

臺灣二〇〇三年國際科學展覽會

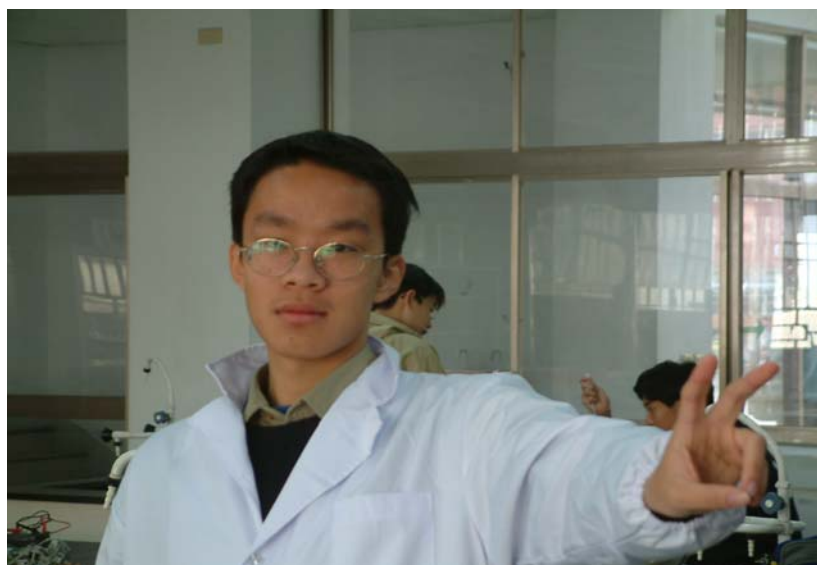
科 別：化學科

作品名稱：利用奈米級的二氧化鈦〈TiO₂〉在紫外光降解幾
丁聚醣的研究

學 校：國立臺南第一高級中學

作 者：殷士閔

作者簡介



我是殷士閔，目前就讀國立台南一中二年級。我從小就對自然科學有著濃厚的興趣，也時常會閱讀一些相關的書籍；而父母對我在學習上一直採取開放的態度，我也因此培養出利用科學方法獨立思考的精神。

在高一時，我有緣在鄧明聖老師的指導下，參與科展的工作。在實驗的過程中，我們常常做到晚上十一、二點，有時甚至連正餐都忘了要吃。但經過了一年多的實驗時間，我不但學習到如何由團隊的合作去解決未知的問題，也從親手作實驗中體會到科學的樂趣。這次實驗的完成，要特謝鄧明聖老師的指導，更要感謝實驗團隊裡與我同甘共苦的同學。謝謝你們!!

My name is Yin Shin-ming. I am a second grade in National Tainan First Senior High School. I have had a great interest in natural and science, and I also read many books that are related to it; my parents also took a liberal attitude toward my study, so I have developed the spirit of thinking independently by scientific way.

I was lucky to take part in science fair work under Mr. Deng's guidance when I was in first grade. In the process of our experiments, we usually did experiment until midnight; sometimes we even forgot to have our meal. After experimenting for 1 year, I not only learned how to solve the unknown problem by team cooperation, but also experience the delight of science by doing experiment myself. Finishing this experiment, I especially want to appreciate the guidance of Mr. Deng, and what's more, I want to thank the teammate who worked with me. Thank you all!!

作品名稱：利用奈米級的二氧化鈦(TiO₂)在紫外光下降解幾丁聚醣的研究

一、中文摘要

本實驗中利用二氧化鈦能在常溫下經紫外線催化，分解空氣中的水分子，產生自由基的特性，攻擊幾丁聚醣中碳與氧鍵結的部分，使 chitin 的分子量成功的從近 50000 降解至 3000 以下；並可利用照射時間的不同，降解出分子量不同的 chitin。此法不但大大排除利用化學法降解時廢液處理上的問題，而且還能利用照紫外光時間長短的不同來控制分子量的大小；又奈米級二氧化鈦(TiO₂)在紫外光在短短四個小時之內就有很好的降解效果，除了節省了反應所需的時間外，降解前後幾丁聚醣的濃度也很高，因此所需的成本也遠低於當今利用酵素降解的方法。

二、英文摘要

In the experiment, we used the properties of TiO₂ that can be catalyzed by UV rays and breaking the molecules of H₂O and produce free radicals, which free radicals can attack the chemical bond between carbon and oxygen in chitin, successfully degrading chitin's molecular weight from 50000 to 3000. We also use different shining times to degrade chitosan into different molecular weight. In this way, we not only readily solve the problem of treating waste liquids produced by chemical degradation, but also control the molecular weight by different UV ray shining time. For another thing, TiO₂ in the nanometer level has excellent effect on degradation within 4 hours under UV ray shining. It not only cut back the reaction time but also produced high concentration of the chitin after degradation. As a result, the cost is much lower than that of using enzyme to degrade chitin.

三、研究動機

幾丁聚醣(chitin)是具有無毒性，生物分解性與生物相容性的天然聚合物，在食品加工、醫藥、化妝品與生物科技上也有很大的應用空間。以往人們在對幾丁聚醣進行降解時，通常需要使用 CF₃COOH 或 CCl₃COOH 等強酸，且需要在高溫下才能進行反應，在操作的條件與廢液的處理上都十分不方便。較新的方法是利用已經商業化且大量生產的酵素，如纖維素酶(cellulase)、蛋白質分解酶(protease)、脂解酶(lipase)等進行處理，但酵素的成本過高，須較長的反應時間才能獲得較高的產率，且在酵素反應下產物的濃度十分的低，在萃取時也相對的提高了許多生產成本。筆者在偶然的機會將處理過的蟹殼幾丁質固體置於石綿心網上，竟然在數分鐘內像塑膠般融化，探討原因竟然是石綿心網上的某些金屬鹽所造成，因此筆者希望能透過這發現，用簡單的方法，在較低的溫度及不需大量的金屬離子的條件下以較高的反應速率對幾丁聚醣進行融化，再利用奈米級二氧化鈦(TiO₂)在紫外光的不同時間照射將其降解，並控制產物的分子量，以適合各種不同的應用領域。在相關的研究中，筆者也希望比較其跟筆者在實驗的發現有何異同。

二、研究目的

透過實驗，筆者想了解特定金屬離子與 pH 值對不同生物來源（蟹殼與金針菇）的幾丁聚醣的溶解以及在奈米級的 TiO₂ 存在下照射紫外線對降解與分子量的影響；並利用實驗的結果，探討如何利用反應時間來控制分子量的大小，以適合各種不同的應用領域。

三、測分子量的原理

溶液的滲透壓公式： $\pi = CRT = m/MV * RT$

其中 π 為滲透壓， m 為質量， M 為分子量， V 為體積， R 為常數=0.082， T 為絕對溫度

四、研究器材

1. 塑膠杯、燒杯、量筒、滴管、電子天平、玻璃管、玻棒、瓦斯爐、不鏽鋼鍋、磁攪拌器、紫外光燈、pH 儀
2. 螃蟹殼、金針菇、氫氧化鈉、鹽酸、雙氧水、草酸、奈米級的二氧化鈦(TiO_2)、二次純水

五、研究過程與方式

(一) 蟹殼幾丁聚醣的製備

取螃蟹殼約 100 個，用稀 NaOH 煮沸去除表面雜質與蛋白質，置於 HCl 中以去除 CaCO_3 後取出蟹殼加以脫色、還原，最後用濃 NaOH 浸泡一個月(常溫)

(二) 金針菇幾丁聚醣的製備

取乾燥之金針菇，用稀 NaOH 煮沸去除蛋白質與表面雜質；最後用濃 NaOH 浸泡一個月(常溫)。

(三) Mg^{2+} 離子對蟹殼幾丁聚醣溶解的影響

在醋酸溶液數量一定的條件下，分別將醋酸溶液及不同莫耳數的 Mg^{2+} 離子滴入蟹殼幾丁質中，加熱後觀察且記錄至使其溶解的溫度，再對其產物進行分子量的測量。

(四) Mg^{2+} 離子對金針菇幾丁聚醣溶解的影響

在醋酸溶液數量一定的條件下，分別將醋酸溶液及不同莫耳數的 Mg^{2+} 離子滴入金針菇幾丁質中，加熱後觀察且記錄至使其溶解的溫度，再對其產物進行分子量的測量。

(五) 蟹殼幾丁聚醣在不同醋酸溶液數量下溶解、降解的效果及其分子量之變化

在相同莫耳數的 Mg^{2+} 離子的條件下，調整溶液的醋酸溶液數量並加熱蟹殼幾丁質至能使其溶解的溫度並觀察在不同醋酸溶液數量下溶解的狀況及，再記錄其結果。

(六) 金針菇幾丁聚醣在不同醋酸溶液數量下溶解、降解的效果及其分子量之變化

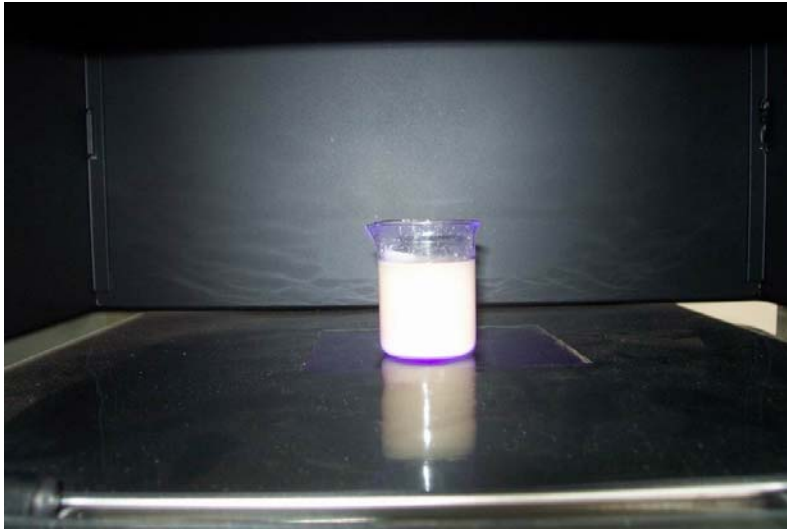
在相同莫耳數的 Mg^{2+} 離子的條件下，調整溶液的醋酸溶液數量並加熱金針菇幾丁質至能使其溶解的溫度並觀察在不同醋酸溶液數量下溶解的狀況，再記錄其結果。

(七) 利用奈米級二氧化鈦在紫外光的照射下降解蟹殼幾丁聚醣，並觀察在不同照射時間下對其分子量的影響

取溶於醋酸中之蟹殼幾丁聚醣 50ml，加入奈米級二氧化鈦 1g，用紫外線(312nm, 8W)分別照射 1~4 小時，使二氧化鈦催化紫外線分解空氣中的水分子，產生自由基，攻擊幾丁聚醣中碳與氧鍵結的部分使其降解。取出溶液後用高速離心機離心 5 分鐘後裝入玻璃管內。觀察並記錄在不同照射時間下所得的分子量。

(八) 利用奈米級二氧化鈦在紫外光的照射下降解金針菇幾丁聚醣，並觀察在不同照射時間下對其分子量的影響

取溶於醋酸中之金針菇幾丁聚醣 50ml，加入奈米級二氧化鈦 1g，用紫外線(312nm, 8W)分別照射 1~4 小時，使二氧化鈦經紫外線催化分解空氣中的水分子，產生自由基的特性，攻擊幾丁聚醣中碳與氧鍵結的部分使其降解。取出溶液後用高速離心機離心 5 分鐘後裝入玻璃管內。觀察並記錄在不同照射時間下所得的分子量。



利用奈米級二氧化鈦在紫外光的照射下降解金針菇幾丁聚醣



取出溶液後用高速離心機離心 5 分鐘

(九) 計算分子量的方法

$$\pi = CRT = m/MV \cdot RT$$

將照過 UV 的幾丁聚醣溶液裝入玻璃管內，在玻璃管的底部用約 3cm 的中空塑膠管套上一層醋酸纖維膜，再放入等濃度的醋酸溶液中。每天添加定量的水至醋酸溶液中，觀察當時氣壓、溫度、液面上高，再帶入以下式子即可得分子量。

$$\frac{\text{液面上高度} \times \text{溶液密度}}{\text{當時氣壓}} = \left[\frac{\text{chitin 所佔質量}}{\text{分子量}} \right] \times \left[\frac{1000}{\text{chitin 溶液體積} \times \text{修正質}} \right] \times 0.082 \times \text{絕對溫度}$$

其中修正值為(原始總長 + 液面上高 - 原始液面上高)/原始總長

當管內管外壓力達平衡，液面不再上升時，即可得管內 chitosan 之分子量。



自製測量分子量用儀器

(十)將照過紫外線的幾丁聚醣溶液滴入 NaOH，觀察在何種 pH 值下 chitosan 會再次沉澱

將照過紫外線的幾丁聚醣溶液加水稀釋 100 倍滴入 0.01M 之 NaOH，觀察並記錄在何種 pH 值下會再度產生沉澱

五、研究結果：

1. 找出蟹殼 chitin 溶解之最佳條件

下表為尋找蟹殼 chitin 溶解之最佳條件，分別在改變鎂離子滴數及醋酸數量下所測得的溫度與 pH 值

pH 值	醋酸(ml)	Mg ²⁺ (滴數)	水量(ml)	溫度(結果)
3.35	2	1	48	58 °C
3.30	2	3	48	55 °C
3.15	2	5	48	46 °C
2.90	2	7	48	48 °C
2.79	2	9	48	50 °C
3.75	1	1	49	88 °C
3.14	3	1	47	75 °C
2.75	160	15	400	85 °C

圖表一

<註一>:以上前七組溫度為 chitin 開始溶解的值，全部溶解的溫度大約是在 60 °C~62 °C 之間。如果 pH 上升或溫度下降，chitin 會再次沉澱。

<註二>:最後一組數據為開始大量製備時實際可溶的數值，且在冷卻至常溫後 chitin 溶液不會

出現沉澱。如果不加熱，只將幾丁質以相同濃度的酸與鎂離子置於常溫下，在約3小時後幾丁質可自然溶解，證明我們加熱只是加速溶解反應的過程。

2. 大量製備蟹殼幾丁聚醣溶液：

配置1M的醋酸160ml，2.5M的硝酸鎂15滴，加水至400ml，再加入體積為85ml的蟹殼。即體積為485ml，醋酸濃度0.33M的溶液，在加熱至約80℃時幾乎蟹殼皆溶解。

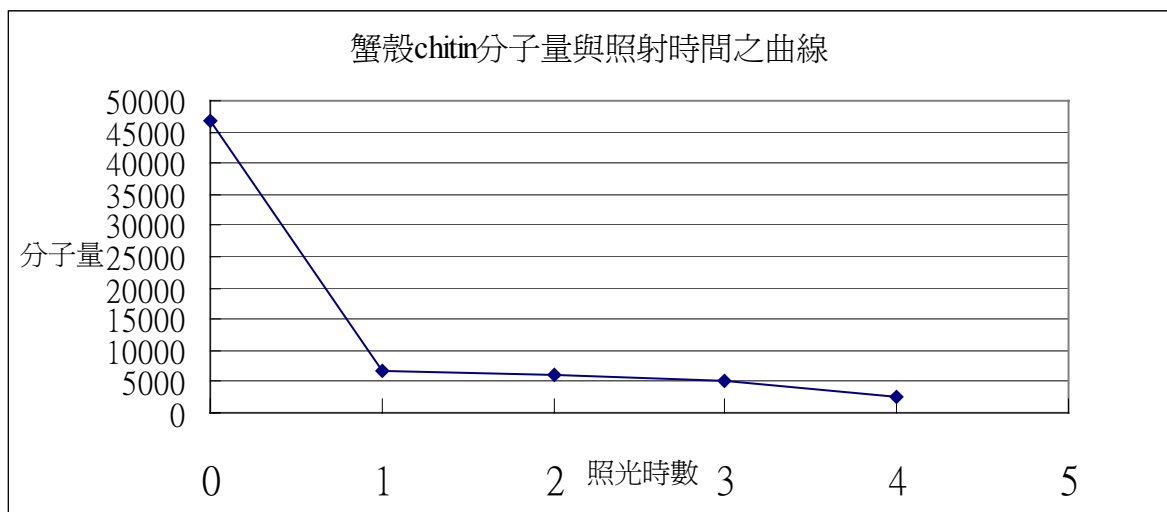
3. 測每25ml中蟹殼幾丁聚醣所佔有的質量

取出配好蟹殼幾丁聚醣溶液25ml，滴入氫氧化鉀使其產生白色沉澱，放到高速離心機離心5分鐘後取出含水之白色沉澱，裝入重51.64g的燒杯中置入烘箱。烘乾後稱得乾燥之蟹殼幾丁聚醣重1.16g

4. 測未照紫外線之蟹殼幾丁聚醣分子量

照光時數	氣壓	溫度	液面上高	溶液密度	原始總長	原液面上高	質量	溶液體積	修正值	分子量
0	1028.29	305	10.6	1	5.1	3.4	1.16	25	60.29	46677.38
1	1026.25	304.1	27.4	1	4.3	3.6	1.16	25	163.37	6631.52
2	1026.25	304.1	35.1	1	6.8	4.2	1.16	25	138.60	6101.86
3	1026.25	304.1	35.3	1	5.8	4.2	1.16	25	159.05	5287.23
4	1026.25	304.1	50.7	1	5.8	5.1	1.16	25	221.55	2642.76

圖表二



圖表三

5. 將照過紫外線的幾丁聚醣溶液滴入NaOH，觀察在何種pH值下chitin會再次沉澱

(1) 測已稀釋但未加入NaOH之chitin溶液pH值

照光時數	pH值
1hr	5.0
2hr	5.0
3hr	5.0
4hr	4.9

圖表四

(2) 測使照光 1~4hr 之 chitin 溶液產生沉澱的 NaOH 數量與 pH 值

照光時數	NaOH(0.01M)	pH 值
1hr	14.5ml	8.1
2hr	14.5ml	9.0
3hr	15ml	8.5
4hr	16ml	8.1

圖表五

10. 找出金針菇 chitin 溶解之最佳條件

- (1) 將泡在 NaOH 中的金針菇取出並洗至中性，放入 0.25M 之醋酸與約 2ml 的硝酸鎂內，加熱至 85°C，發現金針菇幾乎無法溶解(溶液保持澄清且無混濁或黏稠狀)
- (2) 將泡在 NaOH 中的金針菇取出並洗至中性，放入 0.5M 之醋酸與約 2ml 的硝酸鎂內，加熱至 85°C。取出部分溶液滴入飽和 NaOH，產生微量白色沉澱，數量約為同量蟹殼 chitosan 的一半。
- (3) 將泡在 NaOH 中的金針菇取出並洗至中性後加水至 1000ml，再加入醋酸 500ml 與硝酸鎂 10ml 並加熱至 85°C。金針菇 chitin 幾乎完全溶解，且溶液呈淡黃色之混濁狀液體。取少量溶液放入 KOH 則立即產生塊狀沉澱，證明金針菇 chitin 已成功溶解。

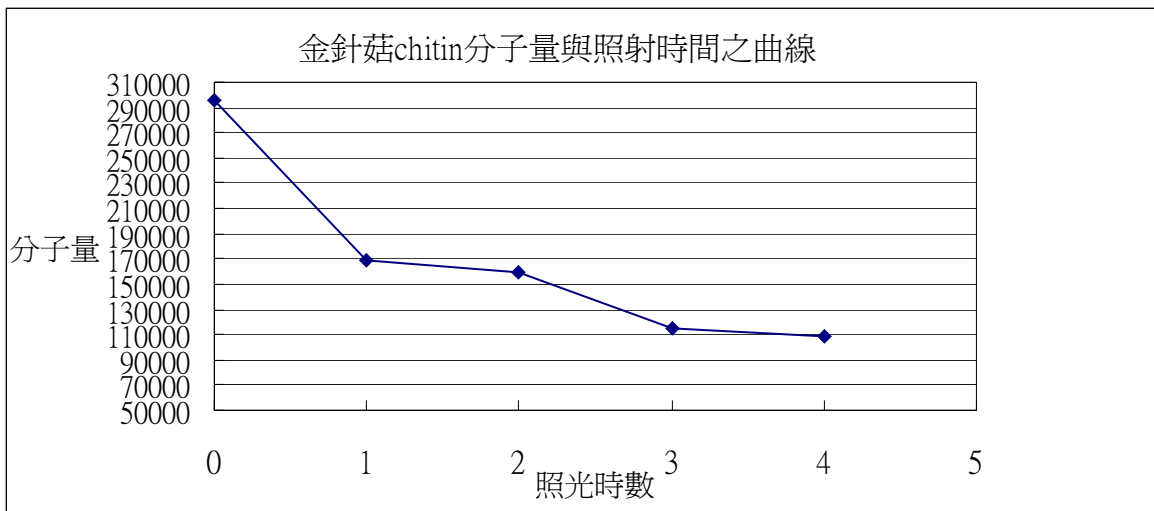
11. 測每 50ml 中金針菇幾丁聚醣所佔有的質量

取 50ml 過濾後 chitin 溶液，放入重 34.58g 燒杯中，置入烘箱內乾燥後總重 36.53g，即每 50ml 中金針菇 chitin 有 1.95g

12. 測未照紫外線之金針菇幾丁聚醣分子量

照光時數	氣壓	溫度	液面上高	溶液密度	原始總長	原液面上高	質量	溶液體積	修正值	分子量
0	1025.98	303.3	10.2	0.66	12.2	10.2	1.95	50	25.00	295648.5
1	1025.98	303.3	11.9	0.75	9.5	8.8	1.95	50	33.16	168137.5
2	1025.98	303.3	11.8	0.80	8.9	8.3	1.95	50	34.83	151326.9
3	1025.98	303.3	16.3	0.76	12.3	11.4	1.95	50	34.96	114893.4
4	1025.98	303.3	15.6	0.87	12.1	11.3	1.95	50	33.88	108197.6

圖表六



圖表七

六、研究討論：

1. 金針菇與蟹殼幾丁聚醣降解前後分子量與降解效果的探討

照射時數	0	1	2	3	4
蟹殼分子量	46677.38	6331.52	6101.86	5287.23	2642.76
每小時蟹殼分子量差	0	40345.86	229.66	814.63	2644.47
每小時蟹殼分子量減少比例	0	0.857929	0.07987	0.133505	0.50016171
金真菇分子量	295648.5	168137.5	151326.9	114893.4	108197.56
每小時金真菇分子量差	0	127511	16810.62	36433.44	6695.87878
每小時金真菇分子量減少比例	0	0.431293	0.052612	0.278722	0.05827904

圖表八

筆者由實驗結果發現，在奈米級二氧化鈦與 312nm, 8W 的紫外光的照射下，蟹殼幾丁聚醣的分子量可從 46677.38 降解至 2642.76，而金針菇幾丁聚醣可從 295648.5 降解至 108197.5 左右；這也說明了筆者的方法可以成功地由控制照射時間的不同降解出各種所需的分子量。

數據中又可發現，以第一小時的降解效果最為明顯，而且從圖表中曲線漸趨近於平狀況看來，可發現其降解效果似乎達到一個極限。推測這可能是由於我們的設備無法在照射紫外光時攪拌含有奈米級二氧化鈦的幾丁聚醣溶液，使得只有在底部的幾丁聚醣溶液才能與二氧化鈦產生的自由基反應，進而影響降解的效果。

2. 關於實驗中的降解與以往其他降解法的比較：

(1) 與強酸法的比較

以往人們在對幾丁聚醣進行降解時，通常需要使用 CF_3COOH 或 CCl_3COOH 等強酸，且需要在高溫下才能進行反應，在操作的條件與廢液的處理上都十分不方便。

而在筆者的實驗過程中，只分別用了 0.33M 的醋酸及少量的鎂就可使 chitin 在約 85℃ 時就溶成液態，且 chitin 在常溫下不會產生沉澱；並利用二氧化鈦能在常溫下經紫外線催化，

分解空氣中的水分子，產生自由基的特性，攻擊幾丁聚醣中碳與氧鍵結的部分，使 chitin 的分子量成功的從近 50000 降解至 3000 以下，並可利用照射時間的不同，降解出分子量不同的 chitin。由於二氧化鈦不會溶解，不但可以重複利用，在回收上也不會有對環境造成危害的影響，因此可大大排除在廢液處理上的問題。

(2) 與酵素降解法法的比較

用大量生產的酵素，如纖維素酶(cellulase)、蛋白質分解酶(protease)、脂解酶(lipase)等進行處理，則須較長的反應時間才能獲得較高的產率，且在酵素反應下產物的濃度十分的低，在萃取時也相對的提高了許多生產成本。

由於二氧化鈦能在常溫下經紫外線催化，分解空氣中的水分子，產生自由基來攻擊幾丁聚醣中碳與氧鍵結的部分，因此我們只需控制二氧化鈦照射紫外光的時間，在約 4 個小時內就可以將 chitin 降解至分子量 3000 以下，且產物也有一定的濃度。此法不但節省了反應所需的時間，也降低了許多萃取時縮需的成本。

(3) 與以銅離子為催化劑之氧化系統的降解法比較

若以銅離子 ascorbate 及紫外光、過氧化氫為氧化系統，雖可由氧化反應迅速將幾丁聚醣分解為較小的分子，但因為在製備水溶性幾丁聚醣或幾丁寡醣時的最終產物希望可以應用在醫藥、食品或化妝品上，所以也並不適用毒性較高的銅離子當催化劑。

二氧化鈦人體並無傷害，普遍為食品、日常生活用品、化妝品、醫藥、養殖業採用，因此降解後的產物也不會有跟銅離子一樣的毒性問題，而使降解後的產物更容易應用於各種不同的領域。

3. 關於幾丁聚醣的溶解

(1) 在蟹殼方面：

實驗中發現隨著溫度增加，皆有少量蟹殼不斷溶解，但最後還是有殘留蟹殼邊緣的白色部分，筆者猜想是因為蟹殼邊緣中含有較多比例的 chitin，而使其更堅固。(文獻上記載原本蟹殼中 chitin 與 chitosan 的比例是 6:1，而加入飽和 NaOH 並加熱後比例可達 1:1 左右。若 chitosan 佔總量的 40% 以上，且鏈長在加熱過程中變短，導致蟹殼能在常溫，約 28°C 下溶解；但我們很難找到能耐強鹼與高溫的容器，因此當時沒有加熱。)由於溶液認知的不同，使紀錄時只能得到大約的值。

(2) 在金針菇方面：

金針菇在溶解的過程中條件要比蟹殼來得嚴苛，而在冷卻後容易底部也會產生白色膠狀物質。推測是因為其分子量要比蟹殼來得大，因此不易溶解，冷卻後也較容易回到固態。

(3) 關於幾丁聚醣溶解的最佳條件：

在溶解的過程中，發現隨著鎂離子滴數的增加，開始溶解的溫度也會稍微的下降；但是影響幾丁聚醣溶解最主要的條件還是醋酸的數量：酸濃度越高，chitin 越容易溶解，溶解時的溫度也越低。

(4) 加熱與幾丁聚醣溶解的關係：

實驗中我們發現，如果不加熱，只將幾丁質以相同濃度的酸與鎂離子製於常溫下，在約 3 小時後幾丁質可自然溶解。代表我們加熱只是加速溶解反應的過程，也說明了我們做出的幾丁聚醣可以在常溫下保持溶解的狀態。

4. 蟹殼與金針菇幾丁聚醣在溶解、降解上的比較

實驗中發現，金針菇幾丁聚醣不論是在溶解或是降解的過程中，所需條件都要比蟹殼

幾丁聚醣來的嚴苛，而在同狀況降解後的分子量仍然比蟹殼大得多。由原始分子量也可以發現，在未降解前，金針菇幾丁聚醣的分子量是蟹殼幾丁聚醣的四倍之多，這很可能是蟹殼中 chitin 與 chitison 的比例是 6:1，而金針菇中 chitin 與 chitison 的比例比蟹殼更多。這很可能金針菇 chitin 不容易去溶解與降解的原因，也因此我們在溶解金針菇前還需用強鹼再次處理。

5. 關於幾丁聚醣分子量的測量與誤差

在幾丁聚醣的分子量測量方面，我們利用 $\pi=CRT=m/MV*RT$ 的原理，每天觀察溫度、氣壓及液面上高以計算出分子量。但由於螃蟹的品種，甚至是不同的螃蟹都會造成分子量的不同；而在測量溫度、氣壓與液面上高時，也會因目測產生誤差；因此在提供數據時，筆者只能提供一個範圍而不是精準的分子量。

七、研究的展望：

幾丁聚醣的價格在今日仍偏高，透過此實驗提供便宜及快速的製程，使幾丁質可真正應用在環保（廢水及重金屬吸附）及食品上，重要的是，可利用照紫外光時數的長短，提供不同分子量應用在不同的需求上。

筆者限於設備上的不足，只能利用單一功率及波長的紫外光燈進行降解的研究；也因為筆者的設備無法在照射紫外光時攪拌含有奈米級二氧化鈦的幾丁聚醣溶液，使得只有在底部的幾丁聚醣溶液才能與二氧化鈦產生的自由基反應，進而影響降解的效果。在將來相關的實驗，若能針對不同波長的紫外光對幾丁聚醣分子量降解效率作進一步的探討，並改善照射時溶液攪拌的問題，相信存在分子量的控制上能夠更成功，也能提供更精準的數值以便做更廣泛的應用。

八、參考文獻

1. 陳國誠，生物固定化技術與產業應用，一版一印，台灣，茂昌圖書有限公司，167、285 頁，2000 年 11 月。
2. 黃郁文、黃芊豪、楊順、吳政勳，科學作品彙編，一版，台灣，國立台南第一高級中學，21 頁，1999 年 8 月。
3. 陳信成，科學作品彙編，一版，台灣，國立台南第一高級中學，2000 年 8 月。
4. 林宜賢，以氧化降解法製備水溶性幾丁聚醣與幾丁寡醣之探討，國立海洋大學食品科學系碩士論文，2000 年