

2014 高雄市第 54 屆中小學科學展覽會 作品說明書

科（類）別： 農業及生物科技科

組 別： 高職組

作品名稱： 「醇」進健康

關鍵詞：木瓜酵素 蛋白質分解 硫酸銅沉澱加熱法

編號： 4501

摘要

水果中的酵素能夠分解過多的蛋白質，讓蛋白質對於我們的傷害降到最低。在教科書中，分析化學 II 第七章有提到分光光度計的原理跟構造，我們能夠用此儀器找出最大波長及最大吸光度；另外分析化學 I 第五章有提到重量分析沉澱法，運用其算法可求得我們檢驗蛋白質的硫酸銅重量，進而測得純蛋白質質量；分析化學實驗 II 中實驗二十六有提到 pH 計的校正方法，能夠用其儀器調整我們需要的酸鹼值。

取不同濃度的木瓜酵素，對於蛋白質的分解效果進行實驗討論。發現蛋白質溶液 20mL 加入木瓜酵素 10mL 時，放置時間 3 小時、溫度 40°C、pH=5 時的吸光度最好。



目錄

	頁次
摘要	I
目錄	II-III
圖目錄	IV
表目錄	V
壹、研究動機	1
貳、研究目的	1
參、研究設備及器材	1
3.1 實驗器材	1-2
3.2 實驗藥品	2
肆、研究過程或方法	2
4.1 實驗流程	2
4.2 實驗步驟	3
4.2.1 木瓜酵素萃取	3
4.2.2 蛋白質萃取	3-4
4.2.3 使用光電比色計找最大波長	4-5
4.2.4 使用 pH 計校正	5-6
4.2.5 藥品配製	6
4.2.5.1 氫氧化鈉溶液配製	6
4.2.5.2 鹽酸溶液配製	6
4.2.5.3 硫酸銅溶液的配製	6-7
4.6 檢驗肉汁中是否含有蛋白質	7
4.7 改變反應時間的實驗	7
4.7.1 固定蛋白質體積，不同濃度酵素實驗方法	7-8
4.7.2 固定試劑水體積，不同濃度酵素的空白試驗方法	8
4.8 改變反應溫度的實驗	8
4.8.1 固定蛋白質體積，不同濃度酵素實驗方法	8
4.8.2 固定試劑水體積，不同濃度酵素的空白試驗方法	8-9
4.9 改變反應酸鹼值的實驗	9
4.9.1 固定蛋白質體積，不同濃度酵素實驗方法	9
4.9.2 固定試劑水體積，不同濃度酵素的空白試驗方法	9-10

伍、研究結果10

 5.1 吸光度結果數據 10-13

 5.2 硫酸銅跟氫氧化鈉檢驗蛋白質重量13

陸、討論14

柒、結論14-15

捌、參考資料及其他 15-16



圖目錄

	頁次
圖一、過濾雜質，取得木瓜酵素	2
圖二、蛋白質萃取	3
圖三、分光光度計	4
圖四、pH 計校正	5
圖五、硫酸銅加熱法	6
圖六、改變反應時間	10
圖七、改變反應時間之空白試驗	10
圖八、改變反應溫度	11
圖九、改變反應溫度之空白試驗	11
圖十、改變反應酸鹼值	12
圖十一、改變反應酸鹼值空白試驗	12
圖十二、蛋白質檢驗方法	14



表目錄

	頁次
表一、實驗器材	1-2
表二、實驗藥品	2
表三、不同條件下的吸光度	9



壹、研究動機

現代外食主義的人越來越多，酵素不但可以維持人體的健康亦能改善飲食上的不均衡，對外食的人們有很大的幫助。人們偏重於速食，導致無形中攝取過多蛋白質，因酵素可分解體內的蛋白質，讓過多的蛋白質對人體的影響減到最低，對於我們的健康有更大的幫助，所以酵素對我們來說是不可或缺的。

貳、研究目的

- 一、探討不同濃度的酵素分解固定重量的蛋白質，在不同時間下有什麼影響？
- 二、探討不同濃度的酵素分解固定重量的蛋白質，在不同溫度下有什麼影響？
- 三、探討不同濃度的酵素分解固定重量的蛋白質，在不同酸鹼值下有什麼影響？
- 四、利用硫酸銅加熱沉澱法得知蛋白質重量。

參、研究設備及器材

一、實驗器材:

(表一、實驗器材)

名稱	規格	數量	名稱	規格	數量
刀子		1	濾紙、濾網		1
燒杯	1000mL*2 500mL*2 250mL*2 100mL*8 50mL*2	16	精秤天秤		1
藥杓		4	滴定管	50mL	1
玻棒		8	電熱板		1
量筒	100mL*1 10mL*1	2	溫度計	100°C	8
洗瓶		1	錐形瓶	250mL	2
吸管		8	球型吸量管	10mL	1

吸球		1	刻度吸量管	5mL*1 2mL*1	2
果汁機		1	分光光度計		1

二、實驗藥品

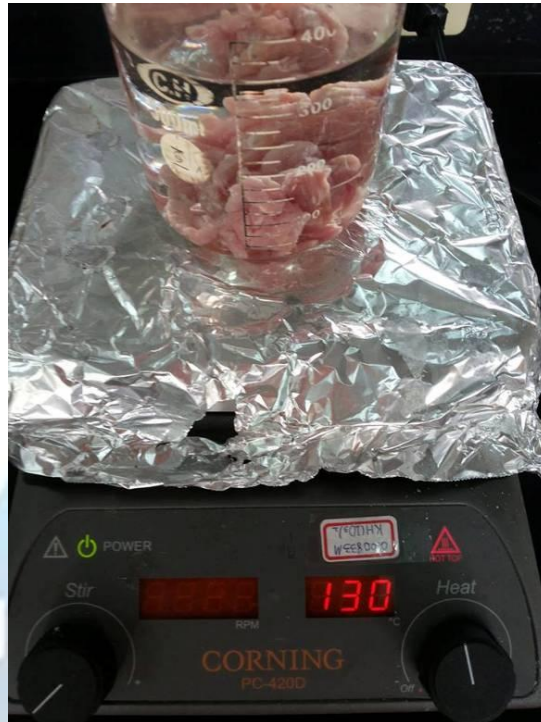
(表二、實驗藥品)

0.5M 氫氧化鈉(2 克+100mL 試劑水)	試劑水
0.5M 鹽酸 (2.10mL+50mL 試劑水)	木瓜 300 克
硫酸銅(4 克+80mL 試劑水)	生肉 50 克

肆、研究過程或方法

一、實驗流程：





(圖二、蛋白質萃取)

3、使用光電比色計找最大吸收波長

步驟 1：使用前先暖機一小時。

步驟 2：將一支比色管裝入試劑水 2.5mL 放入光電比色計中。

步驟 3：按 λ ，輸入波長後按 enter，以 750nm 的波長測量。

步驟 4：再按 blank 校正此波長對水的吸光度，數值應為 0。

步驟 5：取另一比色管裝入待測液體(木瓜+蛋白質)2.5mL 放入光電比色計中。

步驟 6：蓋上蓋子並記錄其吸光度。

步驟 7：每次減少 10nm 的波長向下測量。

步驟 8：重複步驟 4-7。

步驟 9：直到 λ 為 380nm 時數據開始大幅度跳動，故不繼續往下面波長測量。

步驟 10：發現在波長 400nm 時的吸光度最好，因此採用為我們的木瓜酵素分解蛋白質的最大吸收波長。



(圖三、分光光度計)

4、使用 pH 計校正

步驟 1：使用前先暖機五分鐘以上。

步驟 2：連接上探棒及電極。

步驟 3：以去離子水沖洗 pH 電極棒，以面紙輕輕吸乾水分。

步驟 4：將電極放入 pH=7 的緩衝溶液中校正。

步驟 5：按 CAL/MWAS 鍵，進入校正。

步驟 6：當 READY 出現時按 ENTER 鍵確認。

步驟 7：取下 pH=7 的緩衝溶液，以去離子水沖洗電極，以面紙輕輕吸乾水分。

步驟 8：在將電極放入 pH=4 的緩衝溶液中校正。

步驟 9：按 CAL/MWAS 鍵，進入校正。

步驟 10：當 READY 出現時按 ENTER 鍵確認，則校正完成。

步驟 11：取下 pH=4 的緩衝溶液，以去離子水沖洗電極，面紙輕輕吸乾水分。

步驟 12：校正完成後即可測量其 pH 值，每加一滴藥品均需攪拌均勻，並等待其 pH 值穩定，並紀錄 pH 值。



(圖四、PH 計校正)

5、藥品配製

(1)、氫氧化鈉(NaOH)溶液配製

- 步驟 1：以精秤天秤秤固體氫氧化鈉 2 克至燒杯中。
- 步驟 2：倒少許試劑水進入燒杯中。
- 步驟 3：以玻棒將氫氧化鈉攪拌至溶解。
- 步驟 4：倒入 100mL 的定量瓶定量到 100mL。得 0.5M 氫氧化鈉溶液。

(2)、鹽酸(HCl)溶液配製

- 步驟 1：以刻度吸量管吸取濃鹽酸 2.1mL 至燒杯中。
- 步驟 2：倒少許試劑水進入燒杯中。
- 步驟 3：以玻棒攪拌濃鹽酸。
- 步驟 4：倒入 50mL 的定量瓶定量到 50mL。得 0.5M 鹽酸溶液

(3)、硫酸銅(CuSO₄)溶液的配製

- 步驟 1：以精秤天秤秤無水硫酸銅 4 克至燒杯中。
- 步驟 2：以 100mL 量筒量取 80mL 水，加入裝有硫酸銅的燒杯中。
- 步驟 3：以玻棒加熱攪拌硫酸銅至溶解。



(圖五、硫酸銅加熱法)

6、檢驗肉汁中是否含有蛋白質

- 步驟 1：在澄清液中取 15mL 的肉汁置於 250mL 錐形瓶中，取兩瓶並標示 1、2。
- 步驟 2：將硫酸銅溶液倒入 50mL 滴定管中。
- 步驟 3：左手控制滴定管，右手搖晃錐形瓶。
- 步驟 4：硫酸銅滴入肉汁各 27.5mL 後，均有明顯變色與沉澱物生成，故停止。
- 步驟 5：第一瓶肉汁再加入 10mL 的 0.5M 氫氧化鈉。
- 步驟 6：再將第一、二瓶肉汁放置電熱板上加熱至沸騰。
- 步驟 7：沉澱物產生時，以濾紙過濾出沉澱物。
- 步驟 8：秤取濾紙上的沉澱物，為純蛋白質與滴入的銅重量之總和。

7、改變反應時間的實驗

(1)、固定蛋白質體積，不同濃度酵素實驗方法

- 步驟 1：取四個 100mL 的燒杯，並標示其濃度。
- 步驟 2：以 5mL 刻度吸量管吸取木瓜酵素分別 2mL、3mL、5mL、10mL 進入已標示好的燒杯內。

- 步驟 3：再以 10mL 球型吸量管吸取蛋白質各 20mL 進入標示好的燒杯內。
- 步驟 4：以玻棒均勻攪拌。
- 步驟 5：以滴管吸取溶液 2.5mL 放入比色管中，以分光光度計進行測量吸光度。
- 步驟 6：按 λ 輸入最大波長 400nm，放入試劑水校正，分別放入不同濃度酵素對固定蛋白質的吸光度，並記錄之。
- 步驟 7：每隔一個小時，測量一次吸光度，分別紀錄之。

(2)、固定試劑水體積，不同濃度酵素的空白實驗方法

- 步驟 1：取四個 100mL 的燒杯，並標示其濃度。
- 步驟 2：以 5mL 刻度吸量管吸取木瓜酵素分別 2mL、3mL、5mL、10mL 進入已標示好的燒杯內。
- 步驟 3：再以 10mL 球型吸量管吸取試劑水各 20mL 進入標示好的燒杯內。
- 步驟 4：以玻棒均勻攪拌。
- 步驟 5：以滴管吸取溶液 2.5mL 放入比色管中，以分光光度計進行測量吸光度。
- 步驟 6：按 λ 輸入最大波長 400nm，放入試劑水校正，分別放入不同體積試劑水對固定蛋白質的吸光度，並記錄之。
- 步驟 7：每隔一個小時，測量一次吸光度，分別紀錄之。

8、改變反應溫度的實驗

(1)、固定蛋白質體積，不同濃度酵素實驗方法

- 步驟 1：取四個 100mL 的燒杯，並標示其濃度。
- 步驟 2：以 5mL 刻度吸量管吸取木瓜酵素分別 2mL、3mL、5mL、10mL 進入已標示好的燒杯內。
- 步驟 3：再以 10mL 球型吸量管吸取蛋白質各 20mL 進入標示好的燒杯內。
- 步驟 4：以玻棒均勻攪拌，此時溫度為 20 度。
- 步驟 5：以滴管吸取溶液 2.5mL 放入比色管中，以分光光度計進行測量吸光度。
- 步驟 6：按 λ 輸入最大波長 400nm，放入試劑水校正，分別放入不同體積試劑水對固定蛋白質的吸光度，並記錄之。
- 步驟 7：插入 100°C 的溫度計，以電熱板加熱，每上升 5°C 測量一次並記錄之。

(2)、固定試劑水體積，不同濃度酵素的空白試驗方法

- 步驟 1：取四個 100mL 的燒杯，並標示其濃度。
- 步驟 2：以 5mL 刻度吸量管吸取木瓜酵素分別 2mL、3mL、5mL、10mL 進入已標

示好的燒杯內。

步驟 3：再以 10mL 球型吸量管吸取試劑水各 20mL 進入標示好的燒杯內。

步驟 4：以玻棒均勻攪拌，此時溫度為 20°C。

步驟 5：再以吸管吸取溶液 2.5mL 放入比色管中，以分光光度計進行測量吸光度。

步驟 6：按 λ 輸入最大波長 400nm，放入試劑水校正，分別放入不同體積試劑水對固定蛋白質的吸光度，並記錄之。

步驟 7：插入 100°C 溫度計，以電熱板加熱，每上升 5°C 測量一次並記錄之。

9、改變反應酸鹼值的實驗

(1)、固定蛋白質體積，不同濃度酵素實驗方法

步驟 1：取八個 100mL 的燒杯，並標示其濃度。

步驟 2：以 5mL 刻度吸量管吸取木瓜酵素分別 2mL、3mL、5mL、10mL 進入已標示好的四個燒杯內。

步驟 3：再以 10mL 球型吸量管吸取蛋白質各 20mL 進入標示好的四個燒杯內。

步驟 4：以玻棒均勻攪拌。

步驟 5：再把每一個燒杯中的液體分成兩份，一份加酸為酸性溶液，一份加鹼為鹼性溶液。

步驟 6：以 pH 計測量其酸鹼值(pH 值 7 左右)

步驟 7：以滴管加入配製好的 0.5M 鹽酸及 0.5M 氫氧化鈉，調整其酸鹼值。

步驟 8：調整分別 pH5、6、7、8、9、10。

步驟 9：以滴管吸取溶液 2.5mL 放入比色管中，以分光光度計進行測量吸光度。

步驟 10：按 λ 輸入最大波長 400nm，放入試劑水校正，分別放入不同濃度酵素對固定蛋白質的吸光度，並記錄之。

(2)、固定試劑水體積，不同濃度酵素的空白試驗方法

步驟 1：取八個 100mL 的燒杯，並標示其濃度。

步驟 2：以 5mL 刻度吸量管吸取木瓜酵素分別 2mL、3mL、5mL、10mL 進入已標示好的四個燒杯內。

步驟 3：再以 10mL 球型吸量管吸取試劑水各 20mL 進入標示好的四個燒杯內。

步驟 4：以玻棒均勻攪拌。

步驟 5：再把每一個燒杯中的液體分成兩份，一份加酸為酸性溶液，一份加鹼為鹼性溶液。

步驟 6：以 pH 計測量其酸鹼值(pH 值 7 左右)

步驟 7：以滴管加入配製好的 0.5M 鹽酸及 0.5M 氫氧化鈉，調整其酸鹼值。

步驟 8：調整分別 pH5、6、7、8、9、10。

步驟 9：再以吸管吸取溶液 2.5mL 放入比色管中，以分光光度計進行測量吸光度。

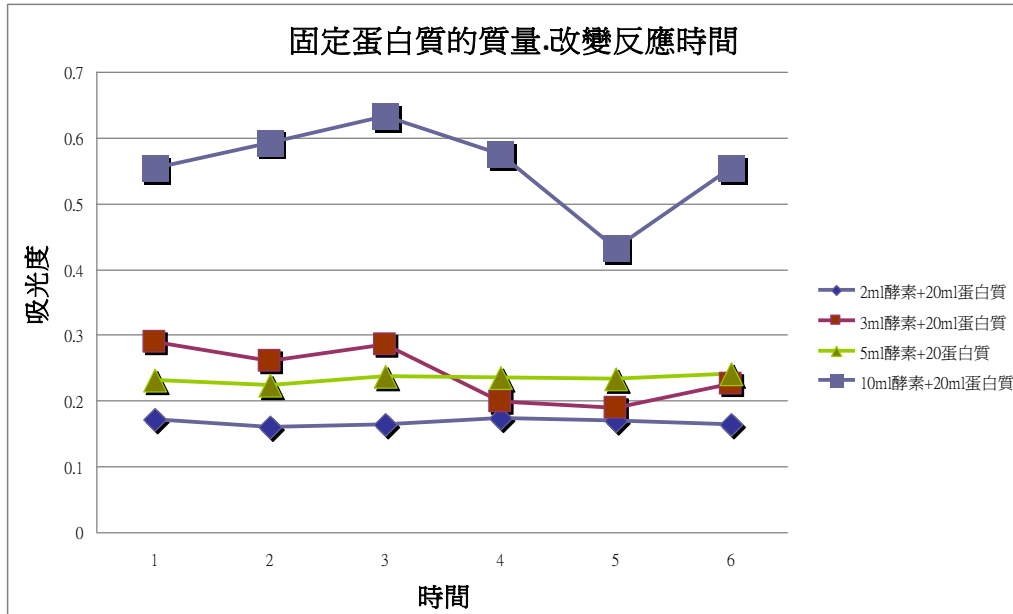
步驟 10：按 λ 輸入最大波長 400nm，放入試劑水校正，分別放入不同濃度酵素對固定蛋白質的吸光度，並記錄之。

伍、研究結果

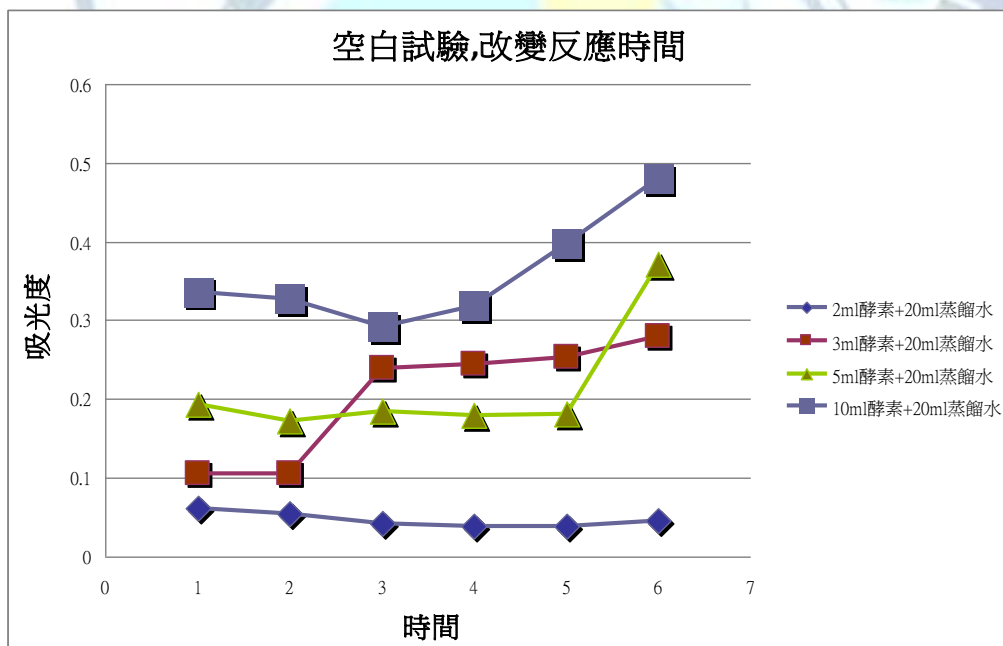
一、吸光度結果數據

(表三、不同條件下的吸光度)

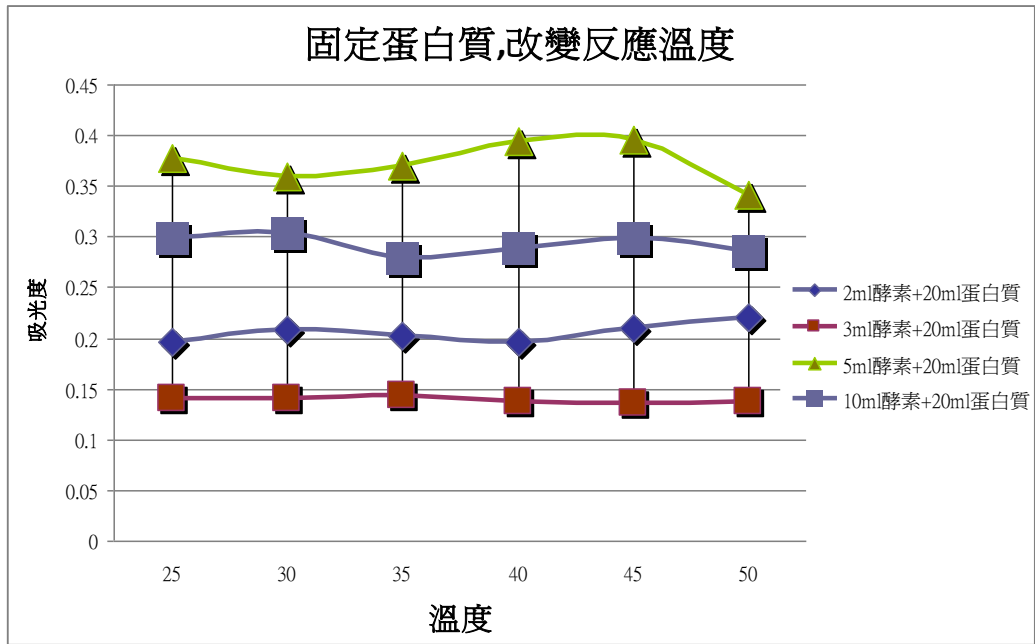
變因		最大吸收波長(400nm)							
		實驗組				對照組			
		2mL 酵 素+20mL 蛋白質	3mL 酵 素+20mL 蛋白質	5mL 酵 素+20mL 蛋白質	10mL 酵 素+20mL 蛋白質	2mL 酵 素+20mL 蒸餾水	3mL 酵 素+20mL 蒸餾水	5mL 酵 素+20mL 蒸餾水	10mL 酵 素+20mL 蒸餾水
改變反應時間 (小時)	1	0.169	0.213	0.100	0.519	0.062	0.106	0.193	0.336
	2	0.171	0.290	0.231	0.553	0.055	0.105	0.172	0.328
	3	0.160	0.361	0.224	0.592	0.043	0.240	0.185	0.292
	4	0.163	0.286	0.238	0.632	0.039	0.244	0.179	0.319
	5	0.173	0.199	0.235	0.574	0.038	0.234	0.181	0.398
	6	0.170	0.189	0.234	0.432	0.046	0.279	0.371	0.481
改變反應溫度 ($^{\circ}\text{C}$)	25	0.196	0.140	0.377	0.299	0.087	0.138	0.217	0.433
	30	0.208	0.141	0.359	0.304	0.093	0.147	0.216	0.448
	35	0.202	0.144	0.370	0.279	0.094	0.158	0.118	0.421
	40	0.197	0.137	0.394	0.289	0.170	0.160	0.211	0.440
	45	0.210	0.136	0.395	0.299	0.201	0.160	0.217	0.429
	50	0.223	0.138	0.342	0.286	0.208	0.159	0.250	0.512
改變酸鹼值 (pH)	5	0.179	0.107	0.144	0.135	0.161	0.259	0.250	0.424
	6	0.142	0.088	0.13	0.105	0.154	0.251	0.224	0.394
	7	0.066	0.038	0.098	0.081	0.140	0.229	0.208	0.376
	8	0.046	0.033	0.092	0.071	0.139	0.233	0.201	0.382
	9	0.053	0.054	0.098	0.08	0.137	0.229	0.206	0.384
	10	0.066	0.051	0.096	0.076	0.142	0.234	0.214	0.386



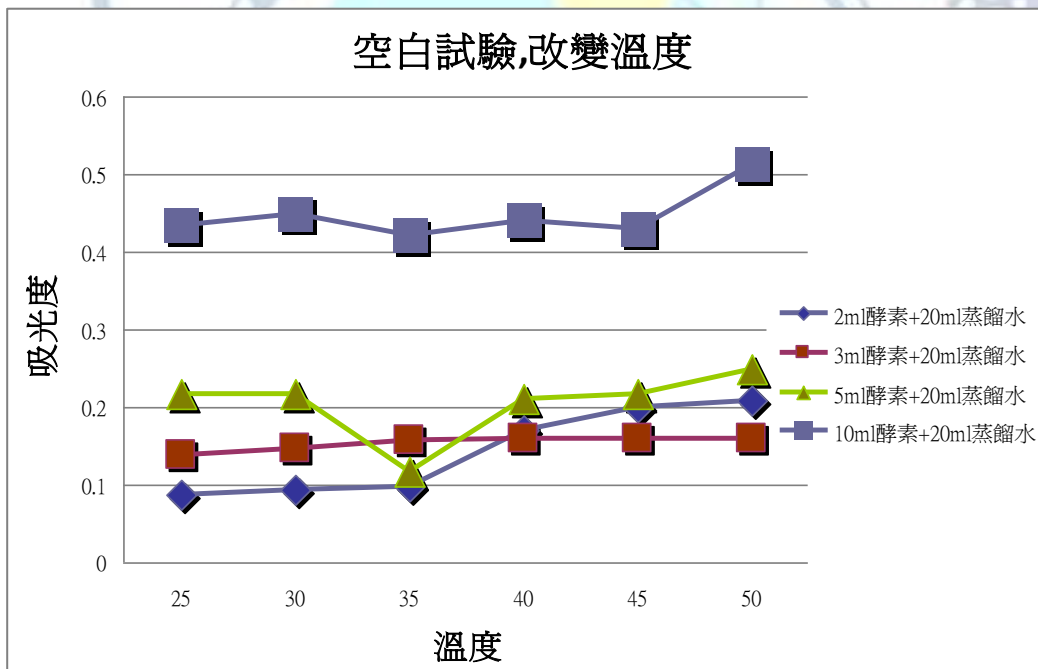
(圖六、改變反應時間)



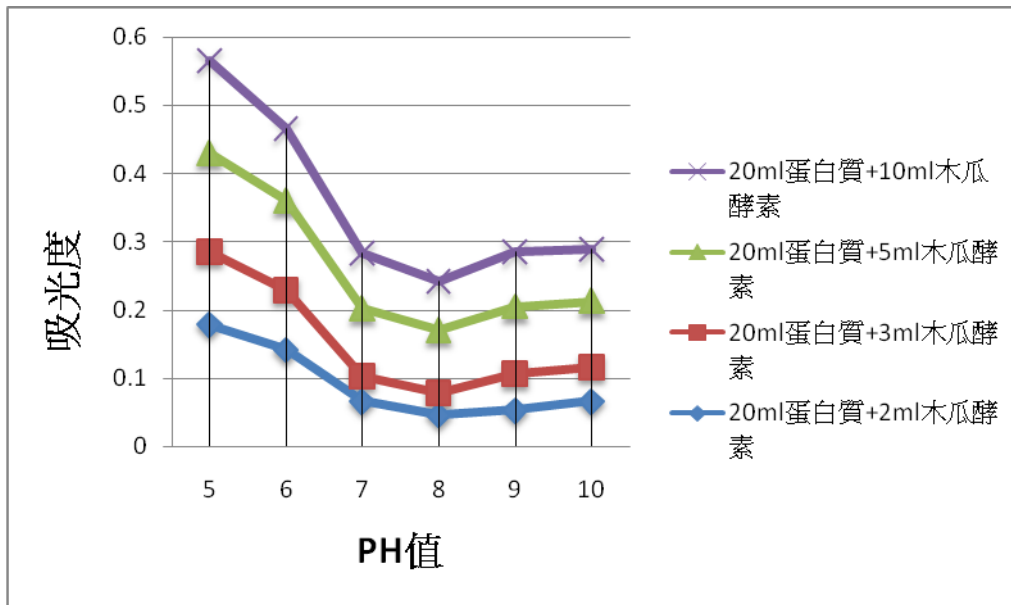
(圖七、改變反應時間之空白試驗)



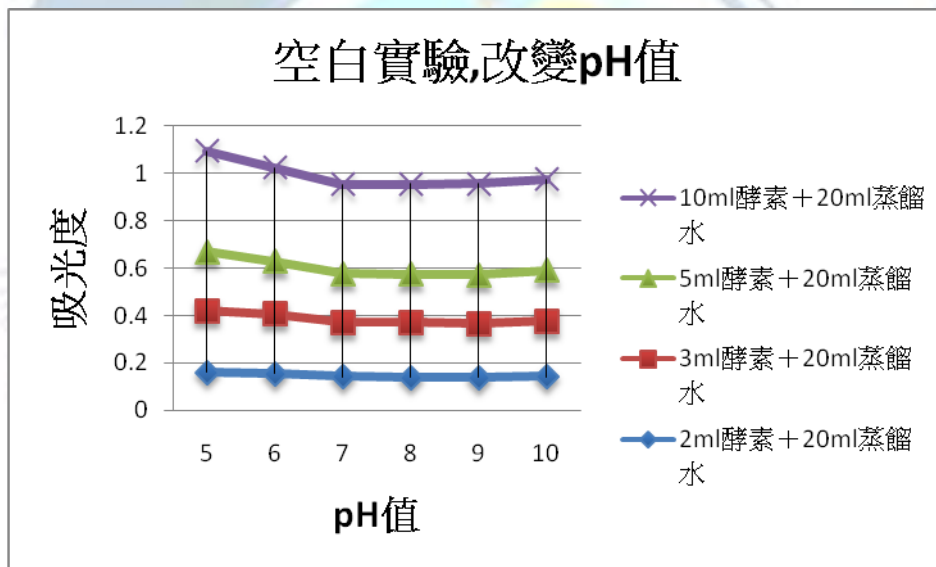
(圖八、改變反應溫度)



(圖九、改變反應溫度之空白試驗)



(圖十、改變反應酸鹼值)



(圖十一、改變酸鹼值空白試驗)

二、硫酸銅跟氫氧化鈉檢驗蛋白質重量

1、依照研究過程五的步驟，第一瓶的實驗結果烘乾後得沉澱物 1.1724 克，其中含銅的重量為 0.528 克，含鈉的重量 0.002875 克。

2、依照研究過程五的步驟，第二瓶的實驗結果烘乾後得沉澱物 0.8626 克，其中含銅的重量為 0.528 克。

陸、討論

一、相同量硫酸銅，滴入相同量蛋白質，相同加熱溫度跟時間，添加氫氧化鈉會增加沉澱出蛋白質的量，是因為鹼性物質能讓溶液中蛋白質可以完全沉澱出來，未添加鹼性物質的溶液中還會含有少許蛋白質沒有沉澱，酸性物質能否將溶液中未沉澱出來的蛋白質沉澱？

二、經實驗發現，使用紗布過濾所得之濾液較澄清，使用濾紙所得之濾液較混濁，且濾紙孔隙有各種大小，不同孔隙大小的濾紙會有不同的分離效果。在未知木瓜酵素分子之大小之前就直接取用，所得之結果是有疑慮的。應使用分析化學實驗第一冊的實驗十五的抽氣過濾方法配合不同孔隙濾布再次實驗。

三、尚未確定本實驗確實是酵素分解蛋白質，而不是蛋白質分解酵素。可使用其他肉類或其他酵素含量較少的水果作對照比較。

四、溫度 40°C ， $\text{pH}=5$ ，反應時間 3 小時的部分近似於人體內消化器官的狀態，此部份可做更詳細的實驗。如：時間可切割的更細， pH 值之調整可更精細，溫度也可上下微調等。

柒、結論

一、分光光度計分為兩種，一種為產生紫外光的氫燈，提供之波長為 $160\text{nm}\sim 380\text{nm}$ ，另一種為產生可見光的鎢絲燈，提供之波長為 $350\text{nm}\sim 2500\text{nm}$ ，當實驗波長為 380nm 時數據開始大幅度跳動，故不往下測，故能知道此台分光光度計為可見光的鎢絲燈。

二、發現在波長 400nm 的吸光度最好，故為我們要找的最大波長。

三、德國物理學家比爾發現吸光度與濃度成正比。

四、檢驗蛋白質重量時，加硫酸銅進入肉汁中，發現有淡紫色的顏色出現，表示裡面含有蛋白質。

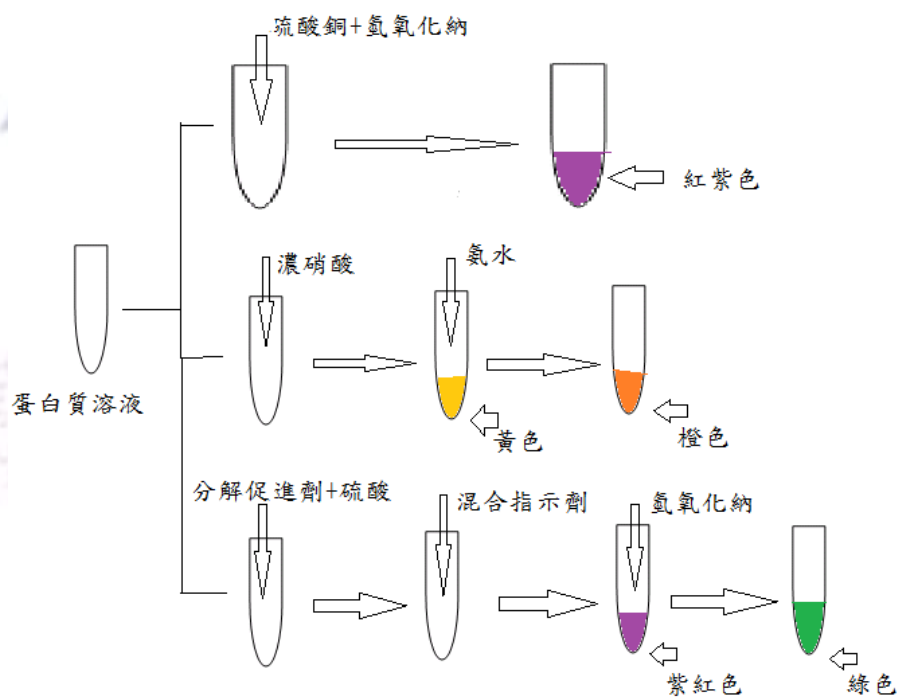
五、加入硫酸銅跟氫氧化鈉的順序並不會影響肉汁變色，皆會產生紫色。

六、檢驗蛋白質時，加熱過程中發現，添加氫氧化鈉那瓶能夠明顯看出沉澱物。

七、檢驗蛋白質時，所添加的氫氧化鈉僅只是為了提供鹼性環境，故可以其他如氫氧化鉀所替代，可以檢測所有蛋白質，肉類的含氮係數為 6.25。

八、檢驗蛋白質時，蛋白質的肽鍵在鹼性環境下能與銅離子結合成紫色，故紫色的顏色深淺與蛋白質的濃度成正比。

九、檢驗蛋白質的方法，其中圖中分解指示劑配製方法為硫酸銅：硫酸鉀=1：4，混合指示劑為甲基紅+亞甲藍。



(圖十二、蛋白質檢驗方法)

捌、參考資料及其他

一、蔡永昌、江孟玲 (2011)。分析化學 I。新北市：台科大圖書。

二、蔡永昌、江孟玲 (2012)。分析化學 II。新北市：台科大圖書。

三、蔡永昌、江孟玲（2012）。分析化學實驗 II。新北市：台科大圖書。

四、曲柏勳(民 102)。酵果十足酵 CC~探討常見水果之維生素 C、澱粉酶、蛋白酶、脂肪酶的含量關係及其活性~。中華民國第 53 屆中小學科學展覽會參展作品專輯。2014 年 2 月 13 日，取自：
<http://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/53/pdf/080211.pdf>

五、潘芃諭(民 96)。情「豆」初開，「酵」一下！。中華民國第 47 屆中小學科學展覽會參展作品專輯。2014 年 2 月 13 日，取自：
<http://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/47/high/031706.pdf>

六、孫以倫(民 90)。你被捕了-蛋白質？。中華民國第 41 屆中小學科學展覽會參展作品專輯。2014 年 2 月 13 日，取自：
<http://science.ntsec.edu.tw/Science-Content.aspx?cat=51&a=6821&fld=&key=&isd=1&icop=10&p=1&sid=372>

七、雙縮脲試劑(2013)。維基百科，自由的百科全書。2014 年 3 月 14 日，取自：
<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E5%8F%8C%E7%BC%A9%E8%84%B2%E8%AF%95%E5%89%82>

八、食品中粗蛋白之測定(97)。食品檢驗分析乙級技術士技能檢定術科測試應檢參考資料。2014 年 3 月 15 日，取自：
http://web1.labor.gov.tw/management/sitemap_upload_file/iw/exambank/exambank1_97/092002.pdf

九、魏明通(無日期)。食的化學。2014 年 3 月 15 日，取自：
<http://culture.yuntech.edu.tw/lian/data/%25E5%258C%2596%25E5%25AD%25B8%25E8%2588%2587%25E4%25BA%...>