積 2.1 mL。

實驗五：探討去乙醯化方法對幾丁聚醣去乙醯化程度的影響

- 實驗目的：我們試著以不同濃度的氫氧化鈉溶液進行實驗並且降低反應溫度進行比較，希望能找到最適量濃度的氫氧化鈉溶液及反應溫度、時間。



實驗結果：

NaOH 濃度	50%				40%				30%			
時間	1 小時				2 小時				4 小時			
溫度	25°C		100°C		25°C		100°C		25°C		100°C	
滴定體積 (mL)	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸	鹼	酸
滴定一	20.6	32.3	1.8	50.0	19.6	29.4	0.8	56.7	23.4	34.0	3.3	32.3
滴定二	21.3	30.2	1.7	54.5	18.4	29.8	0.3	59.0	25.8	30.0	3.5	30.0
滴定三	19.8	31.9	1.9	54.7	16.5	30.5	0.2	61.0	26.0	29.3	3.8	29.9
平均 DD (%)	69.1		87.3		70.4		88.2		64.4		84.9	

- 結果分析：
 - 以室溫 25°C 處理時，胭脂蝦殼的去乙醯化程度 ≤ 70.4%，推論由於幾丁質分子間結構緊密，需要利用高溫才能打斷化學鍵，進行去乙醯基反應。
 - 以 100°C 處理時，胭脂蝦殼平均 DD ≥ 84.9%，顯示高溫處理可得到較高去乙醯化程度的幾丁聚醣，發現加熱時間增加 1 小時可以降低 10% NaOH 用量。
 - 以 40% NaOH、2 小時、100°C 的方法製成的自製幾丁聚醣去乙醯化程度 88.2% 和市售幾丁聚醣 88% 相近。

實驗六：探討幾丁聚醣、純水、冰醋酸所形成膜之最佳比例

- 實驗目的：實驗五得到具有高去乙醯化程度 (88.2%) 的自製幾丁聚醣，我們想應用在紋身貼紙上，試著找出形成膜之最佳比例。



實驗結果：

添加順序	0.2 g 幾丁聚醣 → 冰醋酸 V (mL) → 1 mL 純水				
冰醋酸 V (mL)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
實驗結果					
	粉狀	粉狀	顆粒狀	果凍狀	果凍狀

實驗結果：

添加順序	0.2 g 幾丁聚醣 → 純水 V (mL) → 0.4 mL 冰醋酸				
純水 V (mL)	1	5	10	20	30
實驗結果					
	顆粒狀	果凍狀	液體可流動	液體可流動	液體可流動

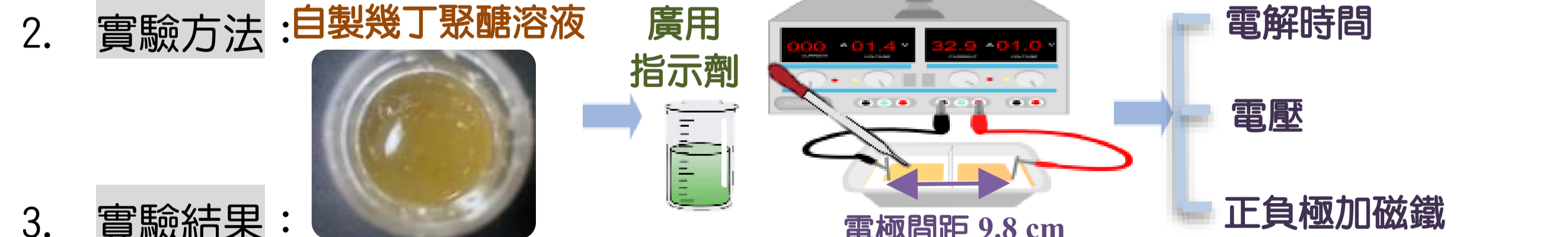
實驗結果：

添加順序	0.2 g 幾丁聚醣 → 4% 醋酸溶液 V (mL)				
醋酸溶液 V (mL)	6	8	10	12	14
脫膜後結果					
	脫膜完整 厚度較厚	脫膜完整 厚度適中	脫膜完整 薄厚不均易皺摺	脫膜不完整	脫膜不完整

- 結果分析：
 - 先加冰醋酸結果：發現幾丁聚醣對於冰醋酸吸收體積大，混合結果不易流動。
 - 先加純水再加冰醋酸操作容易，純水體積 10 mL 時幾丁聚醣已呈液體可流動，方便製膜。配製成 4% 醋酸溶液實驗，發現醋酸溶液 8 mL，脫膜完整。

實驗七：探討不同電解條件對幾丁聚醣膜的影響

- 實驗目的：我們發現自製幾丁聚醣膜沒有黏性，於是我們參考文獻對自製幾丁聚醣進行電解，希望能得到具有理想黏附力的自製幾丁聚醣膜。



實驗結果：

電壓	電壓 9 V				
電解時間 (s)	0	5	30	60	300
電解結果					
	橘色	負極開始生 氣泡變黃	負極不斷有 氣泡變紅	負極不斷有 氣泡變紅	氣泡減緩 紅褐
脫膜後					
	無氣泡	少許氣泡	有氣泡	氣泡多	氣泡多
平均黏附力 (mL)	47.3	223.3	310.0	292.0	299.7

電解時間	30 s				
電壓(V)	1.5	3	9	12	24
電解結果					
	負極黃	負極黃	負極變紅	負極變紅	負極變紅
脫膜後					
	有氣泡	氣泡多	有氣泡	無氣泡皺摺	厚薄不均皺摺
平均黏附力 (mL)	64.3	105.3	306.0	415.7	502.0

電解條件	電解時間 30 s、電壓 12 V			
磁鐵位置	負極下單磁鐵	負極側單磁鐵	兩極側雙磁鐵	負極下雙磁鐵
電解結果				
	負極變紅	正負極橘	負極變紅	負極變紅快
脫膜後				
	膜邊緣黏模具	厚薄不均勻	邊緣厚薄不均	膜邊緣黏模具
平均黏附力 (mL)	598.3	606.3	505.0	730.7

4. 結果分析：

- 電解開始有氣泡推論為氫氣，幾丁聚醣帶正電荷會在負極析出。
- 負極從橘變黃再變橘後轉紅→幾丁聚醣析出越多 pH 值下降越快。
- 在電解過程中發現降低電流氣泡有減少，增加磁鐵於電解，可以減少電解的反應時間，達到節電，負極下方擺雙磁鐵平均黏附力最大。

實驗八：探討自製幾丁聚醣膜的改質方法

- 實驗目的：發現膜脆硬且易澎潤，決定添加甘油及天然膠增加膜柔軟度且進行拉伸強度比較，將拉伸強度最佳的膜浸泡於鹼液，想要得到柔軟且防水的自製幾丁聚醣紋身貼紙。

- 實驗方法：

對照、果膠、甘油、鹿角菜膠、海藻膠	倒入模具	測量	浸泡於 NaOH	烘箱	測量
電解後自製幾丁聚醣溶液 20 mL		拉伸強度			防水能力
	烘箱 50°C				

3. 實驗結果：

電解後幾丁聚醣溶液					
不同添加物	對照	果膠	甘油	鹿角菜膠	海藻膠
混和結果	液體可流動	液體可流動	液體可流動	果凍狀	液體可流動
脫膜後					
	具黏性	具黏性	未乾燥	不易製膜	不具黏性
平均拉伸強度 (g)	340.2	1752.9	—	—	1086.8

果膠幾丁聚醣膜					
NaOH (%)	對照	2	3	4	5
浸泡 4 小時後結果	—	膜完整	膜完整	膜邊緣溶解	膜邊緣溶解
乾燥後					
	膜完整	局部變深	局部變深	膜焦破裂	膜焦破裂
防水能力	平均接觸角(度)	115.5	94.3	74.1	—
	平均防水時間(s)	428	253	367	—
	結果	產生澎潤	無澎潤	無澎潤	—

4. 結果分析：

- 添加果膠後幾丁聚醣膜的拉伸強度是對照組的 5.2 倍，可以有效改善幾丁聚醣膜脆硬的性質。
- 當氫氧化鈉溶液濃度 2 %、3 % 處理後能得到完整的幾丁聚醣膜，接觸角變小，顯示經鹼液浸泡後幾丁聚醣的表面與純水較親合，且水滴擴展開來後沒有產生澎潤現象，適合製成紋身貼紙。

實驗九：探討加入不同色素對自製幾丁聚醣紋身貼紙變色的影響

- 實驗目的：利用自製幾丁聚醣紋身貼紙略有親水的性質及天然色素在不同 pH 會變色的特性，製成檢驗生活中溶液 pH 值的紋身貼紙。
- 實驗方法：

甜菜根、紫薯、蝶豆花	pH 2-12 溶液	倒入模具
2 % 氫氧化鈉溶液浸泡後的幾丁聚醣膜 10 g	、花青素、薑黃	烘箱 50°C
- 實驗結果：

不同色素					
天然色素	甜菜根	紫薯	蝶豆花	花青素	薑黃
脫膜後					
不同 pH 溶液變色情況	pH 2-7	pH 2-3	pH 2	pH 2-5	pH 2-11
	pH 8-9	pH 4-10	pH 5-6	pH 6-10	
	pH 11-12	pH 11-12	pH 8-10	pH 11-12	pH 12

4. 結果分析：

- 5 分鐘後出現顏色變色 → 適合製成檢測酸鹼溶液的紋身貼紙。



討論

- 滴定過程為了實驗安全，將 0.1 M 鹽酸溶液 → 0.1 M 檸檬酸溶液。發現：第二階段氫氧化鈉溶液滴定體積比檸檬酸溶液滴定體積少很多，文獻搜尋得知，幾丁聚醣先溶解在檸檬酸溶液中，將 NH₂ 基團轉化為相應形式的 NH₃⁺，在第二階段氫氧化鈉溶液滴定過程中，幾丁聚醣溶液中的檸檬酸 H⁺ 先被 OH⁻ 離子中和，質子化的胺基轉化為相應胺基，胺基含量越多溶液 pH 值會越高，在滴定過程需要氫氧化鈉溶液體積較少，因此也證明我們的自製幾丁聚醣的方法去乙醯化程度高。
- 我們的滴定方法以兩階段的方式滴定幾丁聚醣的胺基含量，以第一階段的檸檬酸溶液去滴定過量的氫氧化鈉溶液，再以第二階段的檸檬酸溶液計算滴定體積，計算出百分比 91.11 % (市售幾丁聚醣的測量值 80.18 %，標示值為 88 %)，與文獻相比，較 PVSU 滴定法、電位滴定法、甲基橙法、甲基橙-苯胺藍法更準確。
- 與實驗一相比，實驗五得到的自製幾丁聚醣去乙醯化程度增加了 6.5 % 為 88.2 % 和市售幾丁聚醣 88 % 相近，已達到歐美、日本食品級幾丁聚醣之標準。
- 我們萃取步驟與工業相比：

自製幾丁聚醣	甘油、超音波震盪 → 蛋白酶素 → 檸檬酸 → 蔗糖 → 40 % 氫氧化鈉	✓ 去乙醯化程度和市售幾丁聚醣相近 ✓ 環保且安全
工業	氫氧化鈉 → 鹽酸 → 過錳酸鉀 → 50 % 氫氧化鈉	廢水含大量化學物質

結論

- 探討自製幾丁聚醣萃取的方法，經實驗一~五的最佳化條件，可以得到高去乙醯化程度 88.2 % 的自製幾丁聚醣。

生物材料	製程	去乙醯化程度
胭脂蝦	室溫下甘油加超音波 → 酵素添加質量 0.2 g → 檸檬酸濃度 20 % → 蔗糖溶液 40 % → 40 % NaOH、2 小時、100°C	88.2 % 和市售幾丁聚醣 88 % 相近

- 以自製幾丁聚醣研究製膜的方法，經實驗六~八的最佳化條件，可以得到操作容易且脫膜完整，具黏性、平均拉伸強度 1752.9 g、平均接觸角 94.3° 且不產生澎潤的自製幾丁聚醣膜。

純水、冰醋酸添加順序與比例	電解條件	改質方法
1g 幾丁聚醣加入 4 % 醋酸 40 mL	電解時間 30 s、電壓 12 V、負極下方擺放兩個磁鐵	添加果膠、經氫氧化鈉溶液 2 % 浸泡

- 以自製幾丁聚醣膜經實驗九添加不同天然色素後，製成的自製幾丁聚醣紋身貼紙，貼在身上可以檢測生活中接觸水溶液的酸鹼度，抗菌且安全。

加入不同天然色素	檢驗結果	未來發展
檢測強酸水溶液的紋身貼紙：蝶豆花	可做成各種造型 厚度 1.31 mm	食品保鮮貼紙
檢測強鹼水溶液的紋身貼紙：紫薯、蝶豆花、花青素、薑黃	ATP 生物冷光反應 測得平均 13.67 RLU	彩色 ok 繡
檢測弱鹼水溶液的紋身貼紙：甜菜根	放置 2 個月後僅平均 177.33 RLU	
檢測弱酸水溶液的紋身貼紙：花青素		

參考文獻資料

- 洪甄敏、吳白玟、林汝青、高雅敏、曾素香、王德原 (2020)。原料「幾丁聚醣」中去乙醯化程度之檢驗研究。食品藥物研究年報，Issue 11, 27-36。
- 劉世明 (2001)。幾丁聚醣與海藻膠複合被覆薄膜之相關物性與細胞貼覆。國立中央大學化學工程研究所。
- Devi, R., Raghavachari, D. (2018). Pretreatment in Hot Glycerol for Facile and Green Separation of Chitin from Prawn Shell Waste: ACS Sustainable Chemistry & Engineering 6(1): 846–853.
- Joydeep, D. (2022). A facile approach for the determination of degree of deacetylation of chitosan using acid-base titration: Heliyon, 8(7): e09924.
- Method of recovering chitosan and other by-products from shellfish waste and the like. Retrieved September 28, 2022, from <https://patents.google.com/patent/US3862122A/en>
- VR, G.D., Senthilram, T., Neelakandan, R. (2015). Electrophoretic deposition of chitosan: A rapid surface modification technique for centrifugal spun fibrous web: Journal of Industrial Textiles Impact, 44(5): p725.

本海報內所含圖片、照片，皆由作者親自製作及拍攝。