

# 中華民國第 65 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 化學科

佳作

030208

扭「蛋」成「膠」－蛋白質膠黏性質與褐變反應  
之化學探討

學校名稱： 高雄市立鳳西國民中學

作者：  國一 洪丞昀  國一 黃子綸	指導老師：  黃文智
---------------------------------	------------------

關鍵詞： 蛋白質萃取、蛋白質黏滯性、蛋白質附著力

# 摘要

本研究評估動物性蛋白質作為天然膠黏材料的可能性。選用常見的虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂奶粉、脫脂奶粉作為研究樣本，透過簡化後的蛋白質萃取方式，經 BCA 試劑及分光光度計測量找出最佳化萃取方式。隨後將萃取液經酸、鹼、有機化合物水溶液處理後，觀察黏滯性、附著力之變化。最後再探討蛋白質加熱後的褐變反應。結果發現，經 0.15 M 醋酸萃取 72 小時為最佳條件。在加入 1 mg/mL 醋酸、1 mg/mL 碳酸氫鈉、2 mg/mL 葡萄糖水溶液等三種處理後，黏滯性（Arduino 系統）與附著力（百格刀組）均顯著提升。且加熱到 60°C 以上，有初步的褐變反應發生。綜合上述，動物性蛋白質經適當處理後具良好膠黏潛力，未來可進一步探討其化學變化，以提升應用價值。

## 壹、前言

### 一、研究動機

在去年的科學展覽中，我們以蛋白質黏滯性的研究為主題，獲得了不錯的成果。然而，在實驗過程中我們發現，不同來源的蛋白質需使用不同的萃取方法，製備過程繁瑣且缺乏一致性，對實驗效率造成一定程度影響。因此，我們開始思考是否能發展出一種簡單、統一且有效的蛋白質萃取方式。

此外，在之前的研究中，我們曾以較高濃度的酸、鹼、有機溶液處理蛋白質萃取液，以觀察其對黏滯性的影響。但進一步探討後我們發現，這些高濃度條件與生物體內實際環境相距甚遠。因此，我們希望了解在低濃度的化學處理是否仍會影響蛋白質的黏滯性與附著力。

經過文獻探討與人工智慧（ChatGPT）分析後，我們發現日常生活中常見的醋酸可作為簡易的蛋白質萃取之用（Patmawati et al., 2023）。我們先以文獻中建議的 0.15 M 醋酸（ $\text{CH}_3\text{COOH}$ ，1% w/v）進行實驗。透過 BCA 試劑搭配分光光度計(OD 562)測定，初步結果顯示，樣本在醋酸中孵育（incubate）48 小時後，確實可以有效釋出蛋白質。確認其可行後，我們進一步調整萃取時間(24、48、72、96 小時)以優化萃取條件。

在確立萃取方法後，我們選用四種常見水溶性試劑：弱酸（醋酸）、強酸（鹽酸  $\text{HCl}$ ）、弱鹼（碳酸氫鈉  $\text{NaHCO}_3$ ）、強鹼（氫氧化鈉  $\text{NaOH}$ ），以及一種有機化合物葡萄糖（ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ），對蛋白質萃取液進行處理，並觀察其對黏滯性與附著力的影響。

實驗過程中，我們發現國小時使用的「彈珠量筒沉降法」在處理低黏滯性樣品時靈敏度不足，我們改以市面上容易取得的 Arduino 微控制器模組進行黏滯性測試，以提高數據精確度。而附著力測試部分，則引入工業上常見百格刀組（Cross-Hatch Cutter Kit），將蛋白質塗佈於塑膠基材上後進行切割與膠帶撕除測試，以評估附著強度。

最後，為進一步探討蛋白質與醣類之間可能發生的變化，我們在蛋白質樣本中添加葡萄糖，並分別在 30°C、60°C、90°C 加熱處理，以分光光度計(OD 420 nm)測量吸光值，檢測是否出現褐變反應。

## 二、研究目的

- (一)以醋酸萃取虱目魚魚鱗、虱目魚魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂奶粉與脫脂奶粉等六種樣本，並以 BCA 試劑處理後，再由分光光度計測定蛋白質濃度。
- (二)調整萃取時的孵育時間，再以 BCA 試劑與分光光度計測定蛋白質含量。
- (三)在「加入弱酸、強酸」、「加入弱鹼、強鹼」、「加入有機化合物水溶液」的條件下，利用 Arduino 測量系統測試蛋白質萃取液的黏滯性。
- (四)在「加入弱酸、強酸」、「加入弱鹼、強鹼」、「加入有機化合物水溶液」的條件下，利用百格刀組測試蛋白質萃取液的附著力。
- (五)初探蛋白質加入葡萄糖並加熱 30℃、60℃、90℃ 後，是否產生褐變反應。

本研究旨在建立一套操作簡便、安全且具一致性的蛋白質萃取與測試流程，並探討低濃度酸、鹼與有機化合物對蛋白質溶液之黏滯性、附著力的影響，以及是否有褐變反應的發生。

## 三、歷屆科展文獻回顧

來源	題目名稱	研究結果
第52屆化學科 編號:080201	百黏好合一 動物性與植物性蛋白質製 作成蛋白質膠水的探討	著重蛋白質膠水黏性使用的研究，以蛋白質膠水的製成，將步驟逐一變成研究變因進行實驗。
第59屆化學科 編號:080206	蛋白質得來塑	以多元的蛋白質種類進行研究，建立新的凝析量判斷標準，採過濾液澄清度來判斷，以及不同類型的蛋白質塑膠在生活中的應用。
第59屆化學科 編號:080215	「膠」情「非」淺— 探討魚鱗膠原蛋白的凝聚 及水解分析研究	以廢棄的魚鱗為研究對象，設計一系列實驗了解魚鱗膠原蛋白提取、凝膠與水解現象。
第62屆化學科 編號:080204	與豬謀皮— 豬皮萃取明膠製成黏著劑 之研究	以豬皮為研究對象，豬皮去油脂後以5%醋酸溶液浸泡24小時，再以100℃熬煮5小時，得到豬皮明膠最高萃取率；明膠黏性以80℃熬煮3小時後達到最高。
第64屆化學科 編號:080203	解黏去縛—探究蛋白質的 結著與降解	研究不同劑量的酸性、鹼性物質、有機溶劑、加熱溫度不同的變因下，蛋白質黏性、承載拉力、黏性解離的情況。
前人科展研究		本次科展研究
蛋白質來源	魚鱗、奶類（59屆）、豬皮（62屆）、蛋類（59屆）	虱目魚魚鱗、虱目魚魚皮、生豬皮、全脂奶粉、脫脂奶粉、雞蛋。
蛋白質 萃取時間	蛋白質萃取前無incubate， 萃取後靜置5天(64屆)	改變萃取時的incubate時間
蛋白質黏性	不同濃度酸、鹼性、有機 物質影響（59、62屆）	利用不同的酸性物質、鹼性物質、葡萄糖，了解其對於蛋白質變性的影響

## 貳、研究設備及器材

### 一、研究設備

Thermo Fisher Genesys 10S UV-Vis 分光光度計、附著力測試儀 MIT-AT12 (百格刀組 Cross-Hatch Cutter Kit)、恆溫內循環水浴槽(B206-T2 系列)、Arduino 測量系統、pH Meter、磁石攪拌器、Pipette 移液器、電子秤、電子計時器、4℃ 冰箱。

表 2-1：研究設備圖 (照片來源：由作者親自拍攝)

		
分光光度計	磁石攪拌器	百格刀組
		
pH Meter	Arduino 裝置圖	Pipette 移液器
		
恆溫內循環水浴槽	電子秤	計時器

## 二、研究器材

Cuvette 比色管、Pipette 移液器 Tip、塑膠離心管(1.5 mL、50 mL)、漏斗、玻棒、濾紙、燒杯(250 mL、500 mL)、金屬鍋、量筒(50 mL、100 mL)、試管、試管架、HDPE 塑膠廣口瓶、滴瓶、秤量紙、塑膠滴管、保鮮膜、塑膠片。

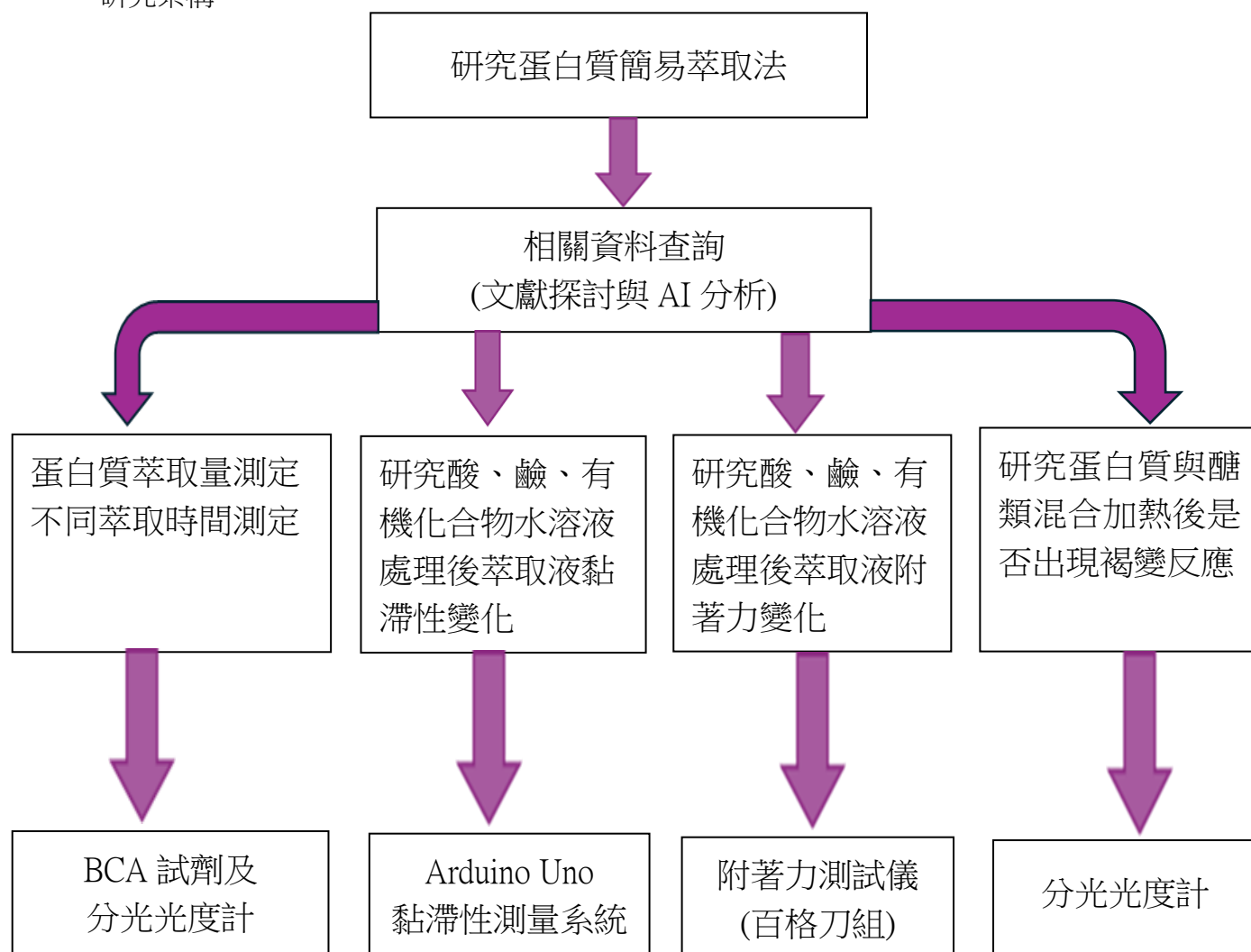
## 三、研究材料

(一)蛋白質材料來源：虱目魚魚鱗、虱目魚魚皮、生豬皮、雞蛋、全脂奶粉、脫脂奶粉

(二)實驗藥品：T-Pro BCA Protein Assay Kit、牛血清白蛋白(BSA; Bovine Serum Albumin，2 mg/mL)、醋酸(1 mg/mL、2 mg/mL)、鹽酸(1 mg/mL、2 mg/mL)、碳酸氫鈉(1 mg/mL、2 mg/mL)、氫氧化鈉(1 mg/mL、2 mg/mL)、葡萄糖(1 mg/mL、2 mg/mL)。

## 參、研究過程或方法

### 一、研究架構



(圖片來源：由作者親自繪製)



## 二、蛋白質材料製備方式

### (一)虱目魚魚鱗的萃取

- 1.將市售虱目魚魚鱗用清水徹底清洗，去除雜質、油脂與血污。
- 2.秤量 100g 虱目魚魚鱗放置於乾淨容器中，再倒入 400 mL，0.15M 醋酸。
- 3.以保鮮膜覆蓋之後，將容器放入 4°C 冰箱，之後每 12 小時稍微進行攪拌。
- 4.分別冷藏至指定時間，浸泡結束後，用濾紙將浸泡液過濾後冷藏備用。



圖 3-1 虱目魚魚鱗蛋白質萃取 (照片來源：由作者親自拍攝)

### (二)虱目魚魚皮的萃取

- 1.將市售虱目魚魚皮用清水徹底清洗，去除雜質、油脂與血污。
- 2.將魚皮切成約 4~6 cm<sup>2</sup> 的小塊，增加與溶液的接觸面積。
- 3.將魚皮放入 10%食鹽水溶液中浸泡 2 小時，去除殘留的脂肪和非膠原蛋白質。
- 4.秤量 100g 魚皮放置於乾淨容器中，再倒入 400 mL，0.15M 醋酸。
- 5.以保鮮膜覆蓋之後，將容器放入 4°C 冰箱，之後每 12 小時稍微進行攪拌。
- 6.分別冷藏至指定時間，浸泡結束後，用濾紙將浸泡液過濾後冷藏備用。

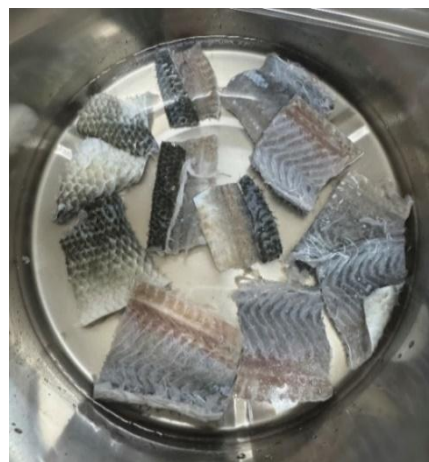


圖 3-2 虱目魚魚皮蛋白質萃取 (照片來源：由作者親自拍攝)

### (三)生豬皮蛋白的萃取

- 1.將市售生豬皮用刀刮去脂肪層，直到表面平滑，並用清水沖洗。
- 2.將生豬皮切成約 4~6 cm<sup>2</sup> 的小塊，增加與溶液的接觸面積。
- 3.秤量 100g 處理後的生豬皮置於乾淨容器中，再倒入 400 mL，0.15M 醋酸。
- 4.以保鮮膜覆蓋之後，將容器放入 4°C 冰箱，之後每 12 小時稍微進行攪拌。
- 5.分別冷藏至指定時間，浸泡結束後，用濾紙將浸泡液過濾後冷藏備用。



圖 3-3 生豬皮蛋白質萃取 (照片來源：由作者親自拍攝)

### (四)雞蛋蛋白的萃取

- 1.輕輕敲破雞蛋，將蛋白和蛋黃分開，避免蛋黃和蛋白混和。
- 2.秤量 100g 蛋白(約 4 顆蛋)放置於乾淨容器中，再加入 400 mL，0.15M 醋酸。
3. 稍微攪拌後，用保鮮膜覆蓋，將容器放入 4°C 冰箱，分別冷藏至指定時間。
- 4.浸泡結束後，用濾紙將浸泡液過濾後冷藏備用。



圖 3-4 雞蛋蛋白質萃取 (照片來源：由作者親自拍攝)

### (五)奶粉的萃取

- 1.秤取 10 克奶粉，加入 90 克水中進行初步溶解，製成 100 克牛奶。
- 2.放置於磁石攪拌器攪拌，使奶粉完全溶解於水中。
- 3.攪拌過程中再加入 400 mL，0.15M 醋酸，用保鮮膜覆蓋後將容器放入 4°C 冰 箱。
- 4.冷藏至指定時間後，將浸泡液用濾紙過濾後留取上清液冷藏備用。



圖 3-5 奶粉蛋白質萃取 (照片來源：由作者親自拍攝)

### 三、BCA Protein Assay Kit 檢測萃取液中蛋白質含量

#### (一)BCA Protein Assay 原理

BCA 是一種基於銅離子還原反應和 BCA 試劑顯色反應的蛋白質定量方法，具有靈敏、穩定且抗干擾能力強的特點，是目前實驗室中最常用的蛋白定量方法之一。通過以下兩個步驟測定蛋白濃度：

- 1.蛋白質還原銅離子（Biuret 反應）：在鹼性條件下，蛋白質中的肽鍵可以將二價銅離子( $\text{Cu}^{2+}$ )還原為一價銅離子( $\text{Cu}^+$ )。
- 2.BCA 與  $\text{Cu}^+$  的配位反應：生成的一價銅( $\text{Cu}^+$ )會與二喹啉甲酸(Bicinchoninic Acid, BCA)形成穩定的紫色錯合物，該錯合物在 562 nm 處具有特定的吸收峰值。錯合物的顏色深淺會與樣品中蛋白質的濃度呈線性關係。

#### (二)操作方式

- 1.標準曲線的準備：配製系列已知濃度的標準蛋白溶液作為標準品（本實驗利用套件所附 Protein Standard，蛋白質濃度為 2 mg/mL），系列稀釋為 2000  $\mu\text{g/mL}$ 、1000  $\mu\text{g/mL}$ 、400  $\mu\text{g/mL}$ 、200  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$ 、50  $\mu\text{g/mL}$ 、25  $\mu\text{g/mL}$ 、0  $\mu\text{g/mL}$ ，每個標準溶液體積取 0.3mL。
- 2.配製 BCA 工作液：將 BCA 試劑(A 試劑)和鹼性銅試劑(B 試劑)以 50:1 比例混合，放置於 50 mL 塑膠離心管中備用。
- 3.加入試劑並混合：每個樣品或標準品中加入 2.2 mL 的 BCA 工作液，輕輕混勻以確保反應完全。
- 4.孵育(incubate)：在 37°C 水浴或室溫下孵育 30 分鐘。
- 5.測量吸光值：使用分光光度計在 562 nm 測量吸光值。
- 6.繪製標準曲線：藉由 Excel 程式繪製標準蛋白質濃度和吸光值標準曲線，且計算曲線的  $R^2$  線性迴歸係數(  $R^2$  值必須大於 0.99 代表有效)。
- 7.待測蛋白質樣品濃度：將待測樣品(0.3 mL)及 BCA 工作液(2.2 mL)混合後放入分光光度計測量吸光值，再將吸光值代入標準曲線計算蛋白質濃度。





圖 3-6 BCA 工作液  
(照片來源：由作者親自拍攝)

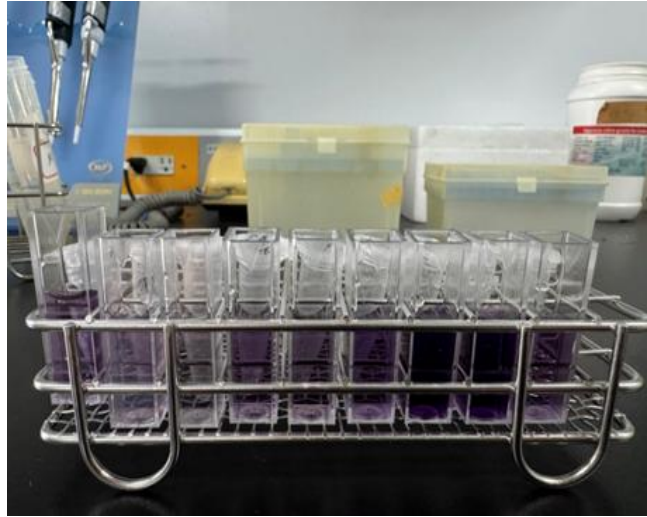


圖 3-7 BCA 工作液加入蛋白質樣本後靜置情況  
(照片來源：由作者親自拍攝)

#### 四、Arduino Uno 黏滯性測量系統

(一) 硬體：Arduino Uno 單板微控制器、雷射光發射器 x2、光敏電阻 x2、LCD 數字顯示組、麵包板、蜂鳴器、100 mL 量筒、彈珠。裝置如下圖所示：

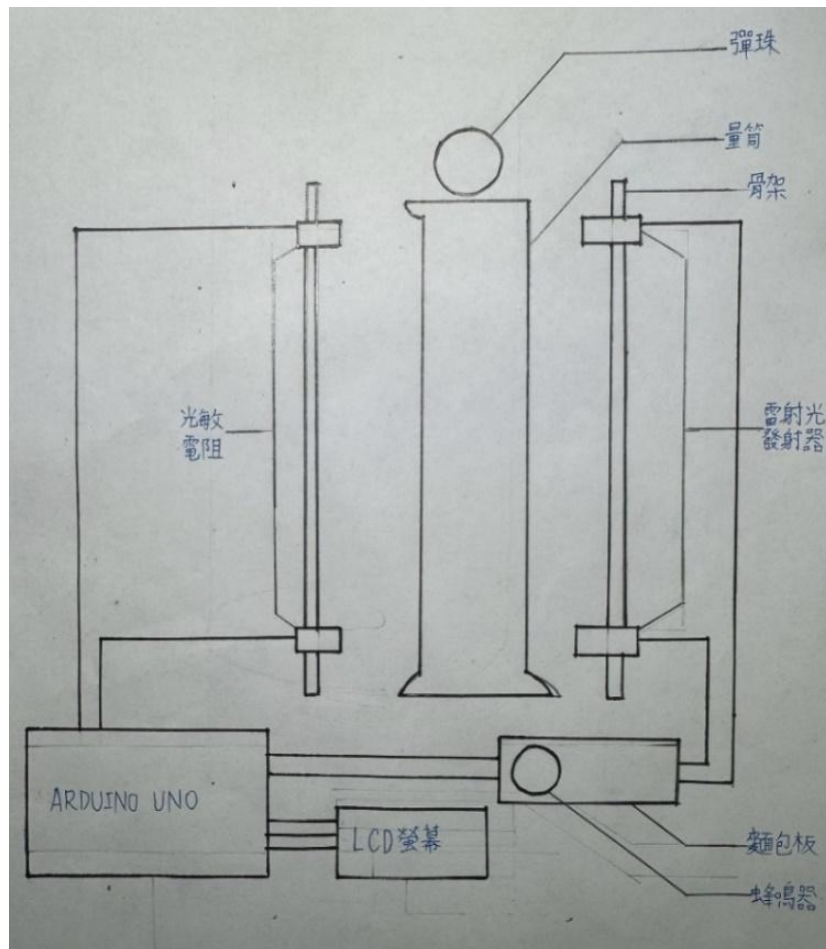


圖 3-8 Arduino 黏滯性測量系統配置 (照片來源：由作者親自繪製與拍攝)

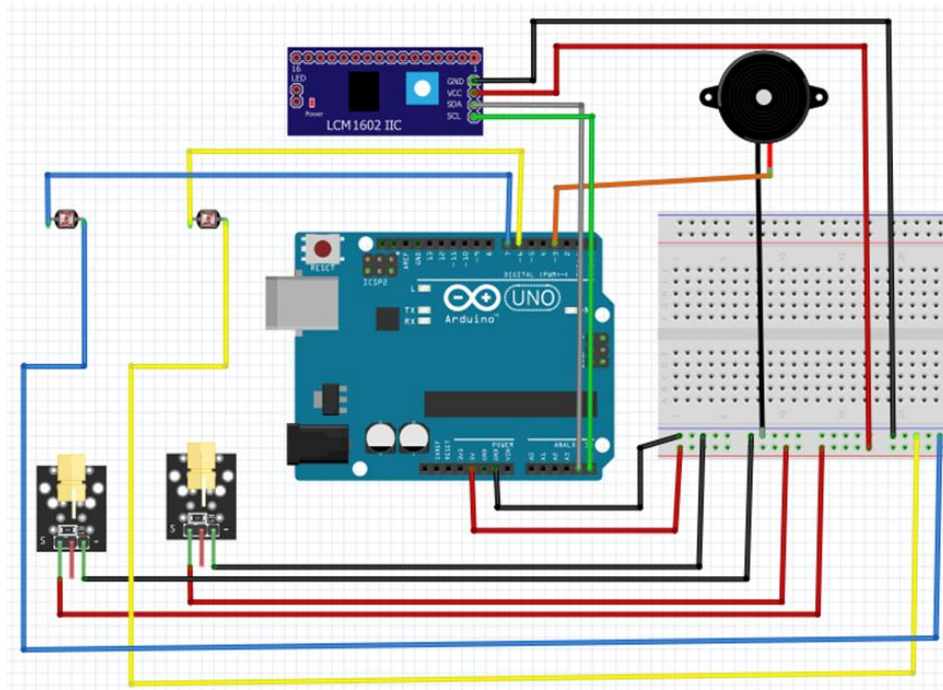


圖 3-9 Arduino 黏滯性測量系統電路圖 (圖片來源：由作者親自繪製)

(二) 操作方式：

- 1.將 50 mL 蛋白質萃取液分別與 50 mL 酸、鹼、有機化合物水溶液等均勻混合。
- 2.將 100 mL 混合液倒入 100 mL 量筒中，放入 Arduino 黏滯性測量系統。
- 3.從液面高度釋放彈珠，測量彈珠落下到達量筒底部的秒數。
- 4.獲得秒數越高，則代表其黏滯性越強。

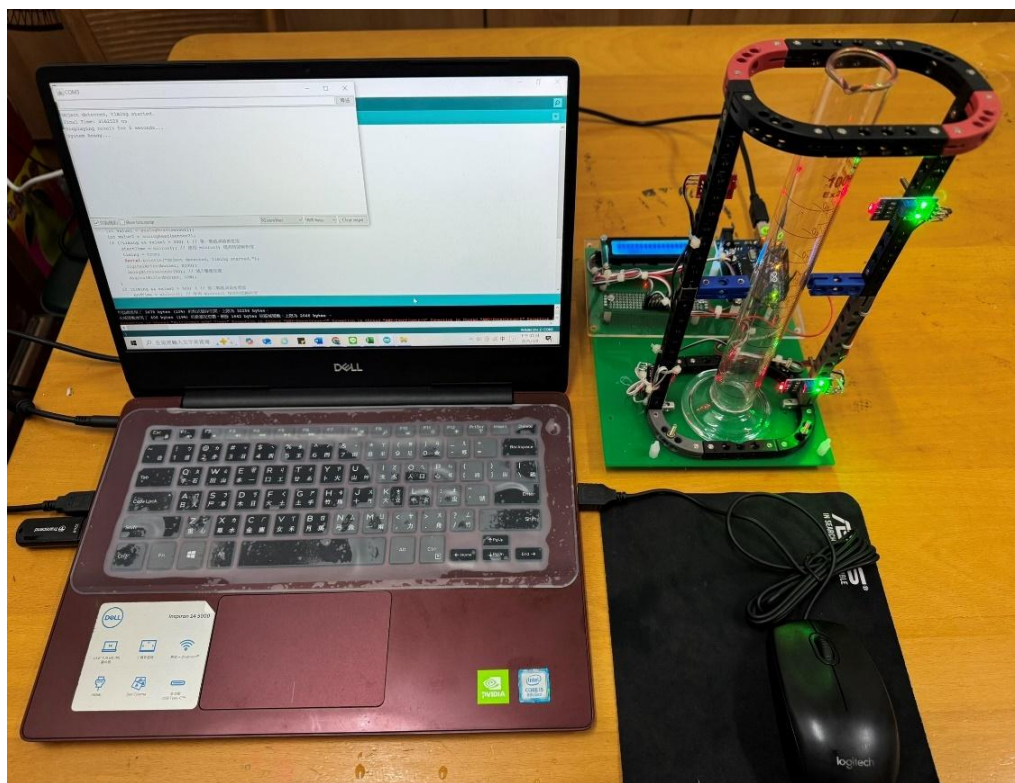


圖 3-10 Arduino 黏滯性測量系統實物圖 (照片來源：由作者親自拍攝)



## 五、附著力測試儀(百格刀組/Cross-Hatch Cutter Kit)

### (一) 準備蛋白質塗層

- 1.將 1 mL 蛋白質萃取液與 1 mL 藥劑(酸、鹼、有機化合物水溶液等)均勻混合。
- 2.以滴管吸取約 0.5 mL，滴加在塑膠板表面，靜置 24~48 小時。
- 3.確認表面完全乾燥，以確保測試準確性。

### (二) 使用百格刀刻劃

- 1.將百格刀放置在塗層表面，保持垂直角度。
- 2.刻出 11+2 條平行刻痕(間距規格為 1mm)。
- 3.旋轉 90°，再刻劃一次，形成類似棋盤格的網格狀構造。
- 4.確保刀片能刻穿塗層，但不破壞塑膠基材。

### (三) 膠帶附著測試

- 1.取所附 3M 膠帶，貼在百格刻痕區域上。
- 2.輕壓膠帶，確保與刻痕區域密合。
- 3.迅速拉起膠帶(角度約為 60°-90°)後，再用放大鏡觀察塗層剝落情況。

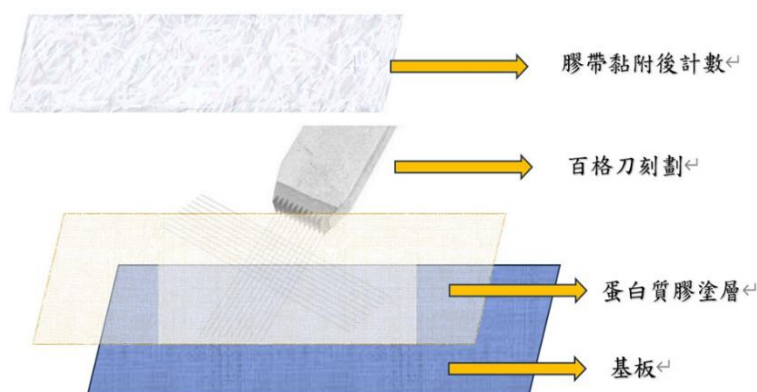


圖 3-11 百格刀操作示意圖

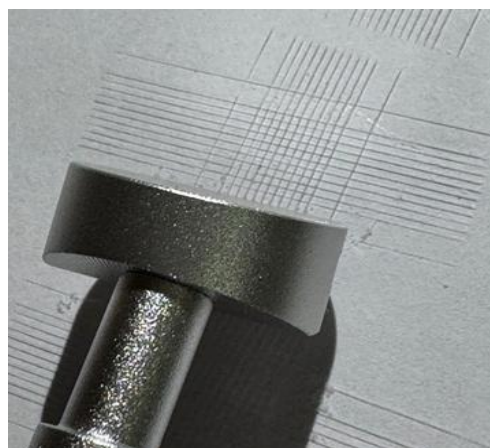


圖 3-12 百格刀於塑膠基板上刻畫

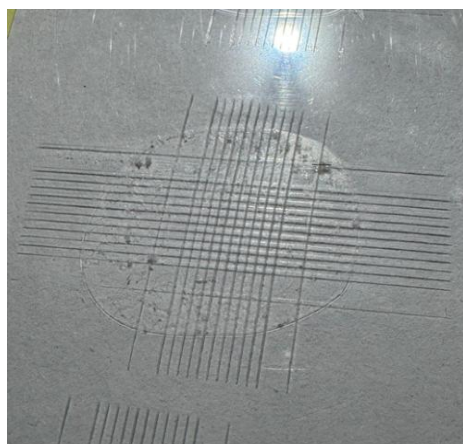


圖 3-13 於塑膠基板上刻畫後樣態

附著力測試標準			
ISO 等級	ASTM 等級	測試結果	脫落表現 (以 6*6 切割為例)
0	5B	切口的邊緣完全光滑，格子邊緣沒有任何剝落	
1	4B	切口的相交處有小片剝落，劃格區內實際破損不超過5%	
2	3B	切口的邊緣或相交處有被剝落，其面積大於5%但不到15%	
3	2B	沿切口邊緣有部分剝落或整大片剝落，或部分格子被整片剝落，被剝落的面積超過15%，但不到35%	
4	1B	切口邊緣大片剝落/或者一些方格部分或者全部剝落，其面積大於劃格曲的35%但不超過65%	
5	0B	超過上一等級大於65%	

圖 3-14 測試標準(採 ASTM 等級)

(圖 3-11~13 圖片來源皆由作者親自繪製與拍攝，圖 3-14 照片來源來自網路，後附)

## 六、褐變反應 (Browning Reaction)

### (一)褐變反應原理

- 1.是食品化學中常見的一種變化，會讓食物顏色變深，呈現黃褐色或深褐色。可以分成以下兩類：酵素性褐變 (Enzymatic Browning) 以及非酵素性褐變 (Non-Enzymatic Browning)。其中非酵素性褐變最常見的就是梅納反應與焦糖化反應。
- 2.梅納反應 (Maillard Reaction)：是蛋白質中的胺基 ( $-\text{NH}_2$ ) 與還原糖中的醛基或酮基 (例如葡萄糖) 在加熱下產生的一連串化學反應，會產生香味、色澤與褐色色素 (melanoidin)。例如烤麵包、煎牛排或烘焙食品的表面變色。
- 3.我們將測試在相對低溫的情況下 ( $30^\circ\text{C}$ 、 $60^\circ\text{C}$ 、 $90^\circ\text{C}$ )，利用分光光度計測定 420 nm 的吸光值，看是否可能有褐變反應的發生。

### (二)操作方式

#### 1.準備樣品組

- (1)取 1.5 mL 蛋白質萃取液稀釋後濃度為  $1000\ \mu\text{g/mL}$ ，和 1.5 mL 之  $1000\ \mu\text{g/mL}$  (約  $5.5 \times 10^{-3}\text{ M}$ ) 葡萄糖水溶液混合。
- (2)將上述混合液置入試管中備用。

#### 2.加熱處理

- (1)置入預熱 ( $30^\circ\text{C}$ 、 $60^\circ\text{C}$ 、 $90^\circ\text{C}$ ) 的恆溫水浴槽中加熱 30 分鐘。
- (2)觀察顏色是否改變 (是否逐漸變為黃褐色)。

#### 3.利用分光光度計測量 OD 420

- (1)冷卻後，將樣本從試管轉移至 cuvette 比色管中。
- (2)置入分光光度計，測量 420nm 吸光度。

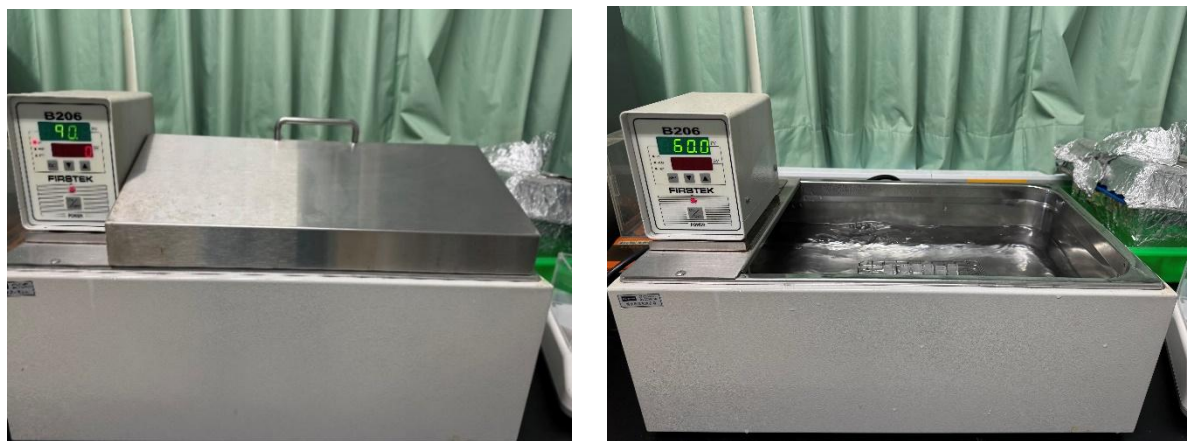


圖 3-15 恆溫水浴槽 (照片來源：由作者親自拍攝)

## 七、溶液配置：

- 1.萃取用醋酸依照莫耳濃度公式  $M = \text{溶質(莫耳數)} / \text{溶液(公升)}$ ，計算後秤取溶質，加入定量水配製成 0.15M 濃度水溶液。
- 2.其他溶液：採用質量濃度 W/V (%) 為計算單位配製。



## 肆、研究結果

### 一、實驗 01：利用 BCA 試劑及分光光度計初步測量樣品中的蛋白質含量

(一)實驗目的：測量虱目魚魚鱗、虱目魚魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂奶粉、脫脂奶粉等六種生活中常見樣本，經 0.15 M 醋酸萃取 48 小時後之蛋白質含量( $\mu\text{g/mL}$ )。

(二)操作過程：

- 1.依照前述方法萃取上述六種蛋白質樣本備用。
- 2.使用 BSA 2 mg/mL 蛋白質標準液，做系列稀釋(濃度如下表 4-1 所示)後再加入 BCA 工作液，靜置 30 分鐘。
- 3.後依序將蛋白質樣本加入 BCA 工作液，同樣靜置 30 分鐘。
- 4.將標準液放置於分光光度計內，測量 562 nm 吸光值(OD 562)，利用 EXCEL 繪製標準曲線，再利用標準曲線計算蛋白質樣品濃度。

(三)實驗結果：

表 4-1 經醋酸萃取 48 小時後估算之蛋白質濃度 (表件來源：由作者親自編繪)

標準液( $\mu\text{g/mL}$ )	OD 562nm	蛋白質樣本	OD 562nm	估算濃度( $\mu\text{g/mL}$ )
0	0	虱目魚魚鱗	1.177	1069.00
25	0.03	虱目魚魚皮	1.481	1345.36
50	0.05	生豬皮	1.882	1709.91
100	0.108	雞蛋蛋白	4.960*	4508.09*
200	0.216	全脂奶粉	2.263*	2056.27*
400	0.423	脫脂奶粉	2.242*	2037.18*

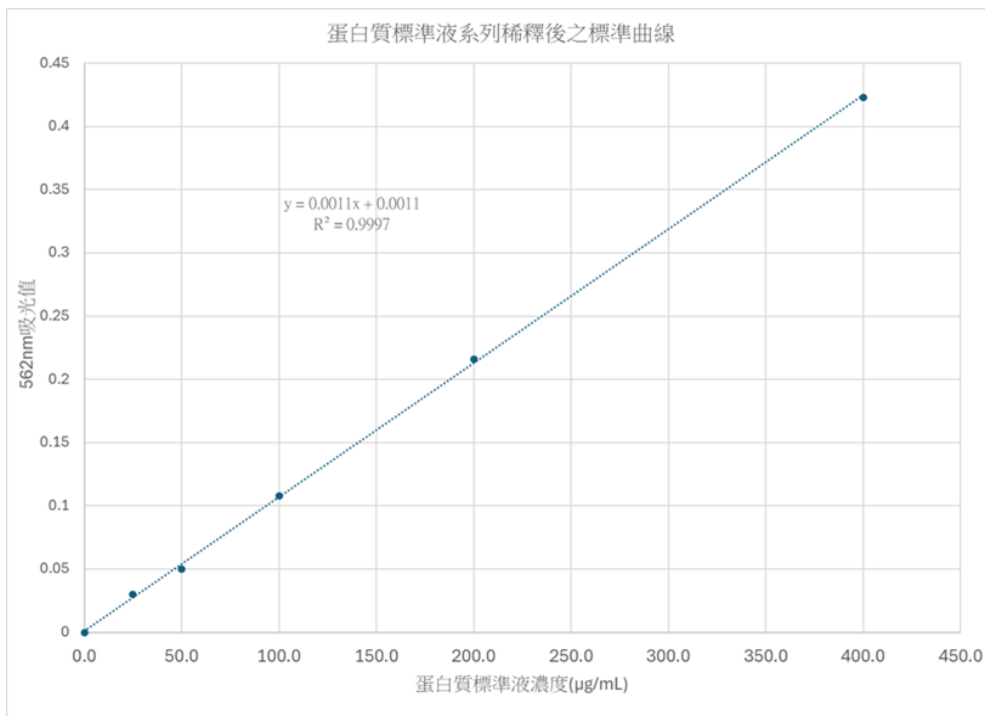


圖 4-1 蛋白質標準液系列稀釋後之標準曲線一 (圖片來源：由作者親自繪製)

#### (四)實驗結果分析：

- 1.經過分光光度計檢測，將蛋白質樣本以 0.15M 醋酸浸泡(萃取)，並放置於 4℃ 冰箱 48 小時後，確實可能萃取出蛋白質。
- 2.本實驗中，標準液系列稀釋之最高值為 400  $\mu\text{g/mL}$ ，於 562nm 的吸光值為 0.423。顯與蛋白質萃取液最低吸光值 1.177 有落差，故後續將提高標準液的蛋白質濃度。
- 3.超過 2000  $\mu\text{g/mL}$  樣本(如表 4-1 中\*部分)將進行稀釋後再行測量，以利準確比對。

## 二、實驗 02：不同孵育(incubate)時間下萃取出的蛋白質含量

(一)實驗目的：測量虱目魚魚鱗、虱目魚魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂奶粉、脫脂奶粉等六種樣本經 0.15M 醋酸萃取 24、48、72、96 小時後之蛋白質含量( $\mu\text{g/mL}$ )。

#### (二)操作過程：

- 1.依照前述方法萃取上述六種蛋白質樣本備用。
- 2.使用 BSA 2mg/mL 蛋白質標準液，做系列稀釋(濃度如下表 4-2-1 所示)後再加入 BCA 工作液，靜置 30 分鐘。
- 3.依序將蛋白質樣本加入 BCA 工作液，執行上述操作。
- 4.將標準液放置於分光光度計內，測量 562 nm 吸光值(OD 562)，利用 EXCEL 繪製標準曲線，再利用標準曲線計算蛋白質樣本濃度。

#### (三)實驗結果：

表 4-2-1 蛋白質標準液系列稀釋後之吸光值 (表件來源：由作者親自編繪)

蛋白質標準液( $\mu\text{g/mL}$ )	562nm 吸光值	蛋白質標準液( $\mu\text{g/mL}$ )	562nm 吸光值
0	0	400	0.482
100	0.112	1000	0.997
200	0.231	2000	1.895

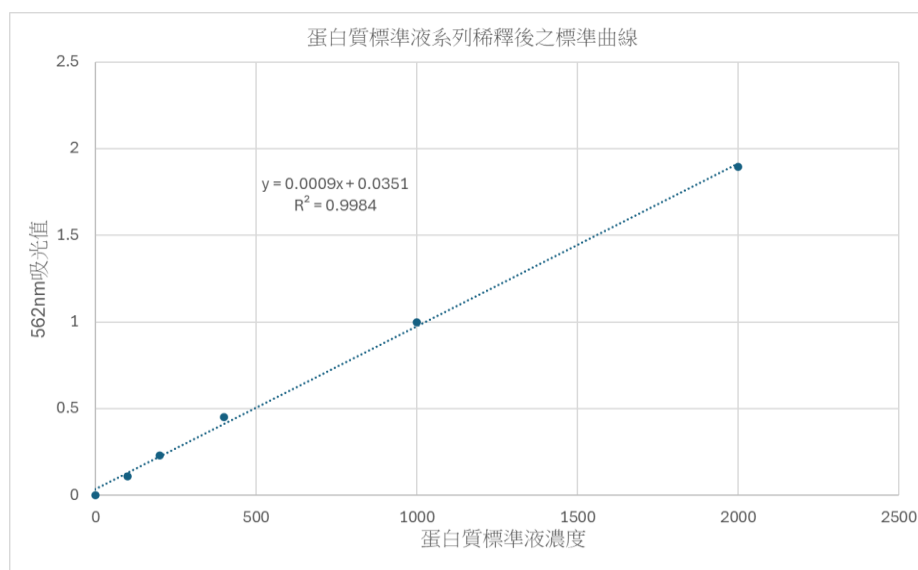


圖 4-2-1 蛋白質標準液系列稀釋後之標準曲線二 (圖片來源：由作者親自繪製)

表 4-2-2 經醋酸萃取 24 小時、48 小時、72 小時、96 小時後估算的蛋白質濃度

虱目魚鱗蛋白質萃取液							
萃取 24 小時		萃取 48 小時		萃取 72 小時		萃取 96 小時	
OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL
0.793	842.11	1.018	1092.11	1.474	1598.78	0.720	761.00
虱目魚魚皮蛋白質萃取液							
萃取 24 小時		萃取 48 小時		萃取 72 小時		萃取 96 小時	
OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL
0.854	909.89	1.003	1075.44	1.459	1582.11	1.173	1264.33
生豬皮蛋白質萃取液							
萃取 24 小時		萃取 48 小時		萃取 72 小時		萃取 96 小時	
OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL
1.011	1084.33	1.211	1306.56	1.656	1801.00	0.955	1022.11
雞蛋蛋白蛋白質萃取液							
萃取 24 小時		萃取 48 小時		萃取 72 小時		萃取 96 小時	
OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL
3.653*	4019.89*	4.507*	4968.78*	4.910*	5416.56*	1.583	1719.89
全脂奶粉蛋白質萃取液							
萃取 24 小時		萃取 48 小時		萃取 72 小時		萃取 96 小時	
OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL
1.108	1192.11	1.577	1713.22	2.014*	2198.78*	0.998	1069.89
脫脂奶粉蛋白質萃取液							
萃取 24 小時		萃取 48 小時		萃取 72 小時		萃取 96 小時	
OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL	OD 562nm	$\mu$ g/mL
0.812	863.22	1.442	1563.22	1.967*	2146.56*	0.857	913.22

(表件來源：由作者親自繪製)

\*代表測得原始樣本的濃度 $\geq 2000 \mu$  g/mL，所以將原始樣本稀釋 5 倍後，再置入分光光度計測量，表 4-2-2 所顯示的數據，再恢復為原本濃度後的估算值。

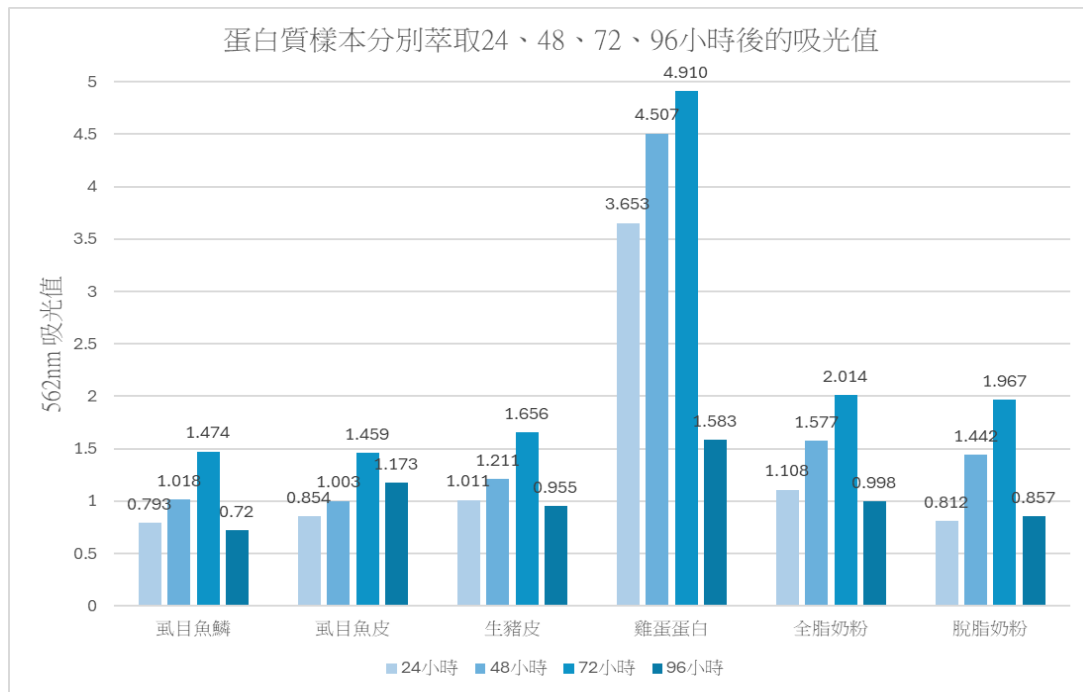


圖 4-2-2 蛋白質樣本分別萃取 24、48、72、96 小時之吸光值 (圖片來源：由作者親自繪製)

#### (四)實驗結果分析：

- 1.經過分光光度計檢測，將蛋白質樣本以 0.15M 醋酸萃取，並放置於 4°C 冰箱 24 小時、48 小時、72 小時、96 小時後，皆可能有效萃取出蛋白質。
- 2.我們發現萃取時間若達到 72 小時，各樣本萃取量皆達到最高。
- 3.雞蛋蛋白、全脂奶粉、脫脂奶粉計算值皆超過 2000  $\mu\text{g/mL}$ ，為稀釋後再行測量。
- 4.比對實驗 01、實驗 02 結果，我們決定後續實驗將以 72 小時作為最佳萃取時間。
- 5.經查詢，上述樣本所含蛋白質成分，其中魚目魚鱗、魚皮、生豬皮之主要成分為膠原蛋白、雞蛋蛋白之主要成分是卵白蛋白(ovalbumin)、而奶粉主要是乳清蛋白(whey protein)與酪蛋白(casein)，且各樣本還含有其他蛋白質成分，分子量需要更進一步測量才能估算(例如質譜儀 Mass Spectrometry, MS 或聚丙烯醯胺凝膠電泳 SDS-PAGE)。經過評估後，為確保實驗條件一致，後續實驗中各類蛋白質萃取液將預先稀釋至蛋白質濃度約為 1000  $\mu\text{g/mL}$ (=1 mg/mL)，作為標準操作濃度進行比較。

#### 實驗 03：分別添加不同量的弱酸、強酸進行蛋白質黏滯性測試

(一)實驗目的：將六種蛋白質萃取液稀釋為 1 mg/mL 標準操作濃度，分別與 1 mg/mL 醋酸、2 mg/mL 醋酸、1 mg/mL 鹽酸、2 mg/mL 鹽酸混合後，利用 Arduino 測量系統，測試其黏滯性變化情況。

#### (二)操作過程：

- 1.將六種蛋白質經醋酸萃取 72 小時後，調整濃度為 1 mg/mL，體積 50 mL 備用。
- 2.分別加入 1 mg/mL 醋酸、2 mg/mL 醋酸、1 mg/mL 鹽酸、2 mg/mL 鹽酸與萃取液 50 mL 進行 1:1 均勻混合。
- 3.取上述混合液 100 mL 置入 Arduino 裝置量筒中。之後投入彈珠，蒐集秒數資料。



(三)實驗結果：

表 4-3 添加不同量的弱酸、強酸進行蛋白質黏滯性測試結果 (表件來源：由作者親自編繪)

虱目魚鱗蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
0.347	0.342	0.316	0.335	0.324	0.341	0.337	0.334
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
0.296	0.312	0.319	0.309	0.306	0.306	0.306	0.306
虱目魚皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
0.314	0.327	0.340	0.327	0.327	0.315	0.322	0.322
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
0.311	0.318	0.331	0.320	0.244	0.348	0.331	0.308
生豬皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
0.378	0.370	0.380	0.376	0.358	0.350	0.359	0.356
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
0.318	0.309	0.307	0.311	0.304	0.291	0.295	0.297
雞蛋蛋白蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
0.445	0.444	0.449	0.446	0.411	0.413	0.415	0.413
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
0.372	0.383	0.374	0.376	0.371	0.385	0.379	0.378
全脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
0.389	0.388	0.376	0.384	0.391	0.373	0.392	0.385
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
0.362	0.373	0.372	0.369	0.360	0.360	0.369	0.363
脫脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
0.346	0.356	0.360	0.354	0.352	0.342	0.349	0.348
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
0.338	0.332	0.321	0.330	0.333	0.327	0.336	0.331

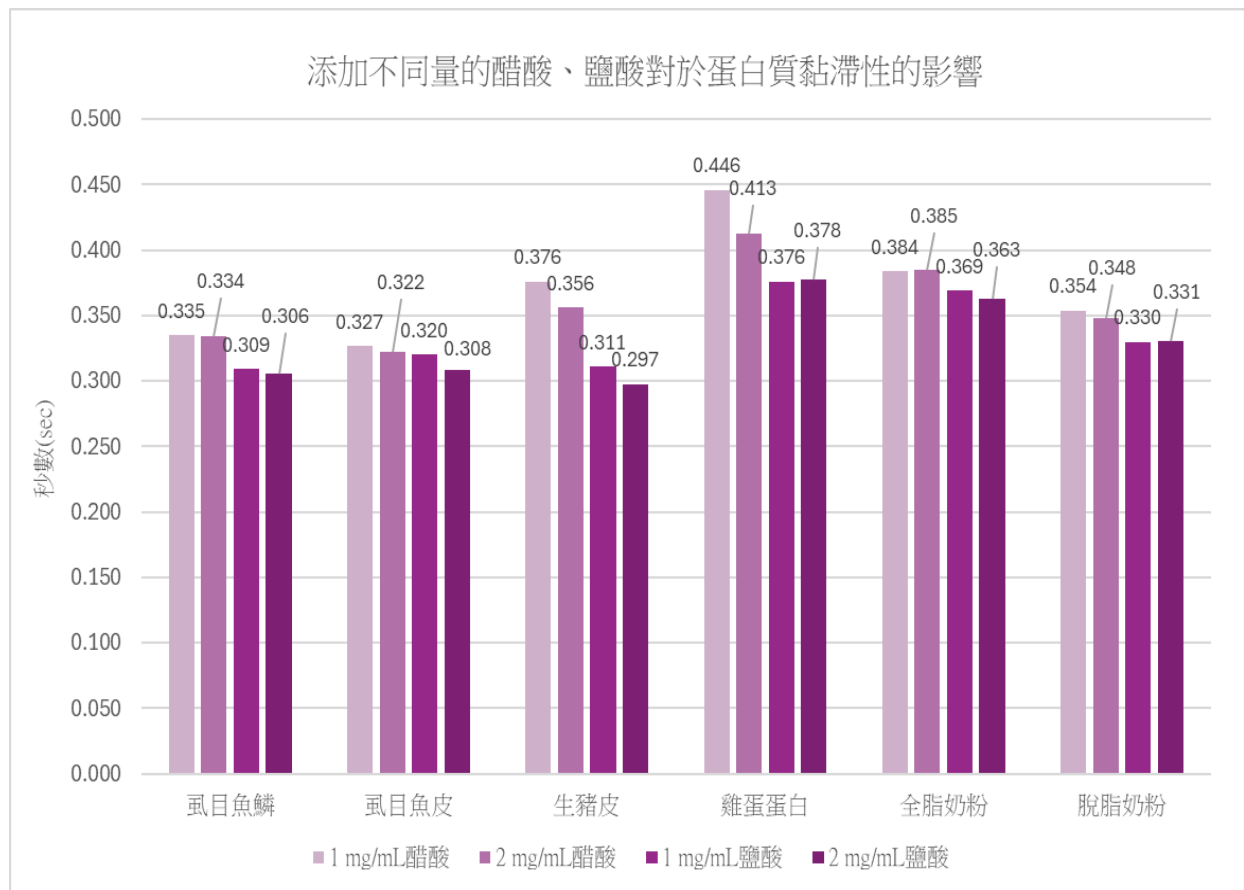


圖 4-3 添加不同量的弱酸、強酸後的蛋白質黏滯性 (圖片來源：由作者親自繪製)

### (三)實驗結果分析：

- 1.從圖 4-3 中可以發現，秒數主要依照 1 mg/mL 醋酸、2 mg/mL 醋酸、1 mg/mL 鹽酸、2 mg/mL 鹽酸依序下降。
- 2.其中秒數從最高依序是雞蛋蛋白 > 全脂奶粉 > 脫脂奶粉 > 生豬皮 > 虱目魚鱗 > 虱目魚皮，亦即黏滯性依上述順序逐漸減弱。
- 3.若考慮樣本內蛋白質的主要成分，則可能初步顯示雞蛋蛋白內的卵白蛋白 (ovalbumin) 在與 1 mg/mL 醋酸、2 mg/mL 醋酸進行 1:1 混合後，最能提高黏滯性。而乳清蛋白(whey protein)與酪蛋白(casein)則為其次，虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮內的膠原蛋白則較弱。

### 實驗 04：分別添加不同量的弱鹼、強鹼進行蛋白質黏滯性測試

(一)實驗目的：將六種蛋白質萃取液稀釋為 1 mg/mL 標準操作濃度，分別與 1 mg/mL 碳酸氫鈉、2 mg/mL 碳酸氫鈉、1 mg/mL 氫氧化鈉、2 mg/mL 氫氧化鈉混合後，利用 Arduino 測量系統，測試其黏滯性變化情況。

### (二)操作過程：

- 1.將六種蛋白質經醋酸萃取 72 小時後，調整濃度為 1 mg/mL，體積 50 mL 備用。
- 2.分別加入 1 mg/mL 碳酸氫鈉、2 mg/mL 碳酸氫鈉、1 mg/mL 氫氧化鈉、2 mg/mL 氫氧化鈉 50 mL 與蛋白質萃取液進行 1:1 均勻混合。
- 3.取上述混合液 100 mL 置入 Arduino 裝置量筒中。之後投入彈珠，蒐集秒數資料。

(三)實驗結果：

表 4-4 添加不同量的弱酸、強酸進行蛋白質黏滯性測試結果 (表件來源：由作者親自編繪)

虱目魚鱗蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
0.312	0.287	0.298	0.299	0.314	0.309	0.305	0.309
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
0.306	0.293	0.292	0.297	0.288	0.295	0.299	0.294
虱目魚皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
0.318	0.308	0.323	0.316	0.323	0.318	0.315	0.319
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
0.313	0.301	0.302	0.305	0.299	0.311	0.311	0.307
生豬皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
0.367	0.362	0.355	0.361	0.349	0.340	0.348	0.346
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
0.309	0.301	0.303	0.304	0.289	0.296	0.291	0.292
雞蛋蛋白蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
0.468	0.451	0.456	0.458	0.449	0.438	0.447	0.445
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
0.438	0.434	0.428	0.433	0.438	0.429	0.427	0.431
全脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
0.384	0.374	0.375	0.378	0.381	0.389	0.394	0.388
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
0.380	0.357	0.362	0.366	0.357	0.367	0.357	0.360
脫脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
0.352	0.341	0.347	0.347	0.324	0.326	0.330	0.327
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
0.313	0.330	0.328	0.324	0.322	0.324	0.321	0.322

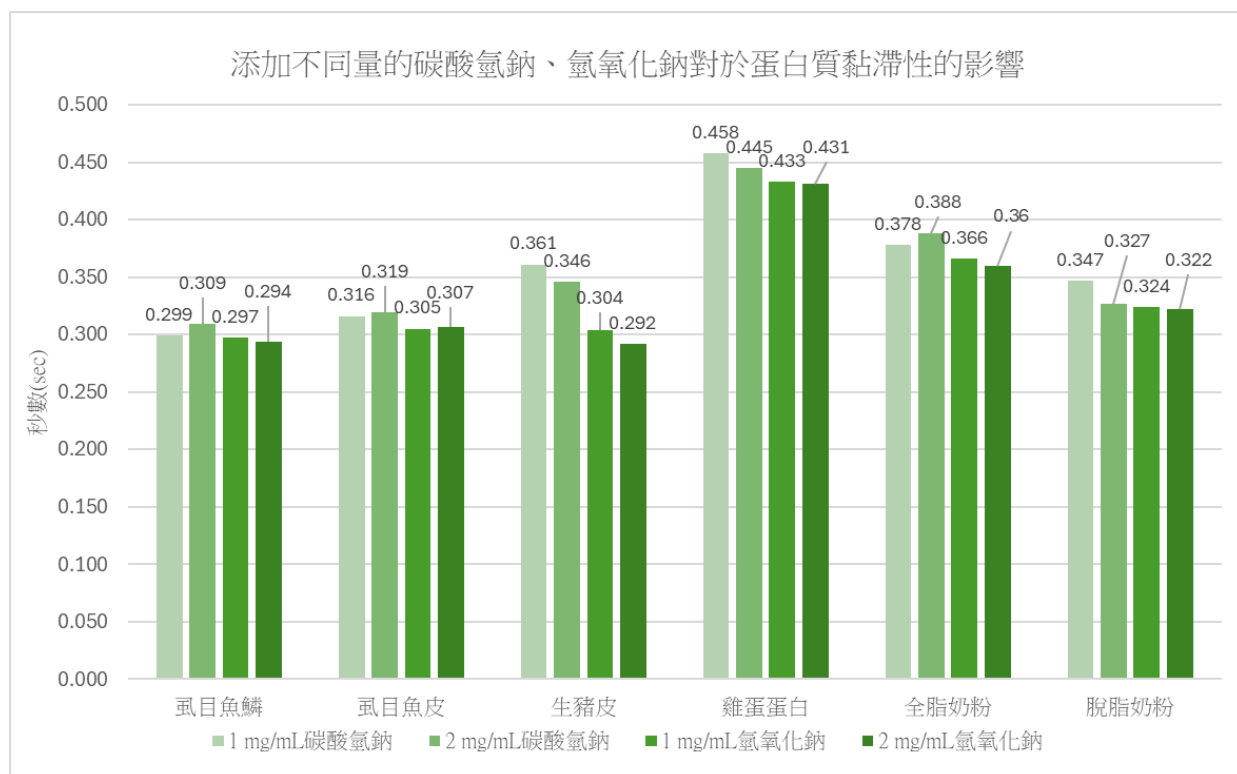


圖 4-4 添加不同量的弱鹼、強鹼之蛋白質黏滯性 (圖片來源：由作者親自繪製)

#### (四)實驗結果分析：

- 1.虱目魚皮、虱目魚鱗和生豬皮這三種以膠原蛋白為主要成分的樣本，在經過碳酸氫鈉（弱鹼）處理後，展現出較高的黏滯性；而在氫氧化鈉（強鹼）處理下，黏滯性則明顯下降。
- 2.對照圖 4-3 可發現，這三種膠原蛋白為主的樣本在鹼性環境下的黏滯性普遍下降，顯示其在酸性條件下的黏滯性可能較佳。
- 3.以卵白蛋白為主成分的雞蛋蛋白則呈現相反趨勢，在鹼性處理下黏滯性反而比酸性處理高，顯示蛋白質對酸鹼環境的反應差異。
- 4.兩種奶粉樣本在鹼性處理後的黏滯性略低於酸性處理，變化相對較小。
- 5.整體而言，六種樣本在弱鹼環境中的黏滯性皆優於強鹼條件，結果顯示可能強鹼對黏滯性有抑制效果。

#### 實驗 05：分別添加不同量的有機化合物水溶液進行蛋白質黏滯性測試

- (一) 實驗目的：將六種蛋白質萃取液稀釋為 1 mg/mL 標準操作濃度，分別與 1 mg/mL 葡萄糖、2 mg/mL 葡萄糖混合後，利用 Arduino 測量系統，測試其黏滯性變化情況。
- (二) 操作過程：
  - 1.萃取六種蛋白質 72 小時後備用，之後調整濃度為 1 mg/mL，取 50 mL。
  - 2.分別加入 1 mg/mL 葡萄糖、2 mg/mL 葡萄糖與蛋白質萃取液 1:1 均勻混合。
  - 3.取混合液 100 mL 置入 Arduino 裝置的量筒中，之後投入彈珠，蒐集秒數資料。



(三)實驗結果：

表 4-5 添加不同濃度的葡萄糖水溶液進行蛋白質黏滯性測試結果 (表件來源：由作者親自編繪)

虱目魚魚鱗蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
0.546	0.557	0.583	0.562	0.832	0.845	0.829	0.835
虱目魚魚皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
0.567	0.573	0.577	0.572	0.913	0.897	0.892	0.901
生豬皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
0.531	0.538	0.536	0.535	0.846	0.882	0.889	0.872
雞蛋蛋白蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
0.696	0.685	0.691	0.691	1.485	1.413	1.497	1.465
全脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
0.625	0.618	0.636	0.626	1.352	1.371	1.413	1.379
脫脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	1 mg/mL 葡萄糖			平均
0.667	0.697	0.687	0.684	1.295	1.285	1.282	1.287

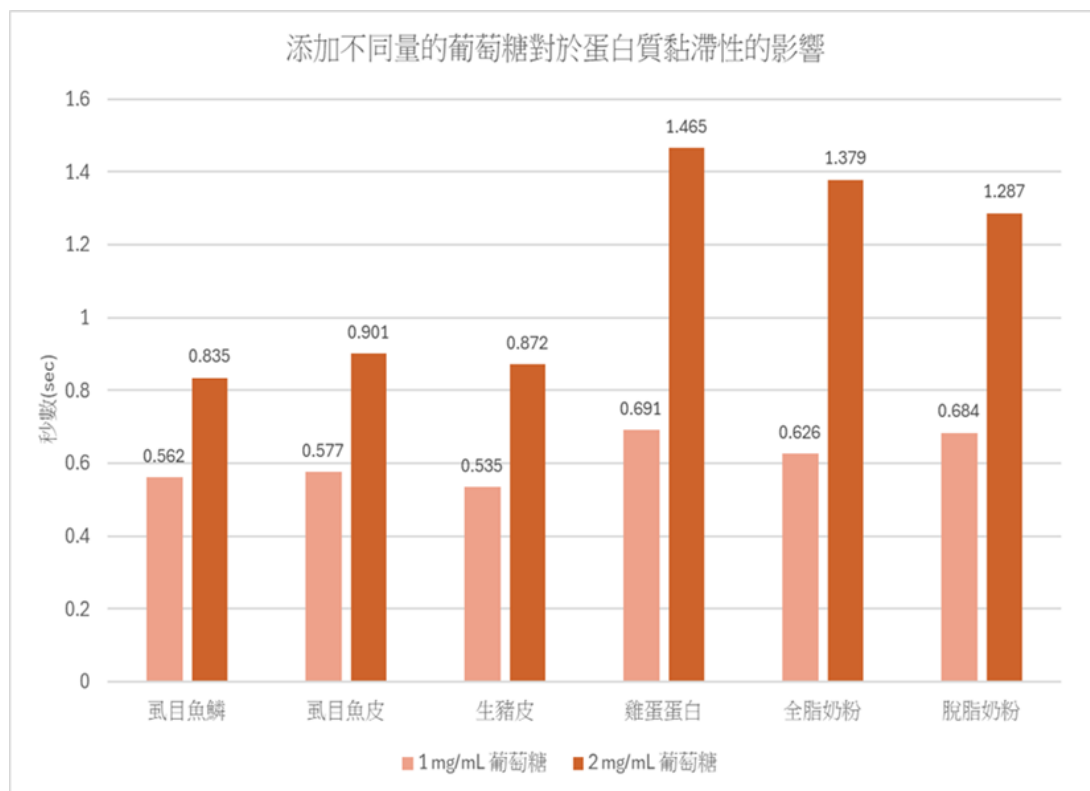


圖 4-5 添加不同量的有機化合物水溶液之蛋白質黏滯性 (圖片來源：由作者親自繪製)

#### (四)實驗結果分析：

- 1.全部六種樣本中加入 2 mg/mL 葡萄糖液測得黏滯性皆比 1 mg/mL 葡萄糖液更高。
- 2.根據圖 4-5 可以發現，黏滯性由高到低排列，依序為雞蛋蛋白>全脂奶粉>脫脂奶粉>虱目魚皮、虱目魚鱗、生豬皮三種。
- 3.若考慮樣本內蛋白質的主要成分，則初步顯示雞蛋蛋白內的卵白蛋白(ovalbumin)在 2 mg/mL 葡萄糖處理後，最能提高黏滯性。
- 4.而乳清蛋白(whey protein)與酪蛋白(casein)則為其次，虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮內的膠原蛋白黏滯性則較弱。

#### 實驗 06：分別添加不同量的弱酸、強酸進行蛋白質附著力測試

(一)實驗目的：將六種蛋白質萃取液稀釋為 1 mg/mL 標準操作濃度，分別與 1 mg/mL 醋酸、2 mg/mL 醋酸、1 mg/mL 鹽酸、2 mg/mL 鹽酸混合後，測試其附著力變化情況。

(二)操作過程：

- 1.將 BSA 蛋白質標準液稀釋至 1 mg/mL，作為後續實驗中的標準對照組。
- 2.萃取六種蛋白質 72 小時後備用，之後調整濃度為 1 mg/mL，取 1.5 mL。
- 3.將蛋白質萃取液分別與 1 mg/mL 醋酸、2 mg/mL 醋酸、1 mg/mL 鹽酸、2 mg/mL 鹽酸 1:1 均勻混合。
- 4.吸取混合後試液約 0.5 mL，滴加於塑膠板表面，靜置 24~48 小時使其完全乾燥。
- 5.乾燥後以百格刀測試，重複 3 次，並判斷其附著力標準等級(ASTM 等級)。

(三)實驗結果：

表 4-6 添加不同濃度弱酸、強酸進行蛋白質附著力測試結果 (表件來源：由作者親自編繪)

BSA 蛋白質標準液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
4B	3B	3B	3.33 B	3B	3B	3B	3.00 B
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
2B	3B	3B	2.67 B	2B	2B	3B	2.33 B
虱目魚鱗蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
4B	3B	3B	3.33 B	2B	3B	3B	2.67 B
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
3B	3B	2B	2.67 B	2B	2B	2B	2.00 B
虱目魚皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
4B	4B	3B	3.67 B	3B	3B	3B	3.00 B
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
3B	2B	3B	2.67 B	2B	1B	2B	1.67 B

生豬皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
4B	5B	4B	4.33 B	4B	4B	4B	4.00 B
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
3B	4B	4B	3.67 B	3B	3B	3B	3.00 B
雞蛋蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
5B	4B	4B	4.33 B	4B	4B	3B	3.67 B
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
3B	4B	3B	3.33 B	3B	3B	3B	3.00 B
全脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
3B	4B	3B	3.33 B	2B	3B	3B	2.67 B
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
3B	3B	4B	3.33 B	2B	3B	2B	2.33 B
脫脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 醋酸			平均	2 mg/mL 醋酸			平均
3B	3B	4B	3.33 B	2B	3B	3B	2.67 B
1 mg/mL 鹽酸			平均	2 mg/mL 鹽酸			平均
3B	3B	3B	3.00 B	2B	2B	3B	2.33 B

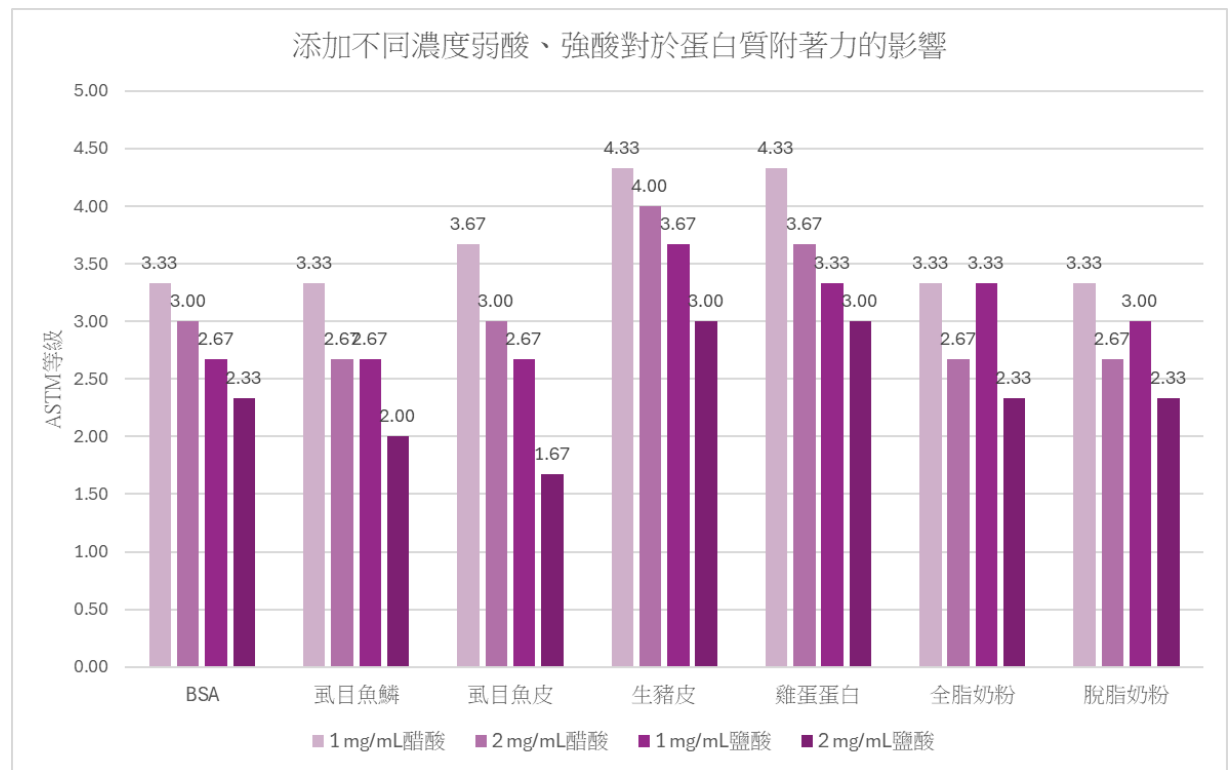


圖 4-6 添加不同量的弱酸、強酸之蛋白質附著力 (圖片來源：由作者親自繪製)

#### (四)實驗結果分析：

- 1.除了奶粉之外，四種樣本都隨著弱酸濃度提高、加入強酸等情況下，有附著力逐漸減弱的現象。
- 2.所有樣本在 1 mg/mL 醋酸的條件下都呈現最高 ASTM 等級，亦即在低濃度弱酸處理下，附著力最強。
- 3.所有樣本在 2 mg/mL 鹽酸處理下，ASTM 等級都顯著下降，亦即在強酸處理的情況下，附著力最差。
- 4.生豬皮、雞蛋蛋白這兩種樣本在低濃度弱酸下的附著力明顯優於其他樣本。

#### 實驗 07：分別添加不同量的弱鹼、強鹼進行蛋白質附著力測試

(一)實驗目的：將六種蛋白質萃取液稀釋為 1 mg/mL 標準操作濃度，分別與 1 mg/mL 碳酸氫鈉、2 mg/mL 碳酸氫鈉、1 mg/mL 氫氧化鈉、2 mg/mL 氫氧化鈉混合後，測試其附著力變化情況。

#### (二)操作過程：

- 1.將 BSA 蛋白質標準液稀釋至 1 mg/mL，作為後續實驗中的標準對照組。
- 2.萃取六種蛋白質 72 小時後備用，之後調整濃度為 1 mg/mL，取 1.5 mL。
- 3.將蛋白質萃取液分別與 1 mg/mL、2 mg/mL 碳酸氫鈉、1 mg/mL、2 mg/mL 氫氧化鈉 1:1 均勻混合。
- 4.吸取混合後試液約 0.5 mL，滴加於塑膠板表面，靜置 24~48 小時使其完全乾燥。
- 5.乾燥後以百格刀測試，重複 3 次，並判斷其附著力標準等級(ASTM 等級)。

#### (三)實驗結果

表 4-7 添加不同量的弱鹼、強鹼進行蛋白質附著力測試結果 (表件來源：由作者親自編繪)

BSA 蛋白質標準液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
3B	3B	4B	3.33 B	3B	3B	3B	3.00 B
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
3B	2B	2B	2.33 B	2B	2B	2B	2.00 B
虱目魚鱗蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
3B	3B	2B	2.67 B	2B	3B	2B	2.33 B
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
2B	1B	2B	1.67 B	1B	1B	2B	1.33 B
虱目魚皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
3B	3B	3B	3.00 B	3B	2B	3B	2.67 B
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
2B	2B	3B	2.33 B	2B	2B	2B	2.00 B



生豬皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
3B	3B	4B	3.33 B	3B	3B	3B	3.00 B
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
2B	2B	3B	2.33 B	2B	2B	2B	2.00 B
雞蛋蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
4B	4B	5B	4.33 B	4B	4B	3B	3.67 B
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
3B	4B	4B	3.67 B	3B	3B	3B	3.00 B
全脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
2B	3B	2B	2.33 B	2B	2B	2B	2.00 B
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
2B	1B	1B	1.33 B	1B	1B	1B	1.00 B
脫脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 碳酸氫鈉			平均	2 mg/mL 碳酸氫鈉			平均
2B	2B	2B	2.00 B	2B	1B	2B	1.67 B
1 mg/mL 氫氧化鈉			平均	2 mg/mL 氫氧化鈉			平均
1B	2B	1B	1.33 B	1B	1B	1B	1.00 B

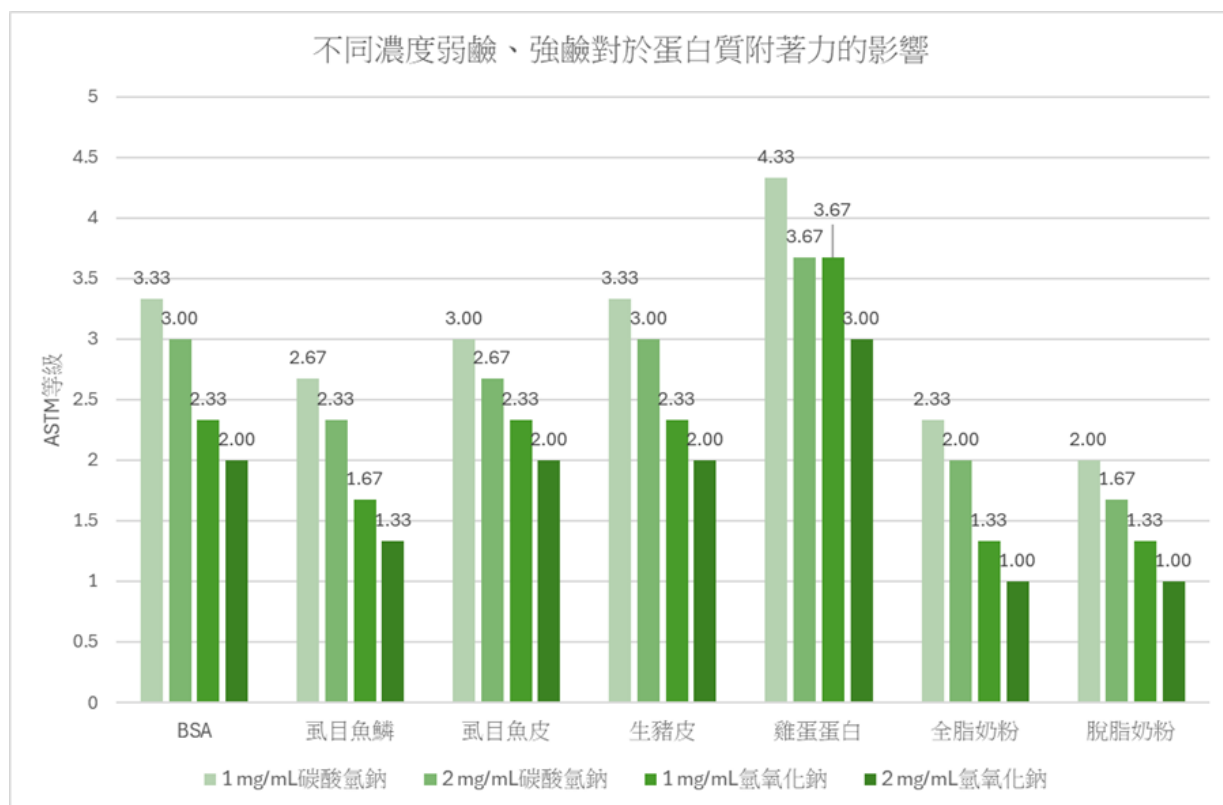


圖 4-7 添加不同量的弱鹼、強鹼之蛋白質附著力 (圖片來源：由作者親自繪製)

#### (四)實驗結果分析：

- 1.所有樣本在 2 mg/mL 氫氧化鈉（強鹼）下的 ASTM 等級明顯較低，附著力皆隨鹼濃度升高而下降。
- 2.在 1 mg/mL 碳酸氫鈉（弱鹼）條件下，樣本的附著力與 BSA 標準液互有高低，表示蛋白質在弱鹼性環境下較能提升附著力。
- 3.雞蛋蛋白無論是在弱鹼還是強鹼條件下，都能保持在 3.00~4.33 B 的高附著力。
- 4.全脂與脫脂奶粉在強鹼下附著力明顯下降，對比圖 4-6 酸性處理，顯示附著力在鹼性處理之下下降更多。

#### 實驗 08：分別添加不同量的葡萄糖溶液進行蛋白質附著力測試

(一)實驗目的：將六種蛋白質萃取液稀釋為 1 mg/mL 標準操作濃度，分別與 1 mg/mL 葡萄糖、2 mg/mL 葡萄糖混合後，測試其附著力變化情況。

#### (二)操作過程：

- 1.將 BSA 蛋白質標準液稀釋至 1 mg/mL，作為後續實驗中的標準對照組。
- 2.萃取六種蛋白質 72 小時後備用，之後調整濃度為 1 mg/mL，取 1.5 mL。
- 3.將蛋白質萃取液分別與 1 mg/mL 葡萄糖、2 mg/mL 葡萄糖水溶液，1:1 均勻混合。
- 4.吸取混合後試液約 0.5 mL，滴加於塑膠板表面，靜置 24~48 小時使其完全乾燥。
- 5.乾燥後以百格刀測試，重複 3 次，並判斷其附著力標準等級(ASTM 等級)。

#### (三)實驗結果

表 4-8 添加不同量的有機化合物水溶液之附著力測試結果（圖片來源：由作者親自編繪）

BSA 蛋白質標準液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
4B	4B	4B	4.00 B	4B	4B	5B	4.33 B
虱目魚魚鱗蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
2B	2B	3B	2.33 B	3B	3B	3B	3.00 B
虱目魚魚皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
3B	2B	3B	2.67 B	3B	3B	4B	3.33 B
生豬皮蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
2B	3B	2B	2.33 B	3B	4B	3B	3.33 B
雞蛋蛋白蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
4B	4B	4B	4.00 B	5B	4B	4B	4.33 B

全脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
3B	4B	4B	3.67 B	4B	4B	4B	4.00 B
脫脂奶粉蛋白質萃取液							
1 mg/mL 葡萄糖			平均	2 mg/mL 葡萄糖			平均
3B	3B	4B	3.33 B	4B	4B	4B	4.00 B

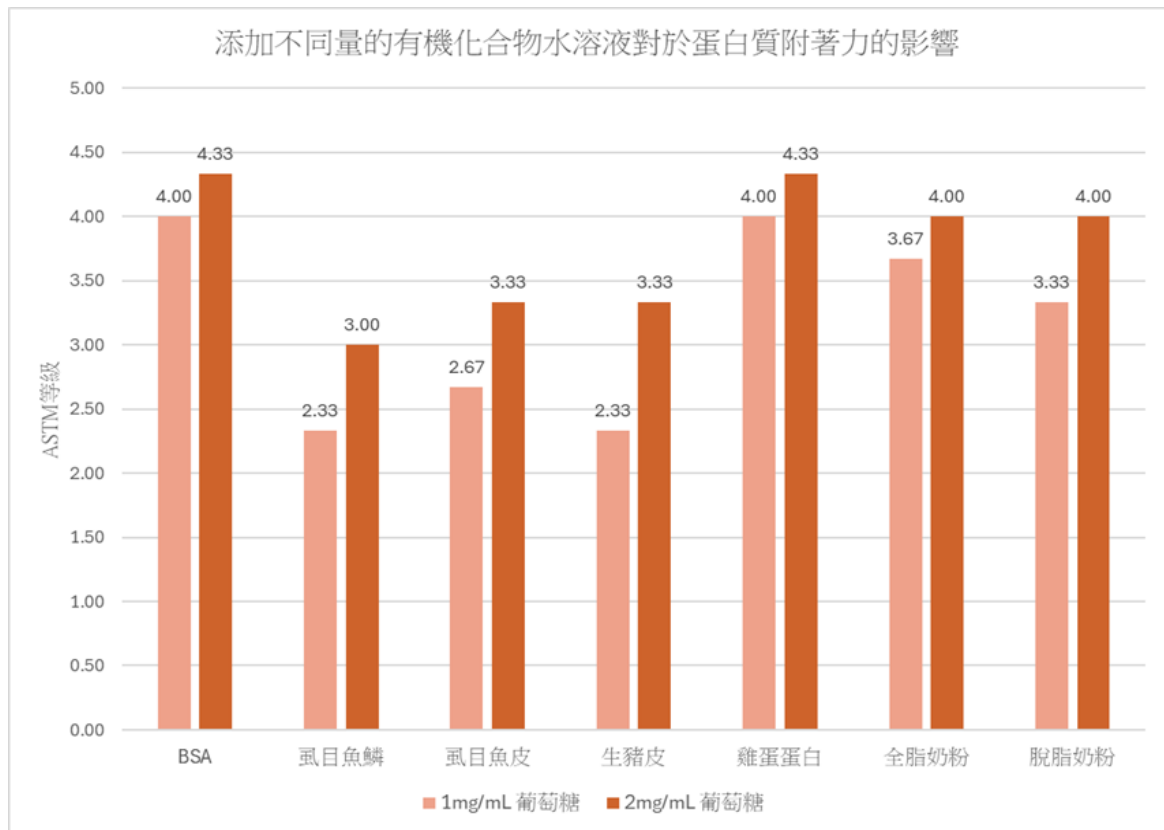


圖 4-8 添加不同量的有機化合物水溶液之蛋白質附著力 (圖片來源：由作者親自繪製)

#### (四)實驗結果分析：

- 1.六種樣本在 2 mg/mL 葡萄糖處理下附著力均較 1 mg/mL 提升，沒有下降現象。
- 2.從圖 4-8 也發現，雞蛋蛋白附著力與 BSA 相近，在六種樣本中，表現最佳。
- 3.奶粉類樣本相較於虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮三種有較高的附著力表現，可能顯示葡萄糖遇到奶粉(乳清蛋白及酪蛋白為主)更能提升附著力。

#### 實驗 09：添加葡萄糖溶液後加熱進行褐變反應測試

(一)實驗目的：初步探討蛋白質加入葡萄糖經加熱後是否產生褐變反應

(二)操作過程：

- 1.將 BSA 蛋白質標準液稀釋至 1 mg/mL，作為後續實驗中的標準對照組。
- 2.萃取六種蛋白質 72 小時後備用，之後調整濃度為 1 mg/mL，取 1.5 mL。
- 3.將蛋白質萃取液分別與 1 mg/mL 葡萄糖 1:1 均勻混合。
- 4.加入置入預熱 30°C、60°C 和 90°C 之恆溫水浴槽中加熱 30 分鐘。

5.待冷卻之後，置入分光光度計測量 OD 420。

(三)實驗結果：

表 4-9 蛋白質經過不同溫度處理後的吸光值變化 (圖片來源：由作者親自繪製)

	BSA	虱目魚鱗	虱目魚皮	生豬皮	雞蛋白	全脂奶粉	脫脂奶粉
30°C	0.072	0.067	0.072	0.068	0.075	0.071	0.070
60°C	0.368	0.356	0.275	0.247	0.371	0.486	0.488
90°C	0.782	0.372	0.301	0.392	0.776	0.491	0.493

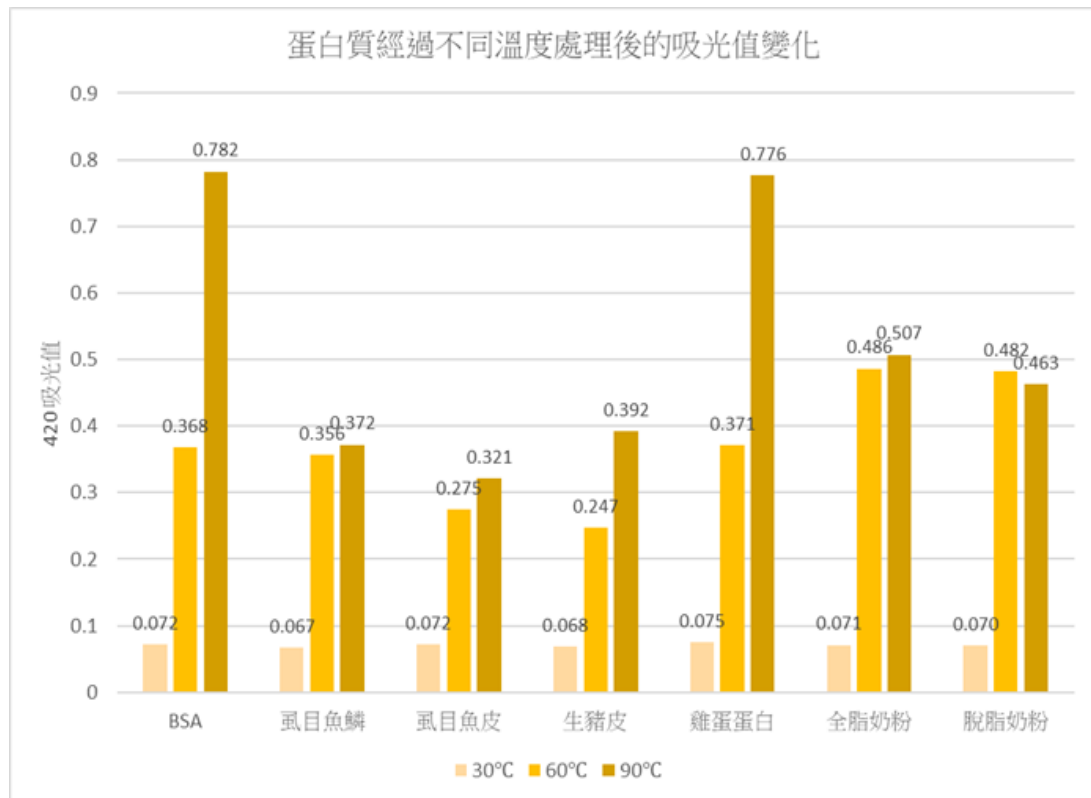


圖 4-9 蛋白質經過不同溫度處理後的吸光值變化 (圖片來源：由作者親自繪製)

(四)實驗結果分析：

- 1.隨著加熱溫度升高，我們測得六種樣本在 OD 420 吸光值都有增加，可能表示褐變反應的發生。
- 2.在 90°C 處理下，BSA 與雞蛋蛋白的 OD 420 吸光值分別達到 0.782 與 0.776，為所有樣品中最高，顯示其在高溫下與醣類的褐變反應最為明顯。
- 3.虱目魚鱗、虱目魚皮及生豬皮在 90°C 時的 OD 420 吸光值介於 0.321 至 0.392 之間，雖有上升趨勢，但整體反應程度較 BSA 與雞蛋蛋白為低。可能與膠原蛋白為主的組成有關。
- 4.全脂奶粉與脫脂奶粉在 60°C 時的 OD 420 吸光值已達 0.486 與 0.482，90°C 時則略為改變至 0.507 與 0.463。

## 伍、討論

- 一、本研究選取六種常見且蛋白質含量較高的樣本，包括虱目魚魚皮、虱目魚魚鱗、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂奶粉及脫脂奶粉，進行蛋白質萃取。經過 BCA 試劑與分光光度計測量 OD 562 結果顯示，六種蛋白質樣本都顯示出明顯的吸光值，尤其是雞蛋蛋白為最高(計算後達到 5416.56  $\mu\text{g/mL}$ )。此一萃取條件相對簡單、安全，有利於大量製備。
- 二、關於萃取時間的比較，我們發現六種蛋白質樣本萃取 72 小時後的 OD 562 吸光值高於 24、48 或 96 小時(大致上呈現出 72 小時 > 48 小時 > 96 or 24 小時)。所以我們以 72 小時為最佳化的萃取時間，以利後續實驗的進行。這個結果相較於我們國小使用的 120 小時萃取時間有明顯差異，顯示蛋白質的萃取量與萃取時間密切相關，後續仍可進一步探討不同萃取時間對蛋白質產率與性質的影響。
- 三、根據標準曲線，萃取 72 小時後，六種蛋白質萃取液計算出的蛋白質濃度有極大的差異(1582.11  $\mu\text{g/mL}$ ~5416.56  $\mu\text{g/mL}$ )，為確保實驗條件一致，實驗中各類蛋白質萃取液將預先稀釋至蛋白質濃度約為 1000  $\mu\text{g/mL}$ (=1 mg/mL)，作為標準操作濃度進行比較。而因為蛋白質的分子量於本次研究中暫無法預估，故後續的酸、鹼、葡萄糖處理，我們嘗試用 1 mg/mL (W/V)作為標準操作濃度。
- 四、我們利用自製 Arduino 黏滯性測試系統，針對六種蛋白質樣本分別加入不同濃度的酸、鹼及有機化合物(葡萄糖)後，藉由滴落秒數觀察其對黏滯性的影響。在實驗 03 酸處理中，樣本加入 1 mg/mL 與 2 mg/mL 的醋酸(弱酸)後，其黏滯性普遍高於加入同濃度鹽酸(強酸)的處理組。而實驗 04 鹼處理結果也顯示，加入碳酸氫鈉(弱鹼)後黏滯性多高於氫氧化鈉(強鹼)處理組。實驗結果顯示，我們推論適度的弱酸、弱鹼性環境可能促進蛋白質的黏滯性增加，而濃度較高的弱酸、弱鹼，以及強酸、強鹼處理都會降低黏滯性。
- 五、葡萄糖是一種常見的小分子增稠劑，我們嘗試在酸鹼處理後加入葡萄糖測試。根據實驗 05 顯示，我們發現隨著葡萄糖濃度由 1 mg/mL 增加至 2 mg/mL，所有樣本之黏滯性皆顯著提升，可能顯示出葡萄糖對於蛋白質黏滯性能有明顯增加。
- 六、我們使用百格刀組進行附著力測試，觀察蛋白質樣本在加入弱酸、強酸、弱鹼、強鹼與葡萄糖後，在塑膠表面形成乾燥塗層的附著力變化。經過三次重複實驗之後，我們發現在實驗 06 酸處理中，各樣本在 1 mg/mL 醋酸處理條件下均呈現最高的附著力，ASTM 等級多達 3.33 B~4.33 B，顯示低濃度弱酸最有利於蛋白質形成穩定塗膜。相對地，在 2 mg/mL 鹽酸處理下，各樣本附著力顯著下降，顯示強酸可能會影響蛋白質在塑膠塗層的附著力。
- 七、實驗 07 鹼處理顯示，碳酸氫鈉處理組的附著力普遍高於氫氧化鈉組，與黏滯性實驗結果一致，隨著鹼性濃度提高或使用強鹼之後，附著力逐漸降低。多數樣本在 2 mg/mL 氫氧化鈉處理後，其 ASTM 等級僅剩 1B~2B，表現最弱。雞蛋蛋白在強鹼處理後仍能維持在 3B 以上，顯示其可能具有較好的環境耐受性。
- 八、在實驗 08 葡萄糖處理中，各樣本在 2 mg/mL 葡萄糖條件下的附著力明顯提升，與黏滯性趨勢一致。實驗中以雞蛋蛋白與奶粉樣本的表現最佳，ASTM 等級可達 4B 以上，具良好膠著效果。此結果顯示，添加少量醣類可提升蛋白質膠的實用性，對開發天然膠黏劑具有潛力。



- 九、為探討蛋白質與還原糖間是否可能發生褐變反應，本研究將六種蛋白質樣本與葡萄糖混合後，分別在 30℃、60℃與 90℃ 條件下加熱，並以分光光度計測定 420 nm 波長下的吸光值變化。從實驗 09 的結果顯示，隨著加熱溫度的升高，各樣本之 OD 420 吸光值皆明顯上升，顯示可能出現非酵素性褐變反應。其中對照組 BSA 與雞蛋蛋白於 90℃ 處理下吸光值最高（分別達 0.782 與 0.776），其次為奶粉樣本，虱目魚鱗、魚皮與生豬皮等膠原蛋白樣本的褐變程度相對較低。此實驗結果顯示，蛋白質與醣類在高溫下可發生初步的褐變反應，未來若將蛋白質進行高溫加工，需考量對其穩定性與外觀的影響。
- 十、綜合本研究結果，不同蛋白質來源對酸、鹼及有機化合物的反應表現出明顯差異。其中，雞蛋蛋白與奶粉表現出最佳的黏滯性與附著力；以膠原蛋白為主要成分的虱目魚鱗、魚皮與生豬皮則對強酸、強鹼可能較為敏感，易失去黏滯性與附著力。此外，自製 Arduino 模組結合雷射與光敏電阻的系統，成功實現蛋白質膠黏滯性的量化分析，不僅提升數據精確性，也具備重複性與教育應用價值，惟樣本需求量較大，仍有微量化改善空間。
- 十一、本研究所採用之蛋白質原料多為食物原料的副產物，實驗過程亦以低濃度酸、鹼、葡萄糖水溶液進行操作，展現安全、環保的優勢，未來若能進一步優化製程並導入工業應用，蛋白質膠有望成為兼具功能性與永續性的天然膠黏劑材料。

## 陸、結論

- 一、本研究中共使用六種蛋白質樣本，經 BCA 試劑及分光光度計檢測後發現經過 0.15 M 醋酸萃取 72 小時後皆可獲得最多蛋白質。此萃取條件具備簡易、安全，也適合進行大量製備等優點。
- 二、經過 1 mg/mL 醋酸、1 mg/mL 碳酸氫鈉、2 mg/mL 葡萄糖液處理後，能有效提升蛋白質萃取液的黏滯性與附著力。適量的弱酸、弱鹼與增稠劑(葡萄糖)有助於形成具良好膠著性能的蛋白質膠。
- 三、加熱 60℃ 以上，葡萄糖與蛋白質發生非酵素性褐變反應，未來進行蛋白質膠加工時應評估其影響。

## 柒、未來與展望

- 一、實驗中我們萃取的蛋白質樣本是混合物，其他物質可能會影響蛋白質表現，未來如果要繼續研究蛋白質膠性質，可能需要透過質譜儀等儀器分析萃取液的主要成分。
- 二、如何將 Arduino 蛋白質黏滯性測量系統所需樣本微量化，除便於增加對照組外，也減少樣本用量並提升測量靈敏度。
- 三、進一步使用其他天然增稠劑（如明膠、果膠）或交聯劑（如檸檬酸、乳酸），比較其對黏滯性、附著力與膠膜穩定性的影響，以進一步提升蛋白質膠黏劑配方。
- 四、針對蛋白質膠的實際應用性，可以透過力學測試工具加以量化評估。

## 捌、參考文獻資料

- 一、Patmawati, E. R. G. , Sulmartiwi, L. , Manikam, S. R. V. , Nirmala, D. , Waiprib, Y. , Wijayanti, S. ( 2023 ) 。 *Effect of acetic acid pre-treatment on hydro-extraction of water-soluble collagen from skin of Alaska Pollock (Theragra chalcogramma)* 。 Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan , 15(2) , 468 – 477 。 <https://doi.org/10.20473/jipk.v15i2.41274>
- 二、黃子綸、唐晨芯、郭慕昕。解黏去縛—探究蛋白質的結著與降解。中華民國第 64 屆中小學科學展覽會作品說明書(編號 080203)。
- 三、金目鱸魚魚鱗膠原蛋白萃取最佳化分析。高雄市第 64 屆中小學科學展覽會作品說明書(編號 30506)
- 四、如膠似塑-蛋白質變性及其應用之初探。高雄市第 62 屆中小學科學展覽會作品說明書(編號 10312)
- 五、林哲寬、林裕哲、尤柏竣、魏宏哲。與豬謀皮～豬皮萃取明膠製成黏著劑之研究。中華民國第 62 屆中小學科學展覽會作品說明書(編號 080204)。
- 六、張少懷、吳昱瑤、林睦潔、聶瑋君。「膠」情「非」淺—探討魚鱗膠原蛋白的凝聚及水解分析研究。中華民國第 59 屆中小學科學展覽會作品說明書(編號 080215)。
- 七、楊甸翌、黃宇詳、陳眉攸，李君瑜。蛋白質得來塑。中華民國第 59 屆中小學科學展覽會作品說明書(編號 080206)。
- 八、葉亞欣、楊秉澄、林冠宇、楊育棠、林祐翔。百黏好合—動物性與植物性蛋白質製成蛋白膠水的探討。中華民國第 52 屆中小學科學展覽會作品說明書(編號 080201)。
- 九、洗澡水略燙 39℃ 就 OK 了！解密生活中 9 個「最佳溫度」，ETtoday 健康雲。  
取自：<https://health.ettoday.net/news/758757/>。
- 十、國中自然與生活科技課本第一冊~第四冊，翰林出版社，2024。
- 十一、TeachEngineering (2018)。 *Measuring Viscosity* 。  
取自：<https://www.youtube.com/watch?v=69iUhlqFJFk>。
- 十二、百格刀試驗。取自：<https://www.youtube.com/watch?v=s9HtwVardcc>。
- 十三、蔡任圉。和蔡任圉(艦長)一起討論高中生物教材教法。酸鹼值對蛋白質膠體溶液(脫脂牛奶)沉澱情形的效應。  
取自：[https://captainbiologyclass.blogspot.com/2021/01/blog-post\\_4.html](https://captainbiologyclass.blogspot.com/2021/01/blog-post_4.html)。
- 十四、圖片 3-14 來源摘自網路：<https://photo.seatools.com/02-seed/MIT-AT123-12.jpg>

## 【評語】 030208

本研究探討動物性蛋白質作為天然膠黏劑的可行性，選用魚鱗、魚皮、豬皮、蛋白與奶粉等材料。經 0.15 M 醋酸萃取 72 小時為最佳條件，並以酸、鹼、糖處理後提升黏滯性與附著力。加熱至 60°C 以上出現褐變反應，顯示具應用潛力。

1. 本實驗使用醋酸來從虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂奶粉、脫脂奶粉等天然物中萃取蛋白質，再使用四種常見水溶性試劑：弱酸（醋酸）、強酸（鹽酸 HCl）、弱鹼（碳酸氫鈉  $\text{NaHCO}_3$ ）、及強鹼（氫氧化鈉 NaOH），對蛋白質萃取液進行處理，並觀察其對黏滯性與附著力的影響。也將蛋白質萃取液與葡萄糖作用，在不同反應溫度下觀察其褐變反應速率。想用蛋白質來做天然膠水，想法很單純（作者可能忘了早期的漿糊就是一種天然膠水），重點是本實驗所作的膠水與目前常用之以聚乙烯醇為主原料的透明膠有何不同。

2. 作為一種天然膠水的可能性，研究設計的完整度相當好，其中利用到許多校正與定量的方式，例如蛋白質的定量光譜方法還有自行組裝黏度計，以及利用百格測試作為附著性的探

討，科學性相當嚴謹，雖然實驗探索的工作取得了初步的成功，但是膠水本身是經濟價值很低的用品，是否值得使用高價的食材來進行降解，如此的研究方法是否符合永續的概念，同學是否明白什麼樣的物質可以具有黏性，背後的化學原理是什麼？自製的黏度計是否需要考慮液體的密度與浮力的問題？這些問題都可以做後續的討論。

作品海報



# 扭「蛋」成「膠」

---

—蛋白質膠黏性質與褐變反應之化學探討



# 摘要

本研究評估動物性蛋白質作為天然膠黏材料的可能性。選用常見的虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂奶粉、脫脂奶粉作為研究樣本，透過簡化後的蛋白質萃取方式，經**BCA**試劑及分光光度計測量找出最佳化萃取方式。隨後將萃取液經酸、鹼、有機化合物水溶液處理後，觀察黏滯性、附著力之變化。最後再探討蛋白質加熱後的褐變反應。結果發現，經**0.15 M**醋酸萃取**72**小時為最佳條件。在加入**1 mg/mL**醋酸、**1 mg/mL**碳酸氫鈉、**2 mg/mL**葡萄糖水溶液等三種處理後，黏滯性（**Arduino**系統）與附著力（百格刀組）均顯著提升。且加熱到**60℃**以上，有初步的褐變反應發生。綜合上述，動物性蛋白質經適當處理後具良好膠黏潛力，未來可進一步探討其化學變化，以提升應用價值。

## 研究動機

本研究旨在開發一種簡單、統一且有效的蛋白質萃取方法，提升實驗效率。考量過去不同蛋白質來源需使用不同萃取流程且繁瑣，並避免使用與生理環境差異過大的高濃度化學物質，我們選用文獻建議的**0.15 M**醋酸（**CH<sub>3</sub>COOH**，約**1% w/v**）作為萃取劑，並探討不同孵育時間（**24**、**48**、**72**、**96** 小時）對蛋白質萃取效果的影響。接著進一步以弱酸（醋酸）、強酸（**HCl**）、弱鹼（**NaHCO<sub>3</sub>**）、強鹼（**NaOH**）與葡萄糖（**C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>**）處理蛋白質溶液，觀察其對黏滯性與附著力的變化。黏滯性部分，改良傳統彈珠沉降法，採用**Arduino**模組進行更精確的測試；附著力則以百格刀切割後貼膠帶撕除，並依**ASTM** 等級評估膠著強度。此外，為探討蛋白質與糖之間的褐變反應，我們於樣本中加入葡萄糖，並於**30℃**、**60℃**、**90℃**進行加熱處理，再以分光光度計測量 **OD420** 吸光值，確認是否產生非酵素褐變反應。

## 研究目的

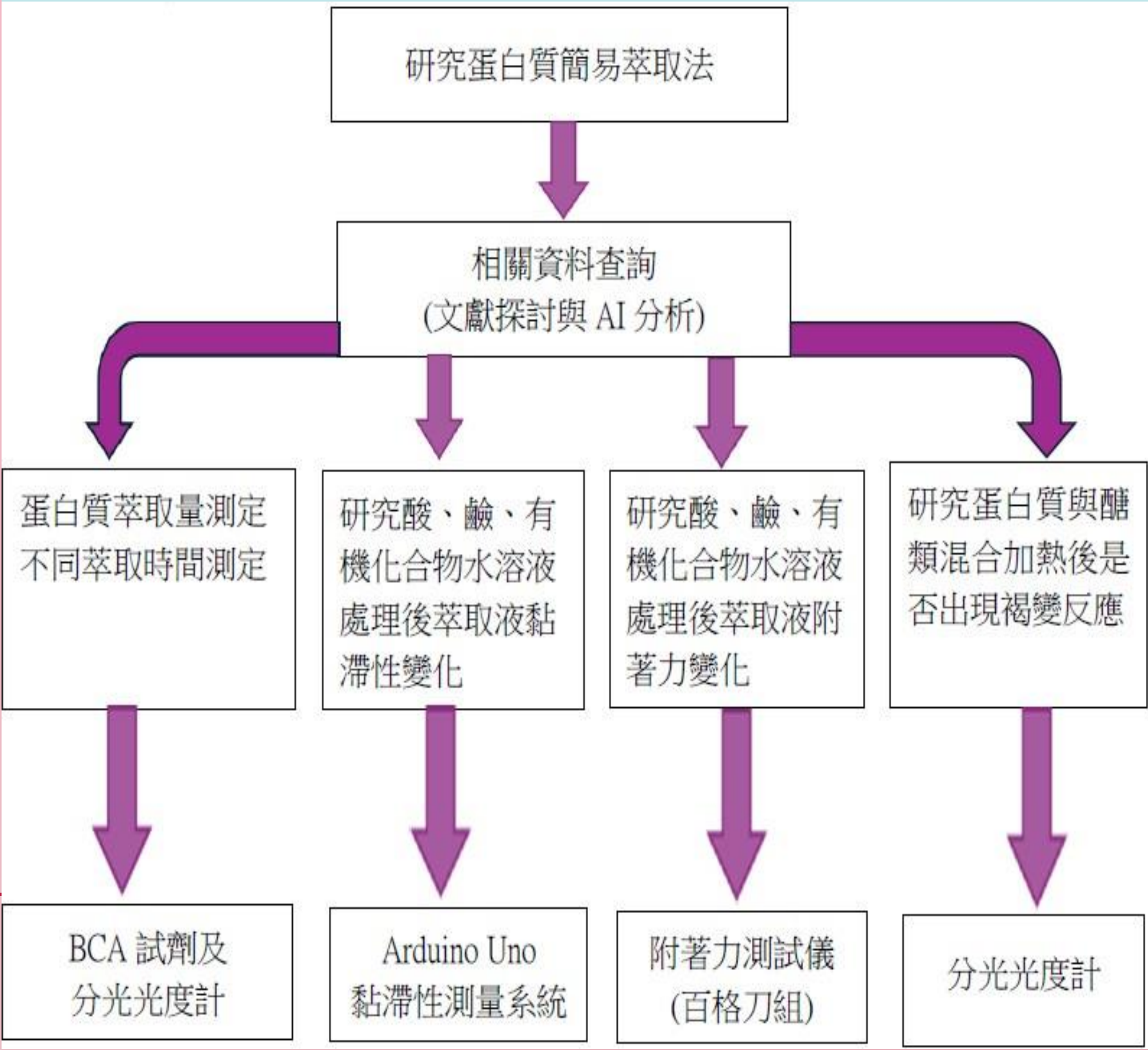
- (一)以醋酸萃取虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白、全脂與脫脂奶粉等六種樣本，以**BCA**試劑與分光光度計測定蛋白質濃度。
- (二)調整萃取時的孵育時間，再以**BCA**試劑與分光光度計測定蛋白質含量。
- (三)在「加入弱酸、強酸」、「加入弱鹼、強鹼」、「加入有機化合物水溶液」的條件下，利用**Arduino**測量系統測試蛋白質萃取液的黏滯性。
- (四)在「加入弱酸、強酸」、「加入弱鹼、強鹼」、「加入有機化合物水溶液」的條件下， 利用百格刀組測試蛋白質萃取液的附著力。
- (五)初探蛋白質加入葡萄糖並加熱**30℃**、**60℃**、**90℃**後，是否產生褐變反應。

## 研究設備及器材

		
分光光度計	磁石攪拌器	百格刀組
		
pH Meter	Arduino 裝置圖	Pipette 移液器
		
恆溫內循環水浴槽	電子秤	計時器

圖1-1. 研究設備及器材

## 研究過程或方法 (研究流程圖)



## 研究過程或方法(BCA Protein Assay)

**BCA**是一種基於銅離子還原反應和**BCA**試劑顯色反應的蛋白質定量方法，具有靈敏、穩定且抗干擾能力強的特點，是常用的蛋白定量方法之一。操作方式如下：1.標準曲線的準備：系列稀釋已知濃度的蛋白質標準液、2.配製**BCA**工作液、3.加入試劑並混合、4.孵育 (incubate)**30**分鐘、5.測量**562 nm**吸光值、6.繪製標準曲線、7.測量待測蛋白質樣品濃度。



圖1-8. BCA工作液

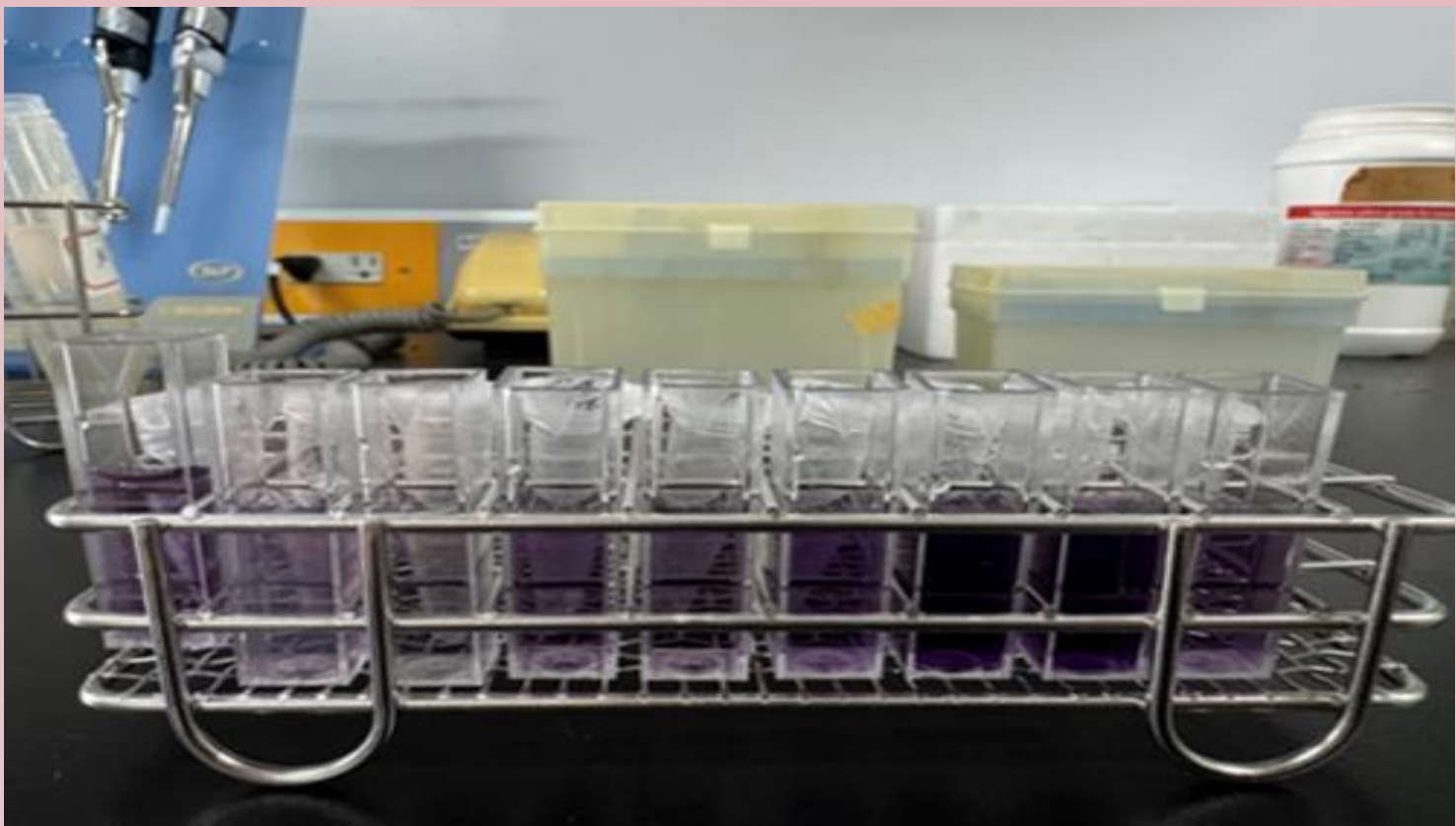


圖1-9. BCA工作液加入蛋白質樣本後靜置

## 研究過程或方法(蛋白質材料製備)

- 將虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮、雞蛋蛋白清理並去除雜質(魚皮另浸泡**10%**食鹽水**2**小時)。
- 秤量**100g**置於乾淨容器中，再倒入**400ml 1%**醋酸。
- 以保鮮膜覆蓋之後，放入**4℃**冰箱，每**12**小時稍微進行攪拌。
- 冷藏指定時間(例**24**小時、**48**小時、**72**小時)後，用濾紙過濾後備用。
- 奶粉部分則秤取**10**克奶粉，加入**90**克水中進行溶解後重複**2~4**步驟。



圖1-2. 虱目魚鱗

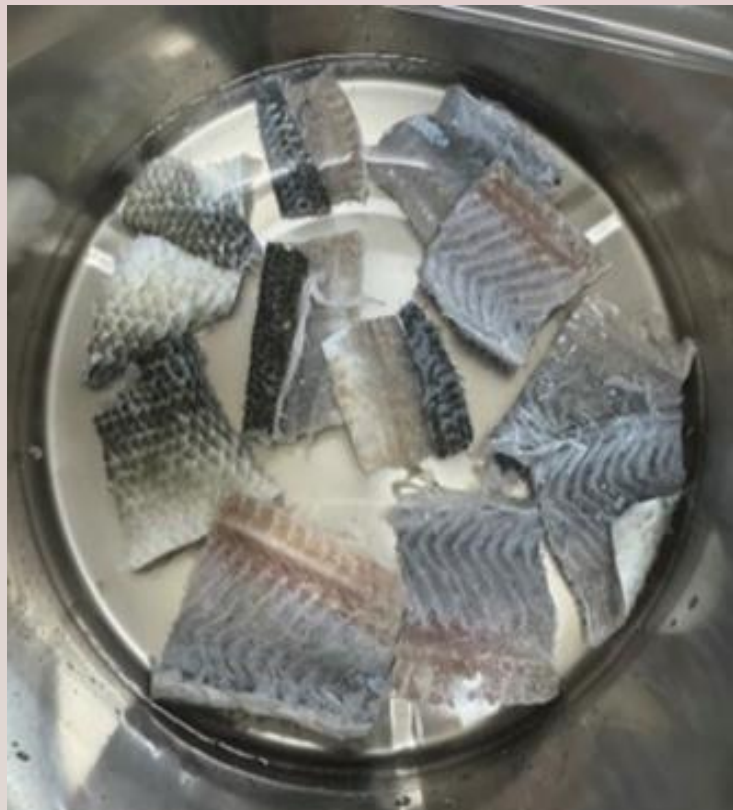


圖1-3. 虱目魚皮



圖1-4. 生豬皮



圖1-5. 雞蛋蛋白



圖1-6. 奶粉萃取



圖1-7. 奶粉來源

## 研究過程或方法(Arduino黏滯性測量系統)

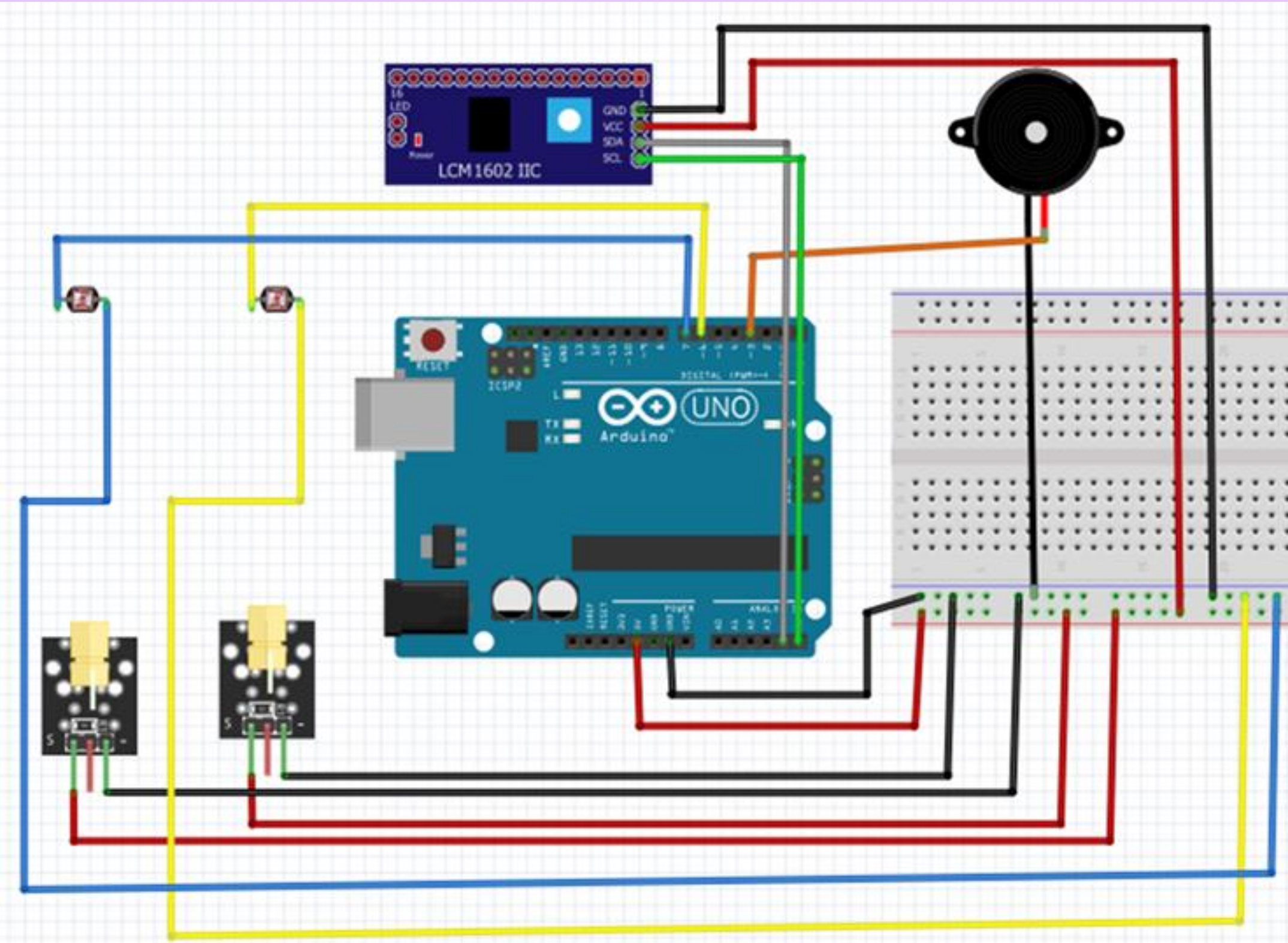
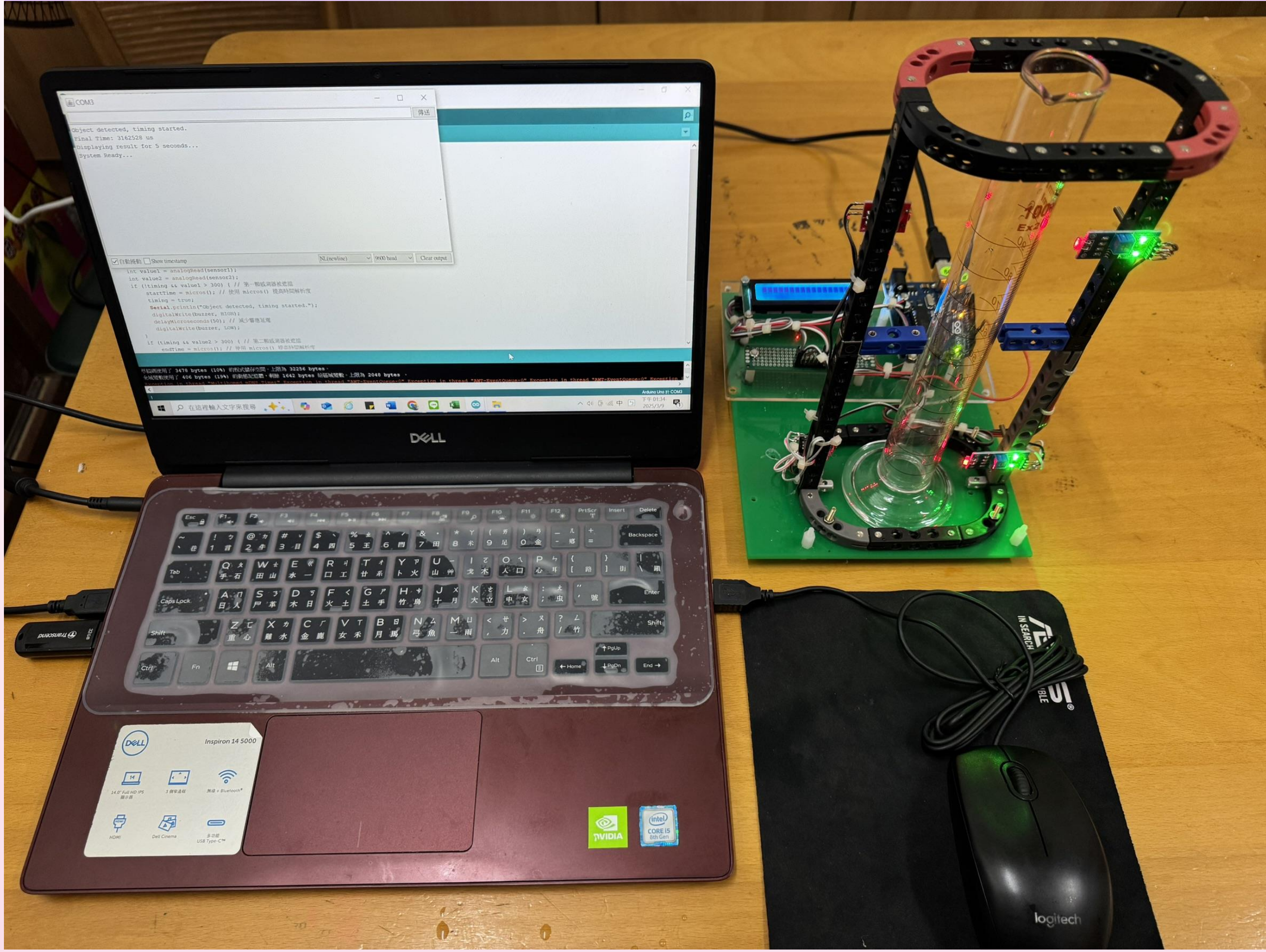


圖1-10. Arduino黏滯性測量系統配置與電路圖



## 研究過程或方法(Arduino黏滯性測量系統實體)



## 研究過程或方法(附著力測試儀/百格刀組)

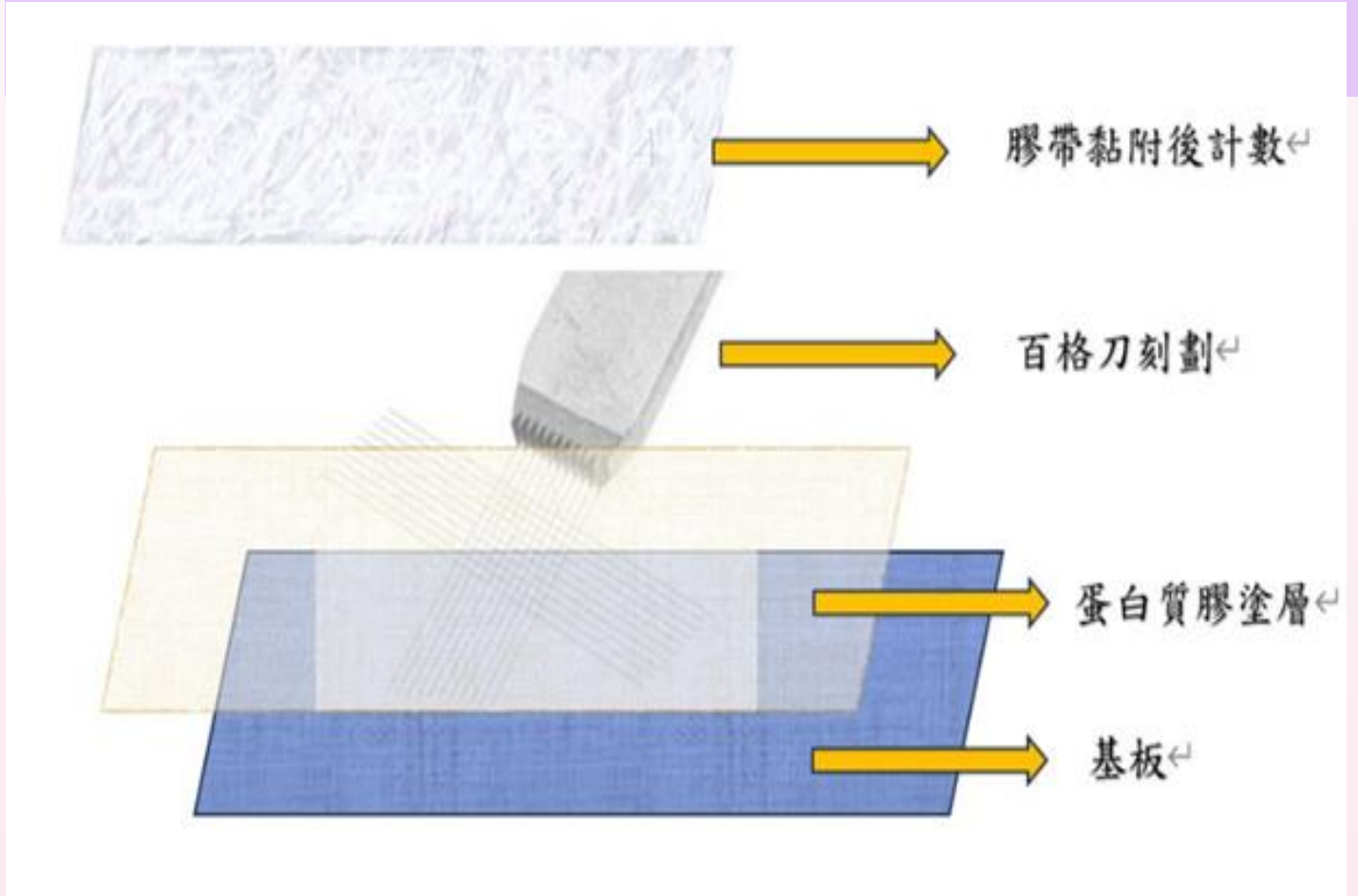


圖1-11、百格刀操作示意圖

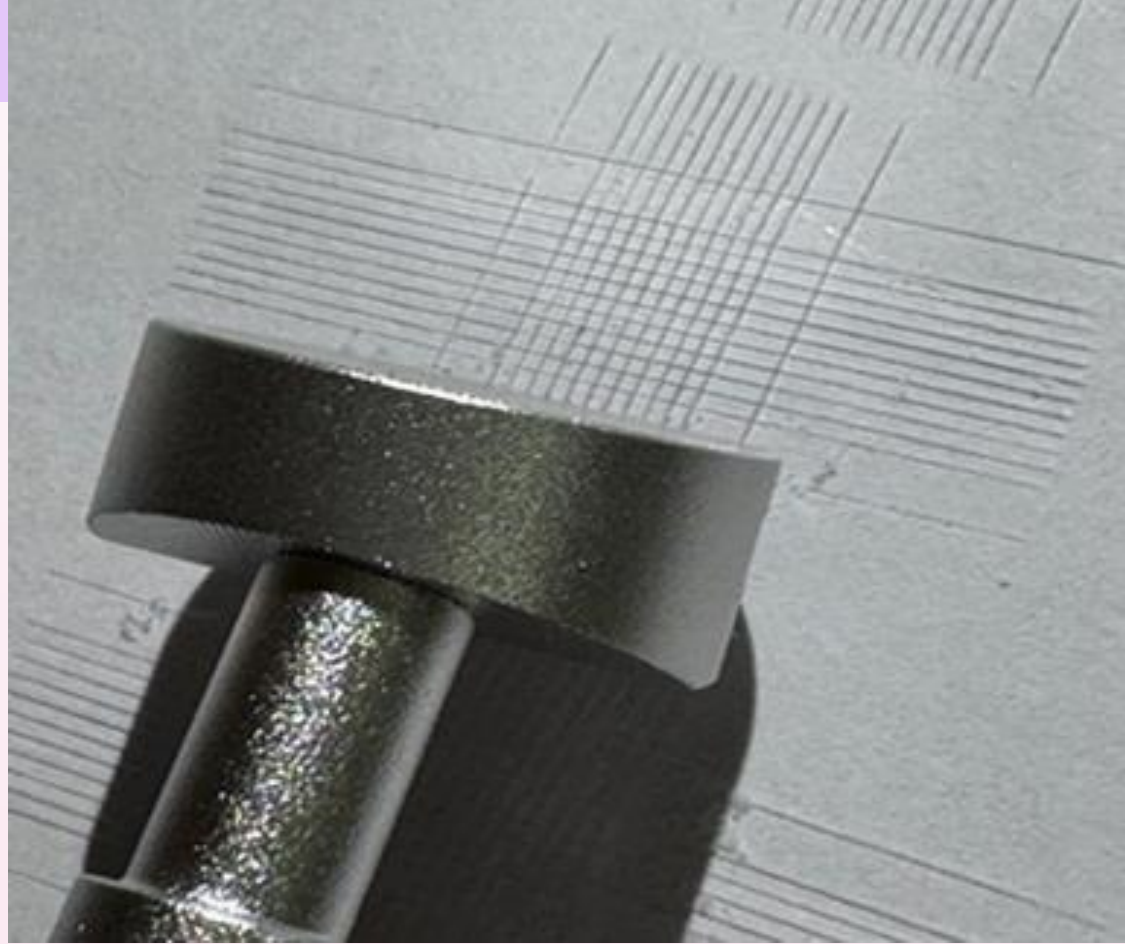


圖1-12、百格刀於塑膠基板上刻畫

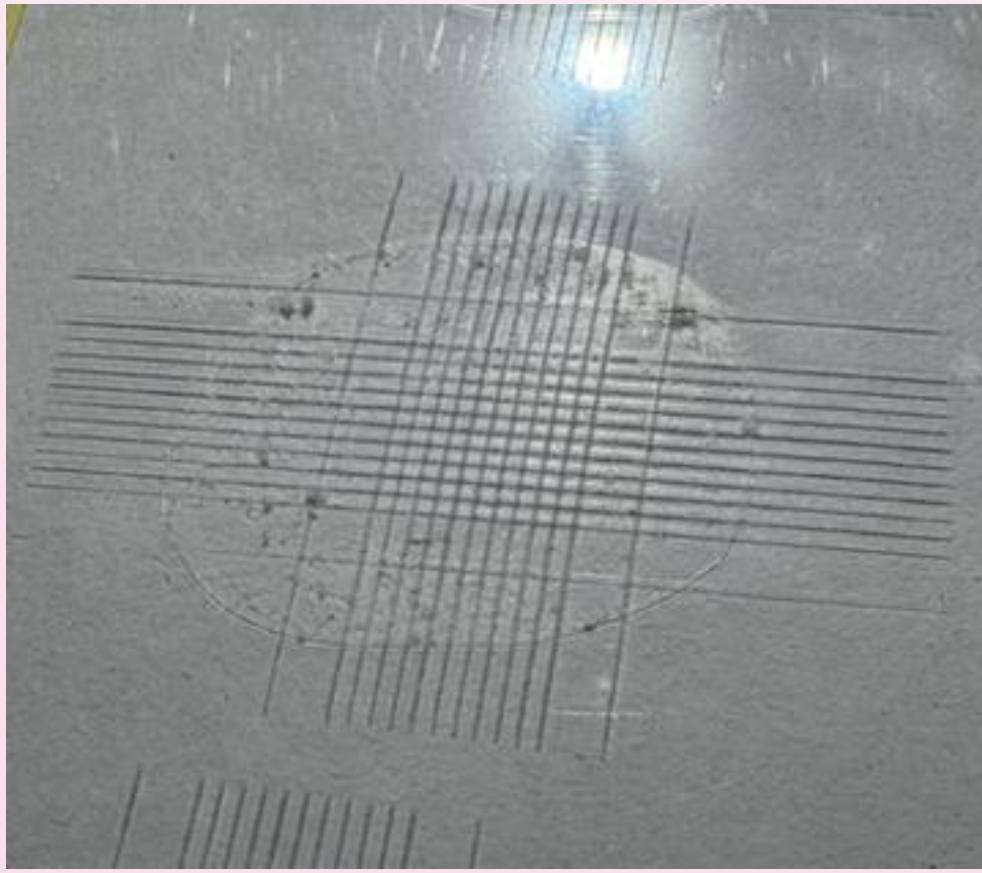


圖1-13、於膠膜上刻畫

附著力測試標準			
ISO 等級	ASTM 等級	測試結果	脫落表現 (以0-4級為90)
0	5B	切口的邊緣完全光滑，格子邊緣沒有任何剝落	
1	4B	切口的相交處有小片剝落，劃格區內實際破損不超過5%	
2	3B	切口的邊緣或相交處有被剝落，其面積大於5%但不到15%	
3	2B	沿切口邊緣有部分剝落或整大片剝落，或部分格子被剝片剝落，被剝落的面積超過15%，但不到35%	
4	1B	切口邊緣大片剝落/或者一些方格部分或者全部剝落，其面積大於劃格曲的35%但不超過65%	
5	0B	超過上一等級大於65%	

圖1-14、測試標準(採ASTM等級)

## 研究過程或方法(非酵素性褐變反應)

- 1.非酵素性褐變最常見的就是梅納反應與焦糖化反應。
- 2.梅納反應（Maillard Reaction）是蛋白質中的胺基（-NH<sub>2</sub>）與還原糖中的醛基或酮基（例如葡萄糖）在加熱下產生的一連串化學反應，會產生香味、色澤與褐色素。
- 3.我們將測試在相對低溫的情況下(30℃、60℃、90℃)，利用分光光度計測定420 nm的吸光值，看是否可能有褐變反應的發生。



圖1-15、恆溫水浴槽加熱

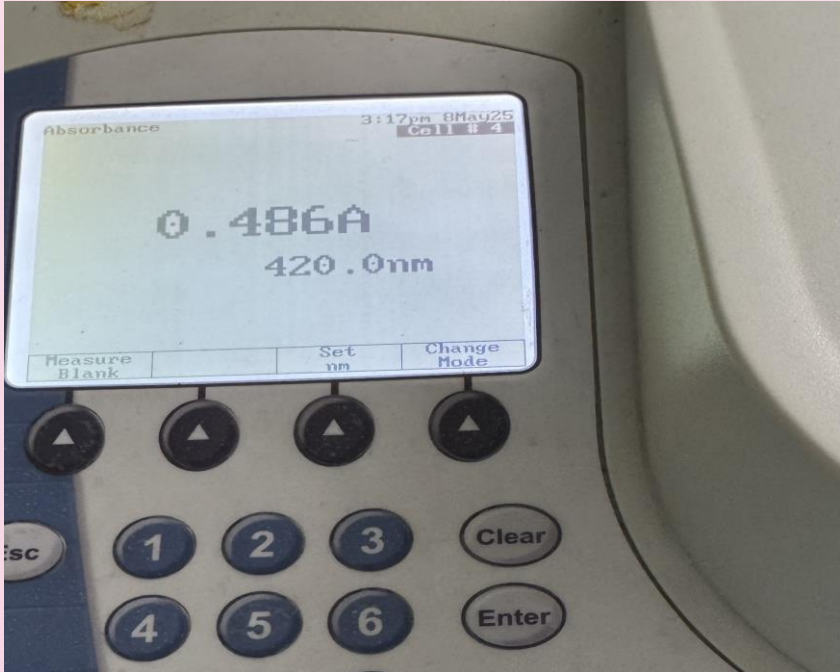


圖1-16、測量OD 420

## 研究結果

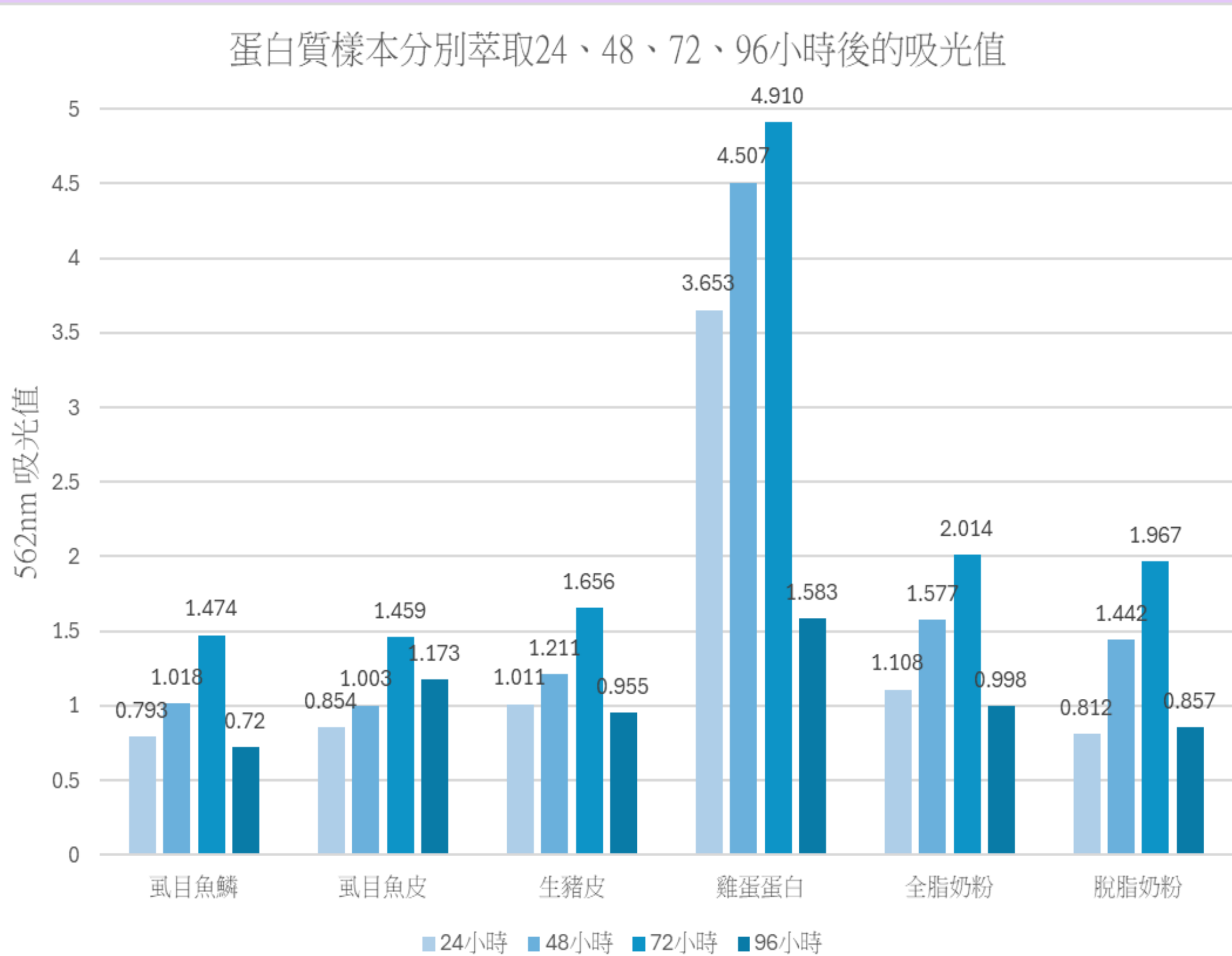
### 實驗01：利用BCA試劑及分光光度計初步測量樣品中的蛋白質含量

標準液(μ g/mL)	OD 562nm	蛋白質樣本	OD 562nm	估算濃度(μ g/mL)
0	0	虱目魚魚鱗	1.177	1069.00
25	0.03	虱目魚魚皮	1.481	1345.36
50	0.05	生豬皮	1.882	1709.91
100	0.108	雞蛋蛋白	4.960*	4508.09*
200	0.216	全脂奶粉	2.263*	2056.27*
400	0.423	脫脂奶粉	2.242*	2037.18*

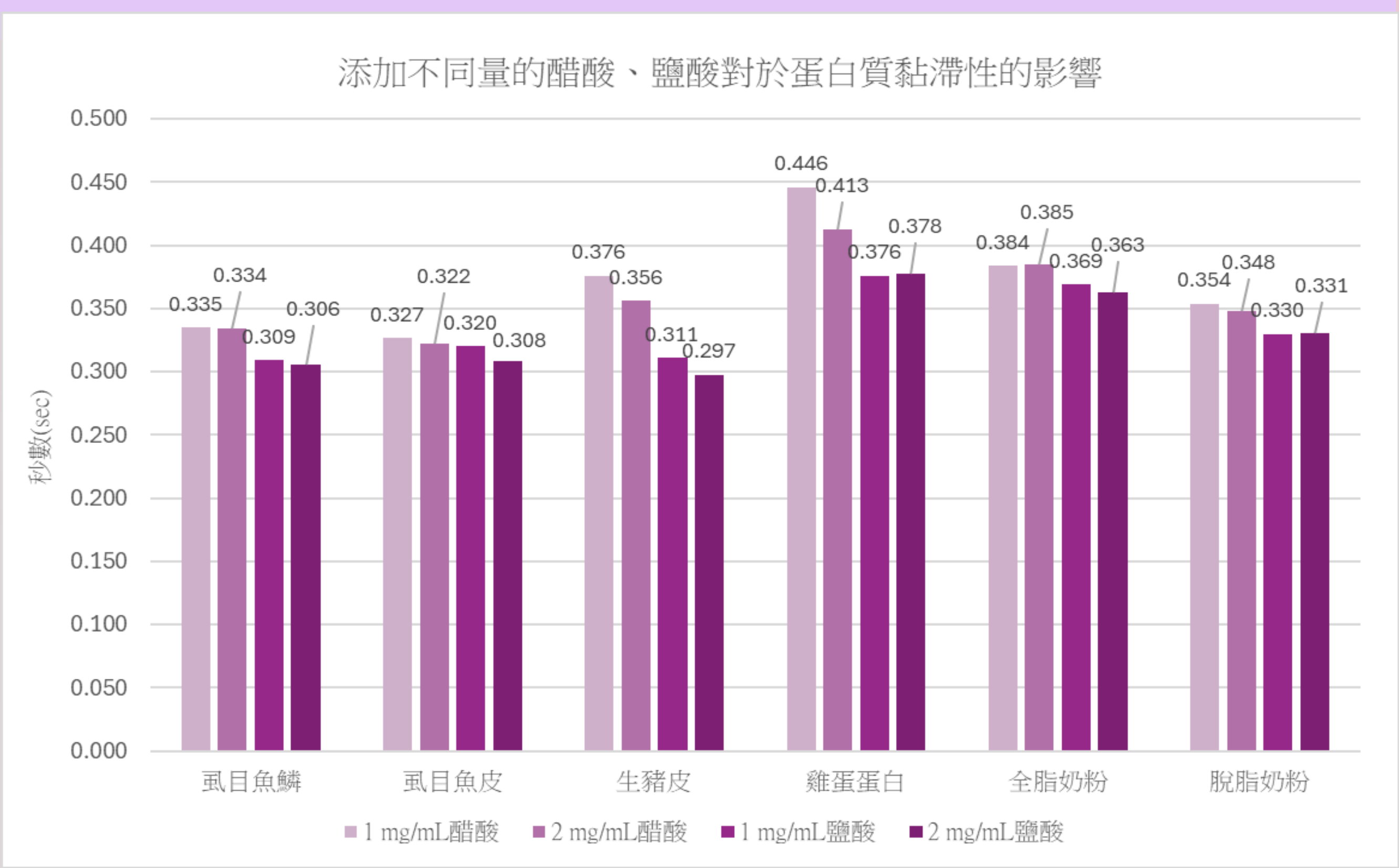
### 實驗01、02結果分析：

- 1.實驗01中，分光光度計測得的標準液吸光值與實際樣本的吸光值差異大，因此後續將提高標準液濃度以利準確比對。
- 2.將蛋白質樣本以 0.15 M 醋酸於 4℃ 冰箱中萃取，萃取時間達 72 小時，為各樣本蛋白質濃度最佳萃取條件。
- 3.雞蛋白、全脂與脫脂奶粉樣本濃度均超過 2000 μ g/mL，為稀釋後再測量結果。
- 4.因蛋白質樣本成分不同，暫無法測量分子量，故統一各樣本濃度至約 1 mg/mL 以利後續比較。

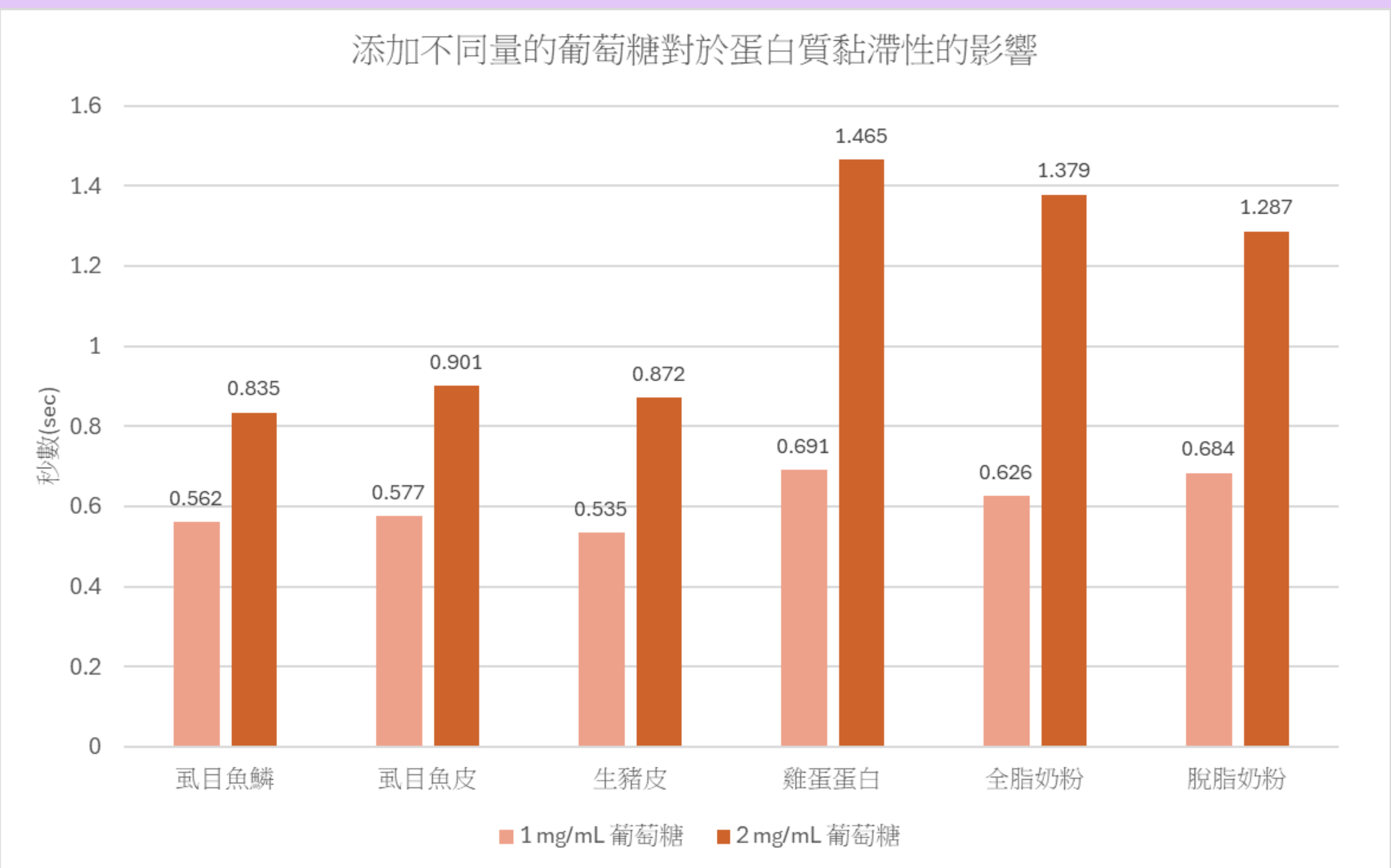
### 實驗02：不同孵育(incubate)時間下萃取出蛋白質含量



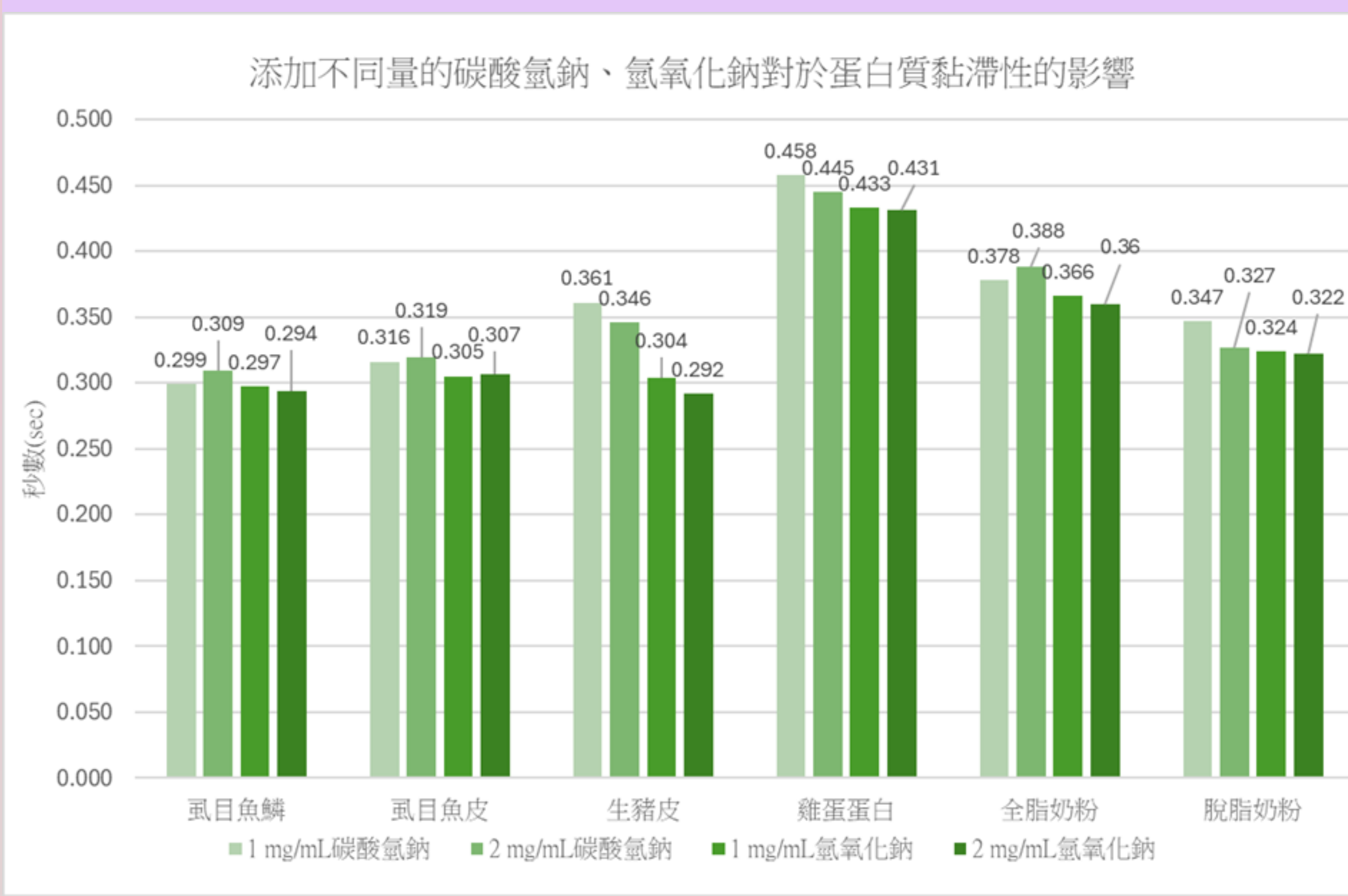
### 實驗03：分別添加不同濃度的弱酸、強酸進行蛋白質黏滯性測試



### 實驗05：分別添加不同量的有機化合物水溶液進行蛋白質黏滯性測試



### 實驗04：分別添加不同濃度的弱鹼、強鹼進行蛋白質黏滯性測試

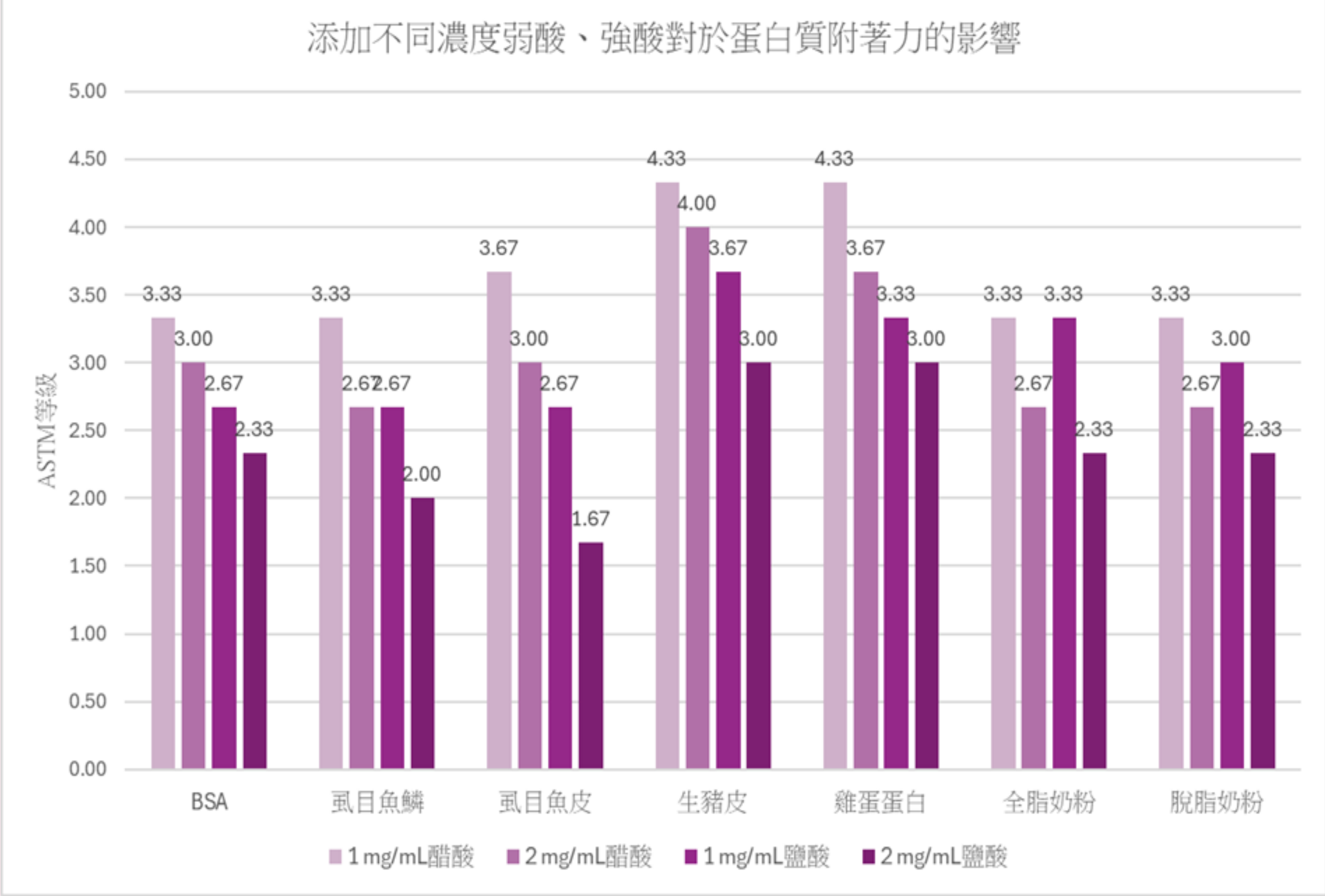


### 實驗03、04、05結果分析

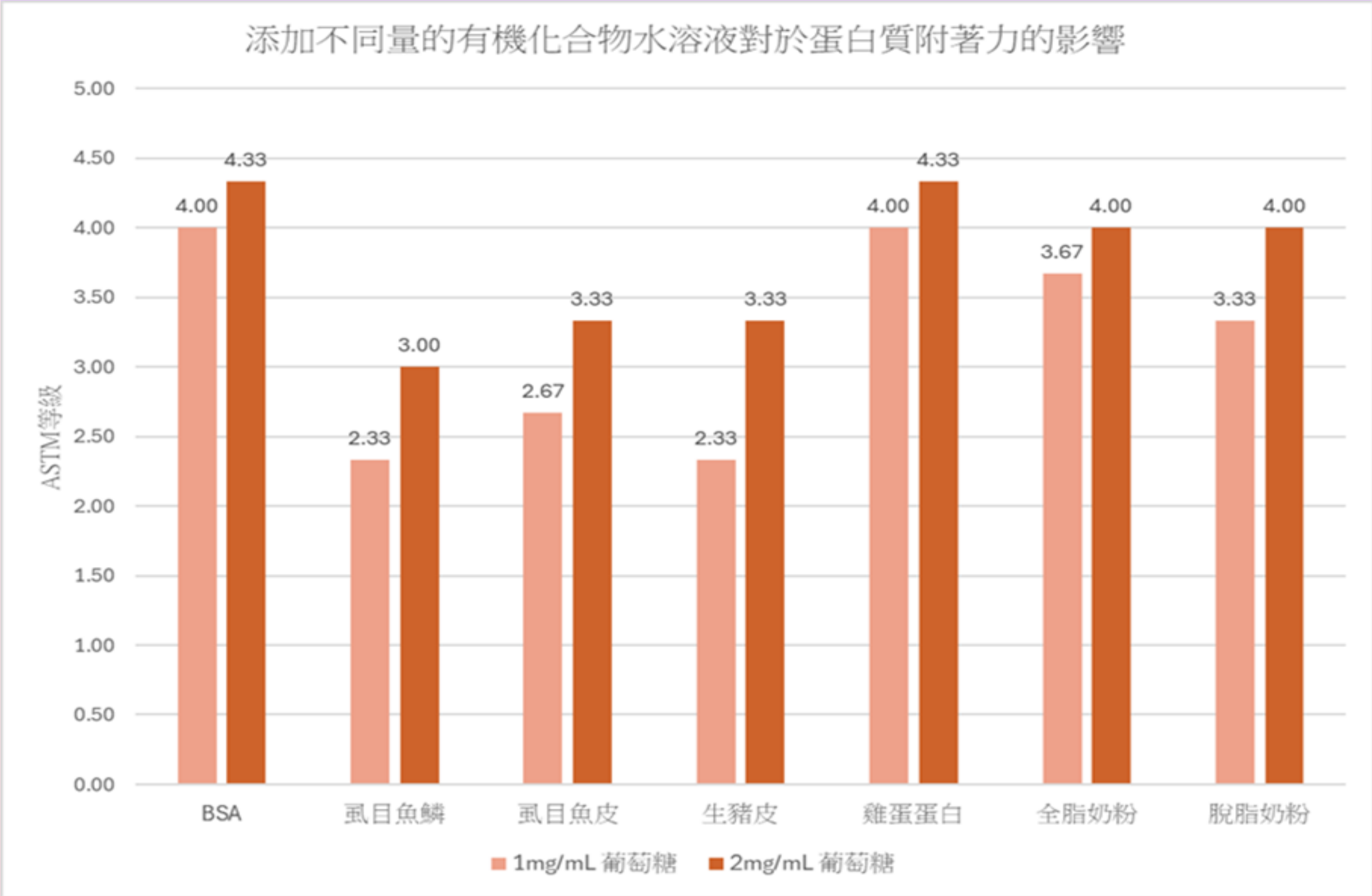
- 1.從實驗03中可發現，黏滯性主要依照 1 mg/mL醋酸、2 mg/mL醋酸、1 mg/mL鹽酸、2 mg/mL鹽酸依序下降。
- 2.從實驗03中可發現，秒數從最高排列依序是雞蛋蛋白＞全脂奶粉＞脫脂奶粉＞生豬皮＞虱目魚鱗＞虱目魚皮，亦即樣本黏滯性依上述順序逐漸降低。
- 3.從實驗04中可發現虱目魚皮、魚鱗和生豬皮這三種以膠原蛋白為主要成分的樣本，在經過碳酸氫鈉（弱鹼）處理後，大致上展現出較高的黏滯性。
- 4.對照實驗03、04可發現，上述三種膠原蛋白為主的樣本在酸性條件下的黏滯性可能較鹼性處理時為佳。而以卵白蛋白為主成分的雞蛋蛋白則呈現相反趨勢，在鹼性處理下黏滯性較高，可能表示出蛋白質與酸鹼反應差異。
- 5.從實驗06我們發現，六種樣本中加入2 mg/mL葡萄糖液測得黏滯性皆比1 mg/mL葡萄糖液更高。黏滯性由高到低排列，依序為雞蛋蛋白＞全脂奶粉＞脫脂奶粉＞虱目魚皮、虱目魚鱗、生豬皮三種。
- 6.結果顯示雞蛋蛋白(主要是卵白蛋白)在葡萄糖處理後，黏滯性為最高。



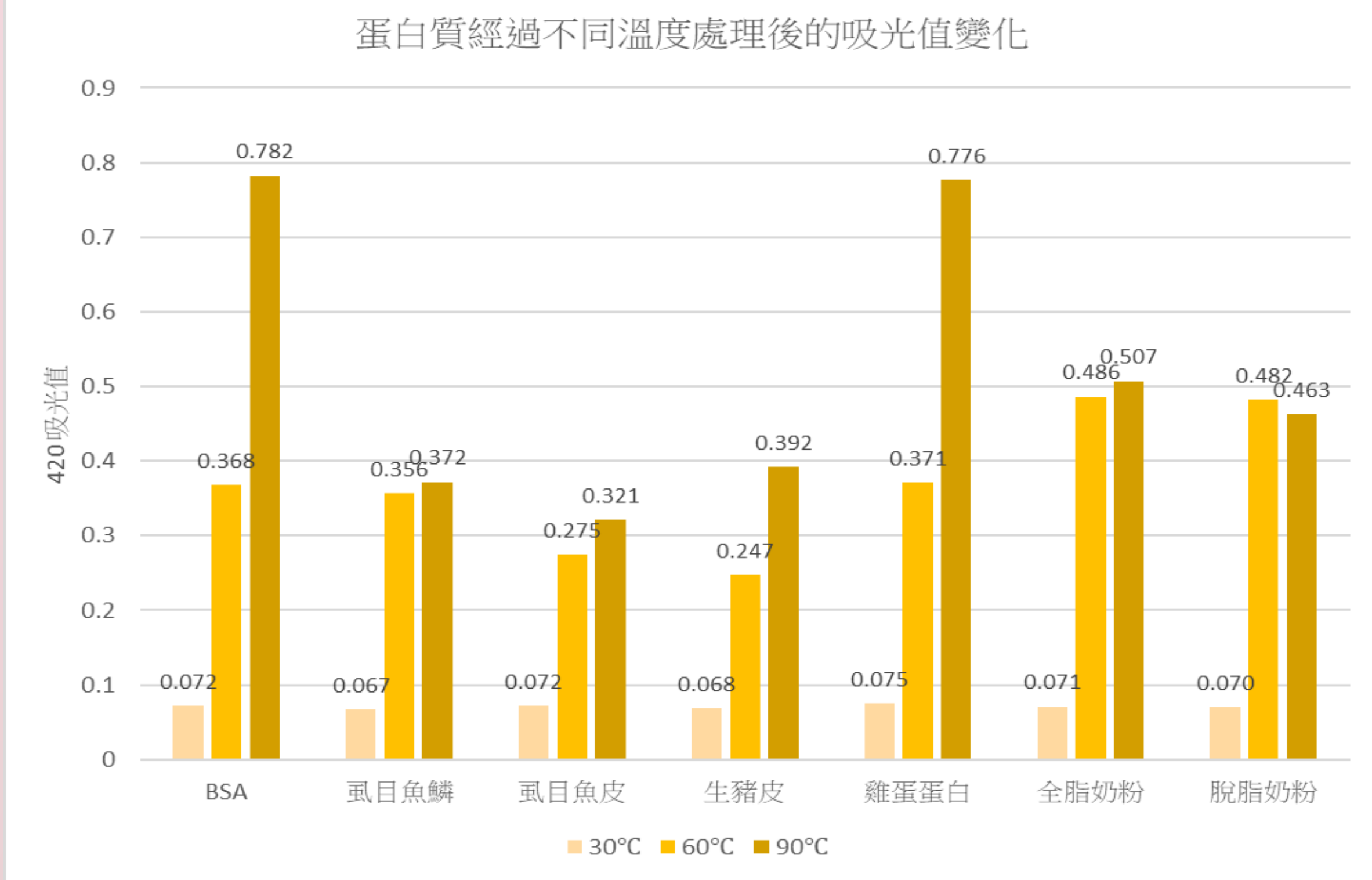
實驗06：分別添加不同濃度弱酸、強酸進行蛋白質附著力測試



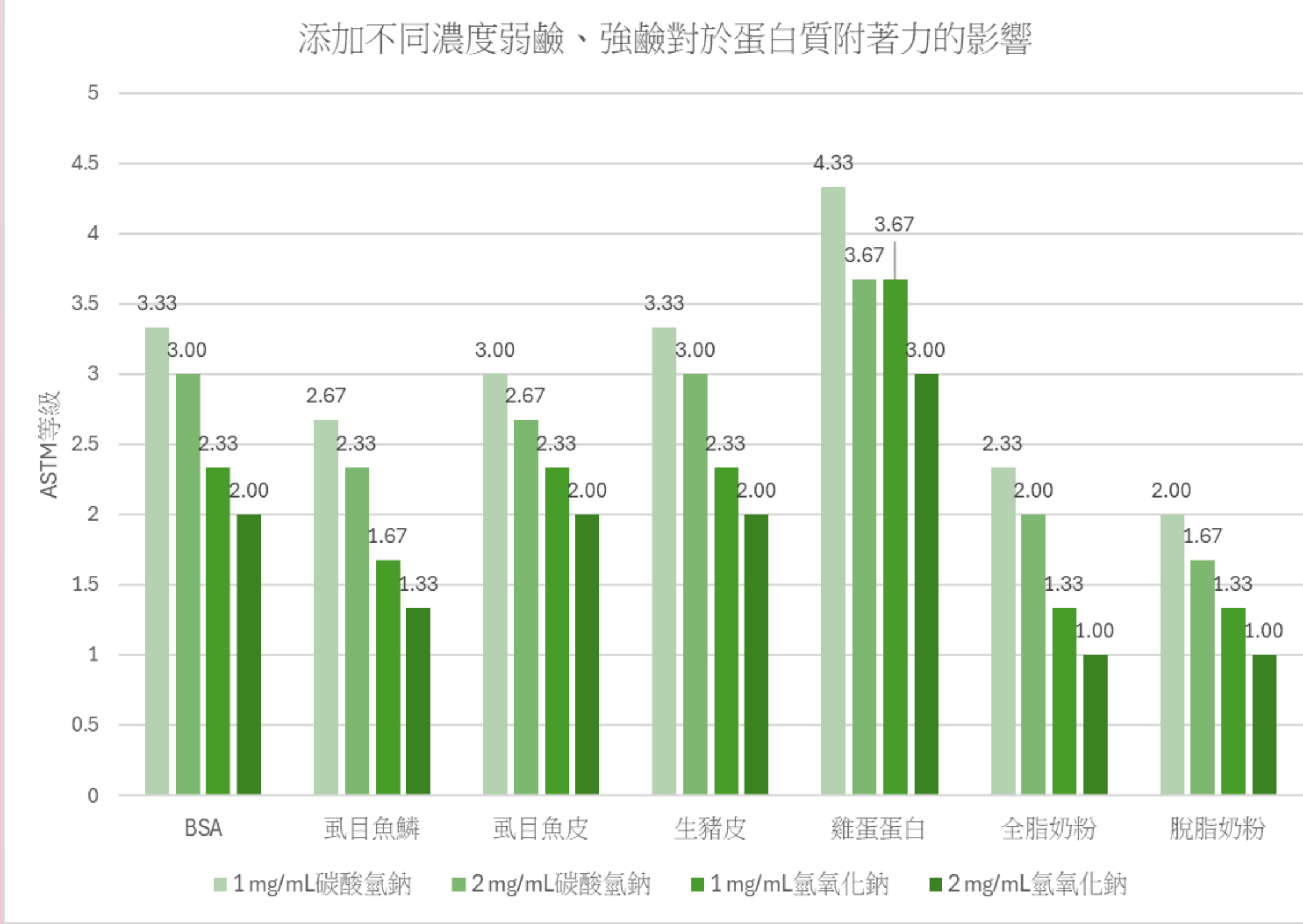
實驗08：分別添加不同量葡萄糖溶液進行蛋白質附著力測試



實驗09：添加葡萄糖溶液後加熱進行褐變反應測試



實驗07：分別添加不同濃度弱鹼、強鹼進行蛋白質附著力測試



實驗06、07、08結果分析

- 1.從實驗06發現，弱酸(特別是1 mg/mL 醋酸)能有效提升ASTM等級，顯示附著力提升。而與強酸混合後，普遍有附著力下降的情況。
- 2.從實驗07發現，所有樣本在與2 mg/mL 氫氧化鈉(強鹼)混合後的ASTM等級明顯較低，可能顯示附著力皆隨鹼濃度升高而下降。
- 3.雞蛋蛋白無論是在酸或鹼處理的條件下，都能保持在相對較高的附著力(3.00~4.33B)。
- 4.全脂奶粉與脫脂奶粉在與強鹼混合後附著力明顯下降。
- 5.從實驗08中我們發現，六種樣本在2 mg/mL葡萄糖處理下附著力均較1 mg/mL提升，且雞蛋蛋白附著力與BSA相近，附著力表現最佳。
- 6.從實驗08中我們發現，奶粉類樣本相較於虱目魚鱗、虱目魚皮、生豬皮等三種以膠原蛋白為主的樣本有較高的附著力表現，可能顯示葡萄糖遇到奶粉(乳清蛋白及酪蛋白為主)更能提升附著力。

實驗09結果分析

- 1.隨著加熱溫度升高，我們測得六種樣本在OD 420吸光值都有增加，可能表示有褐變反應的發生。
- 2.在90°C處理下，BSA與雞蛋蛋白的 OD 420 吸光值分別達到 0.782 與 0.776，為所有樣品中最高，顯示其在高溫下與醣類的褐變反應可能最為明顯。
- 3.虱目魚鱗、虱目魚皮及生豬皮在90 °C時的OD 420吸光值介於0.321至0.392之間，雖較30 °C有明顯上升趨勢，但整體反應程度較BSA與雞蛋蛋白為低。可能與膠原蛋白為主的組成有關。
- 4.全脂奶粉與脫脂奶粉在60°C 時的OD 420吸光值已達 0.486 與 0.482，90°C 時則略為增加至 0.507 與 0.463。

※本海報呈現所有照片及圖表皆由作者群拍攝或繪製

討 論

- 1.本研究選取六種常見的蛋白質樣本，嘗試利用0.15 M醋酸進行萃取。透過BCA試劑與分光光度計測定OD562值後，六種樣本皆成功檢測到蛋白質，其中以雞蛋蛋白濃度最高，顯示本萃取方法具備實用與安全性，適合實驗應用。
- 2.關於萃取時間最佳化實驗結果顯示，OD 562吸光值大致上為72小時>48小時>96或24小時，故本研究後續皆採用72小時作為標準化萃取時間。此結果與先前國小使用之120小時條件相異，顯示時間控制對蛋白產量有密切相關。
- 3.雖各樣本計算後濃度差異甚大，為控制變因，後續實驗將各蛋白質樣本濃度統一稀釋至1 mg/mL，作為標準操作濃度進行後續比較。
- 4.用自製的Arduino黏滯性測試系統，我們探討六種蛋白質樣本分別於不同酸、鹼、葡萄糖條件下對黏滯性的影響。結果顯示在酸性處理中，加入1或2 mg/mL的醋酸（弱酸）後樣本黏滯性顯著高於相同濃度的鹽酸（強酸）。而鹼性處理中，加入碳酸氫鈉（弱鹼）的黏滯性優於氫氧化鈉（強鹼）。我們推論弱酸與弱鹼可促進蛋白質的黏滯性增加。而添加不同濃度的葡萄糖後，所有樣本黏滯性皆隨濃度上升而增加，顯示葡萄糖作為生活中常見的小分子增稠劑，可明顯增加蛋白質黏滯性。
- 5.百格刀附著力測試中，1 mg/mL醋酸處理下各樣本ASTM有最佳的附著力，而2 mg/mL鹽酸處理導致附著力顯著下降，顯示強酸可能會影響蛋白質在塑膠塗層的附著力。鹼性處理中也呈現相似趨勢，碳酸氫鈉處理組附著力普遍優於氫氧化鈉。而雞蛋蛋白即使在2 mg/mL氫氧化鈉下仍能維持3B以上等級，顯示其可能具有較好的環境耐受性。在2 mg/mL葡萄糖條件下，樣本附著力明顯提升，與黏滯性結果一致。雞蛋蛋白與奶粉樣本表現最佳，ASTM等級可達4B以上，突顯出添加醣類可增加蛋白膠的實用性。
- 6.為探討蛋白質與還原糖是否發生非酵素性褐變反應，本研究測定蛋白質樣本於不同溫度下的OD420值，結果隨溫度升高而吸光值上升，顯示褐變反應可能已發生。雞蛋蛋白與BSA於90°C下的吸光值最高（0.776與0.782），其次為奶粉樣本，虱目魚鱗、魚皮與生豬皮等膠原蛋白樣本的褐變程度相對較低。此實驗結果顯示，蛋白質與醣類在高溫下可發生初步的褐變反應。
- 7.綜合而言，雞蛋蛋白與奶粉樣本在各項測試中表現穩定，具備良好的黏滯性、附著力。以膠原蛋白為主要成分的虱目魚鱗、魚皮與生豬皮則對強酸、強鹼可能較為敏感，易失去黏滯性與附著力。本研究樣本多為食物原料的副產物，展現安全、環保以及永續利用的優勢。

結 論

- 一、本研究中共使用六種蛋白質樣本，經BCA試劑及分光光度計檢測後發現經過0.15 M醋酸萃取72小時後皆可獲得最多蛋白質。此萃取條件可能具備有簡易、安全，也適合進行大量製備等優點。
- 二、經過1 mg/mL醋酸、1 mg/mL碳酸氫鈉、2 mg/mL葡萄糖液處理後，能有效提升蛋白質萃取液的黏滯性與附著力。適量的弱酸、弱鹼與增稠劑(葡萄糖)有助於形成具良好膠著性能的蛋白質膠。
- 三、加熱60°C以上，葡萄糖與蛋白質發生非酵素性褐變反應，未來進行蛋白質膠加工時應評估其影響。

未來與展望

- 一、實驗中我們萃取的蛋白質樣本是混合物，未來可能需要透過HPLC或MS等儀器分析萃取液的主要成分。
- 二、思考如何將Arduino蛋白質黏滯性測量系統所需樣本微量化，便於增加對照組，也減少樣本用量以提升測量靈敏度。
- 三、針對蛋白質膠的實際應用，可以透過力學測試工具加以量化評估。
- 四、使用其他天然增稠劑(如明膠、果膠)，比較其對黏滯性、附著力與膠膜穩定性的影響，以進一步提升蛋白質膠黏劑配方。