

# 2024年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

## 國中組 成果報告表單

題目名稱: 波光鱗尋-魚鱗萃取溫度對膠原蛋白還原力的影響

### 一、摘要:

本研究探討魚鱗萃取膠原蛋白的溫度對膠原蛋白的還原力是否有影響。我們做了兩個面向的實驗，先以雙縮脲法確認不同溫度下萃取的膠原蛋白濃度，接著將不同溫度萃取的魚鱗膠原蛋白做赤血鹽還原實驗。我們發現在80°C萃取的膠原蛋白濃度高，且相較萃取溫度在50°C-100°C區間萃取的膠原蛋白，有極佳的還原能力。高溫萃取的確對膠原蛋白的還原能力有相當的破壞性，推測可能是破壞了膠原蛋白本身結構，以至於這樣的結果。

### 二、探究題目與動機

在現代生活中，營養具有很大的重要性，而蛋白質作為人體不可或缺的基本營養素之一，其來源與含量一直受到關注。魚類是廣泛消費的食品之一，而魚鱗作為魚身的一部分，可能含有豐富的蛋白質。本實驗旨在透過分光光度計和雙縮脲試劑的應用，探究萃取的溫度是否影響膠原蛋白萃取的濃度及其還原力的影響。

### 三、探究目的與假設

關於相關研究，我們發現各項有關魚鱗膠原蛋白萃取的研究皆使用100度的高溫隔水加熱，然而膠原蛋白在高溫情況下會變性，進而影響膠原蛋白的還原能力。透過此研究，我們希望探討萃取溫度對膠原蛋白是否有影響。

#### 四、探究方法與驗證步驟

##### 研究架構

不同溫度魚鱗膠原蛋白萃取  
50°C、60°C、70°C  
80°C、90°C、100°C

魚鱗萃取膠原蛋白  
的定量測定  
雙縮脲法  
(Biuret法)

利用Beer-Lambert law  
算出濃度

魚鱗萃取膠原蛋白  
還原力測定  
(Reducing power assay)  
赤血鹽還原法

吸收光譜測定後  
與標準品比較



秤量5g魚鱗



加入50ml純水



恆溫槽達定溫後放入萃取杯



煮1hr後拿出過濾

#### 膠原蛋白含量測定-雙縮脲試驗

試驗目的: 檢測魚鱗萃取液中的膠原蛋白含量、為了確認存在肽鍵。

原理: 肽的存在導致銅 (II) 離子的淡紫色配位化合物的形成(當溶液為鹼性時)。還可以記錄到紫色的強度以及因此在 540 nm 處的吸收與給定分析物中的蛋白質濃度成正比(作為 Beer-Lambert 定律的結果)

實驗操作:

1. 魚膠原蛋白標準品製備:

(1)1%膠原蛋白標準品、10%膠原蛋白 (2)

標準品放入分光光度計以540nm 波長測定吸收度、製作標準品檢量線

2. 進行雙縮脲試驗:

(1)取三支乾淨乾燥的試管, 各加入3ml的測試溶液、Biuret 試劑3毫升 (2)

用力搖晃配料, 靜置 5 分鐘, 觀察顏色變化 (3)放

入分光光度計以540nm 波長測定吸收度 (4)利用

Beer-Lambert law 算出濃度。

### 還原力測定

試驗目的: 了解膠原蛋白還原力

原理: 樣品中所含的抗氧化劑會將赤血鹽還原成黃血鹽後, 再與鐵離子作用, 生成普魯士藍, 並以普魯士藍生成量為指標, 量測其最大吸收波長700 nm 之吸光值, 吸光值越高, 還原力越強。

膠原蛋白待測物製備: 將所有溫度萃取出來的膠原蛋白液稀釋至同一濃度(0.018%)

實驗操作:

(1)取一個微量試管, 加入0.5 mL 膠原蛋白待測物或標準品溶液 (2)

加入0.125 mL 0.2 M 磷酸緩衝液(pH = 6.6)和0.125 mL 1% 赤血鹽溶液於管中(3)在

50°C 的環境下進行反應20分鐘。 (4)將微

量試管置於冰浴中迅速冷卻。冷卻後, 在室溫下加入0.125 mL 10%三氯醋酸溶液,

然後以5000 rpm 的速度離心10分鐘

(5)從上清

液中取出0.5 mL, 轉移至另一個微量試管中, 加入0.5 mL 水, 最後加入0.1 mL 0.1% 氯化鐵溶液

(6)10分鐘後,

使用分光光度計在波長為700 nm 下測定其吸光值

(7)以維生素 C

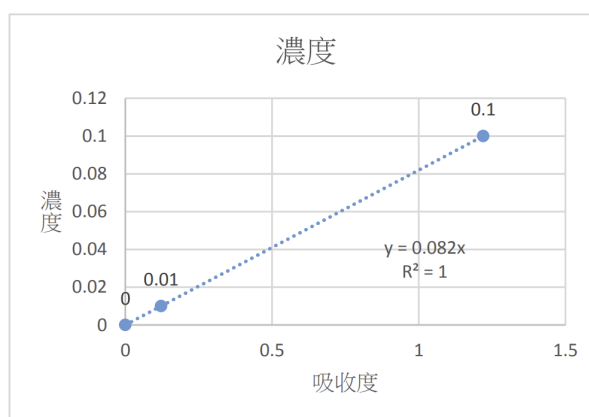
(L-ascorbic acid) 為標準品, 製作檢量線, 以計算膠原蛋白待

## 五、結論與生活應用

### 一、膠原蛋白含量測定-雙縮脲試驗

#### 1. 魚膠原蛋白標準品檢量線

魚膠原蛋白	濃度	吸收度
	0	0
	1%	0.122
	10%	1.22



#### 2. 待測膠原蛋白

魚鱗萃取液	溫度	吸收度	換算濃度	溫度	吸收度	換算濃度	溫度	吸收度	換算濃度
1	50°C	0.217	0.017794	60°C	0.379	0.031078	70°C	1.211	0.099302
2		0.226	0.018532		0.391	0.032062		1.224	0.100368
3		0.229	0.018778		0.38	0.03116		1.211	0.099302
4		0.215	0.01763		0.387	0.031734		1.214	0.099548
5		0.21	0.01722		0.386	0.031652		1.22	0.10004
6		0.226	0.018532		0.378	0.030996		1.226	0.100532
7		0.224	0.018368		0.391	0.032062		1.228	0.100696
8		0.221	0.018122		0.385	0.03157		1.216	0.099712
平均值			0.018122			0.031539			0.099938

魚鱗萃取液	溫度	吸收度	換算濃度	溫度	吸收度	換算濃度	溫度	吸收度	換算濃度
1	80°C	1.246	0.102172	90°C	1.295	0.10619	100°C	1.332	0.109224
2		1.238	0.101516		1.306	0.107092		1.336	0.109552
3		1.25	0.1025		1.318	0.108076		1.34	0.10988
4		1.249	0.102418		1.307	0.107174		1.325	0.10865
5		1.25	0.1025		1.31	0.10742		1.347	0.110454
6		1.248	0.102336		1.317	0.107994		1.357	0.111274
7		1.26	0.10332		1.311	0.107502		1.351	0.110782
8		1.258	0.103156		1.307	0.107174		1.347	0.110454
平均值			0.10249			0.107328			0.110034

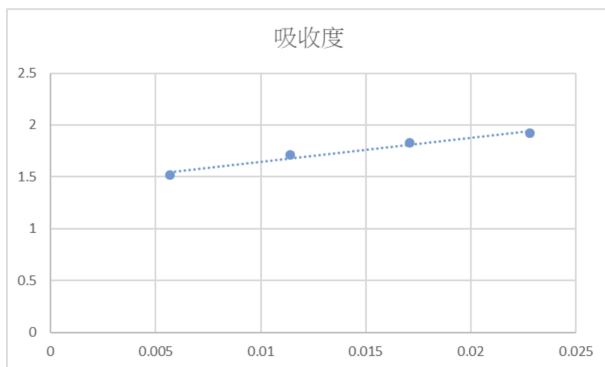
## 二、還原力測定

### 1. 維生素 C 標準品檢量線製作:

首先，我們需要將濃度單位統一為莫耳濃度(M)，因為 Beer-Lambert 定律中吸光度和莫耳濃度之間的關係是線性的。1 ppm = 1 mg/L，因此 1000 ppm = 1000 mg/L = 1 g/L。對於維生素 C(化學名為抗壞血酸，分子式為 C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)，其莫耳質量為約 176.12 g/mol，因此 1 g/L 的維生素 C 溶液約為 0.00568 M。類似地，2000 ppm 的維生素 C 溶液約為 0.0114 M，3000 ppm 的約為 0.0171M，4000 ppm 的約為 0.0228 M。

維生素 C 檢量線	濃度(M)	吸收度(nm)	濃度(M)	吸收度(nm)	濃度(M)	吸收度(nm)	濃度(M)	吸收度(nm)
	0.00568	1.534337	0.0114	1.676497	0.0171	1.84234	0.0228	1.880574
		1.507952		1.677136		1.827583		1.901356
		1.534083		1.727052		1.815398		1.943046
		1.509076		1.767711		1.826651		1.962471
平均值	1.521362	1.712099	1.827993	1.921862				

由此可以找到該條檢量線公式為  $A=22.96 \cdot C+1.39808$ (A=吸收度, C=濃度)



### 2. 將待測膠原蛋白調整成同一濃度(0.018M)後，在700nm 的吸收度為:

溫度	吸收度	溫度	吸收度	溫度	吸收度	溫度	吸收度	溫度	吸收度	溫度	吸收度
50	0.00616	60	-0.0087	70	0.00334	80	0.051369	90	-0.00668	100	0.011858
	0.005412		-0.00845		0.00365		0.051095		-0.00742		0.012235
	0.005202		-0.00921		0.003416		0.051525		-0.00778		0.011968
平均	0.005591		-0.00879		0.003471		0.05133		-0.00729		0.01202

## 參考資料

一、[維基教科書](#)

二、[ChemicalBook。](#)

三、廖韋俐、簡筱潔。節能簡易高效率膠原蛋白萃取法--海水魚淡水魚魚鱗結構比較、膠原蛋白萃取率及螢光效能分析。中華民國第59屆中小學科學展覽會作品說明書

四、[chemistrylearner 。](#)

五、[Derivation of Beer Lambert Law。BYJU'S。](#)

六、洪淑玲。深色膠原蛋白抗氧化能力之探討。朝陽科技大學應用化學系