

2022 年【全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

高中（職）組 成果報告表單

題目名稱：牛奶知多少 — 牛奶中的蛋白質檢測

一、摘要：

牛奶是國內是受歡迎的商品，隨著食品工業的進步，不肖廠商可能會利用牛奶摻雜物來降低成本，以欺騙消費者是普通牛奶，並對消費者健康造成危害。因此，我們需要更好的分析方法來檢測欺詐行為，目前檢測牛奶的方法既昂貴又耗時，我們實驗中觀測再加入不同藥品，如：氫氧化鈉、硝酸，並將溶液隔水加熱時，加入的試劑和牛奶蛋白質相互作用導致顏色發生劇烈變化，所對應的固體沉澱重量和實際牛奶蛋白質的比例呈現線性相關，我們希望利用這個簡單探究的方法，可以為實驗室的牛奶檢測提供了一種替代方法，而且還為牛奶的篩查提供了一種方法，也希望我們進一步改良步驟並進行探討其應用。

二、探究題目與動機

牛奶是日常生活中常見的食物和營養來源（碳水化合物、脂肪、蛋白質、礦物質及維生素等等），也因為牛奶在市面上價格昂貴，會有不道德廠商會在牛奶中摻假以獲取利益，例如：加入 1.水、植物性蛋白、奶精（降低原料成本）；2.福馬林、硼酸、苯甲酸（增加牛奶保存期限）；3.乳化劑、起雲劑（乳化加水稀釋後的牛奶）；3.尿素、三聚氰胺（增加牛奶非蛋白質含氮量和黏稠度）；硫酸銨（增加牛奶的密度）等，但這些摻雜物都會對身體健康造成危害甚至死亡。2008 年，中國爆發著名的毒奶粉事件，原因為奶粉加入三聚氰胺，而導致嬰兒食用奶粉後出現腎結石甚至死亡的案例，以前檢測牛奶的中蛋白質純度含量會利用凱氏定氮法（Kjeldahl method）來檢測，而三聚氰胺恰好可以提升蛋白質含氮量，而且價格便宜取得方便，因此便成為不肖商人拿來添加於稀釋過後的牛奶來蒙混過關，導致嚴重的食安事件的發生。

食品分析上檢測牛奶成分的方式有很多種，通常會使用一些化學分析或靈敏度高的感測器來測量牛奶中成分的特性，但對於鄉下農村地區或一般民眾，儀器分析的檢測困難且成本昂貴。因此，在我們的探究主題上，想去研究一種低成本的檢測技術，藉由觀察牛奶變化的不同特性，可以容易檢測到牛奶中的蛋白質含量，並希望之後能實際應用於食品分析檢測上。

三、探究目的與假設

牛奶中有許多成分，其中包含蛋白質乳固體，我們在高中生物和化學課有學過，蛋白質是由胺基酸組成的，當蛋白質遇到某些因素作用（如高溫、酸鹼、重金屬離子、有機溶劑、甲醛、尿素、輻射等），蛋白質的胺基酸結構會產生破壞的改變從而失去生物活性且外觀產生變化，生活中常見的蛋白質變性例子有雞蛋煮熟後，蛋白的部分會由透明轉成白色。蛋白質經強酸、強鹼作用發生變性後，如再加熱則變性的蛋白質可變成比較難溶性的凝塊，此凝塊不會再溶於強酸和強鹼中，此現象為蛋白質的凝固作用（protein coagulation）。

在高中課本也有提到說，蛋白質遇到濃硝酸混合加熱時會變黃色，進而可以利用濃硝酸

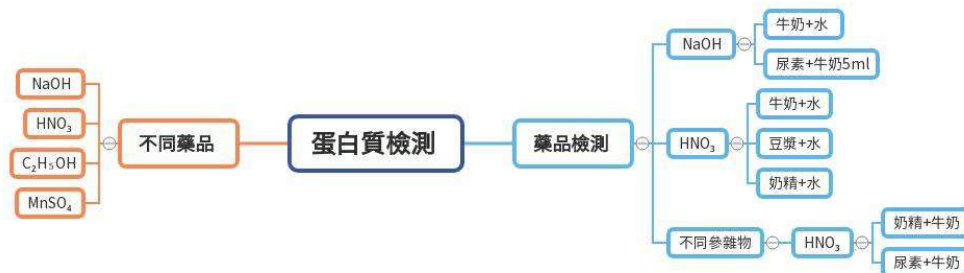
來檢測蛋白質，原因是因為薑黃反應 (xanthoproteic reaction)，硝酸對蛋白質中的有苯環的胺基酸 (如酪胺酸、苯丙胺酸和色胺酸) 發生硝化作用，生成黃色的芳香硝基化合物，因此，我們實驗便利用薑黃反應嘗試以硝酸來檢驗鮮奶中的蛋白質成分。

鮮奶的蛋白質含量一般 3% 以上，而鮮奶的蛋白質含氮率約 16%，以前在凱氏定氮法檢驗牛奶的純度為檢測其含氮率，因此便可以加入像是高含氮率的物質如尿素 (46.6%)、三聚氰胺 (66.6%) 來騙過凱氏定氮法獲得虛假的高蛋白質含量，用加水稀釋去冒充原奶。我們便想到以最簡單容易的進行化學反應方法：「加熱」，再去加入不同反應的試劑 (氫氧化鈉、硝酸等)，我們假設這些試劑能讓蛋白質變性產生沉澱，而其他摻雜物質不會沉澱 (水、尿素、奶精等)，因此便能以沉澱物重量檢驗鮮奶中牛奶蛋白質含量是否足夠，或使其產生外觀或特性明顯的轉變及規律性關係，而找出簡單的檢驗鮮奶中的蛋白質成分。

四、探究方法與驗證步驟

一、實驗研究設計

影響蛋白質變性的因素有很多，我們嘗試加了許多不同的試劑，去使牛奶中的蛋白質產生變性產生沉澱或特性的變化，而添加物如果不是乳製品蛋白質則不會有變性，進而檢驗其產生的沉澱物量，推測出蛋白質含量的多寡，固定變因為統一品牌 A 牌的牛奶 (含 3.3% 蛋白質)，以及 A 牌豆漿 (含 3.4% 蛋白質)，欲檢測牛奶的摻雜物我們選擇 B 牌奶精粉 (含 2.2% 蛋白質)、另外，由於我們無法取得三聚氰胺的固體粉末，因此，我們以尿素 (含氮率 46.6%) 代替三聚氰胺，模擬在牛奶中加入非蛋白質添加物三聚氰胺 (含氮率 66.6%) 來檢測。




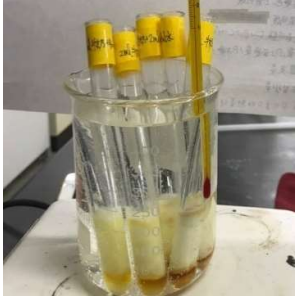

二、找出適當的反應試劑：氫氧化鈉、硝酸

我們嘗試在試管內添加入 5mL 牛奶並加入不同種類的反應試劑，隔水加熱試管至水沸騰，觀察其反應，如 1. 氫氧化鈉會使牛奶變成棕褐色沉澱，2. 鹽酸和硝酸、會使牛奶產生黃色的沉澱物，3. 醋酸、酒精、硫酸亞錳 (重金屬離子) 會使牛奶產白白色沉澱，然而單純一般牛奶未加任何反應試劑去隔水加熱並不會有任何變化，由於反應試劑有許多種，我們也做了很多嘗試，此研究挑選變色和沉澱有明顯變化的氫氧化鈉和硝酸來進行討論分析。

三、氫氧化鈉加熱檢測：在試管溶液內加入 0.5 克氫氧化鈉並隔水加熱至 100°C

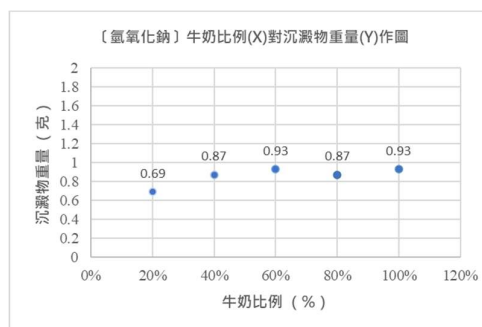
(1) 氫氧化鈉加熱檢測：牛奶加水稀釋

我們固體體積為 5 mL，配置成不同比例的牛奶加入試管中，並加入 0.5 克氫氧化鈉。

實驗操作	加入約 0.5 克氫氧化鈉後	試管剛開始加熱	試管加熱一段時間
實驗照片			
觀察現象	牛奶有開始出現淡黃色，但顏色很淡，變色不明顯。	加熱開始變黃色，且顏色逐漸變深，牛奶比例越高，越快變色，且顏色越深。	變成棕褐色，且有固體沉澱物產生，牛奶比例越高，顏色越深，並有固體沉澱物。

【表一】在 5 mL 不同比例的牛奶試管中加入 0.5 克氫氧化鈉加熱變化。

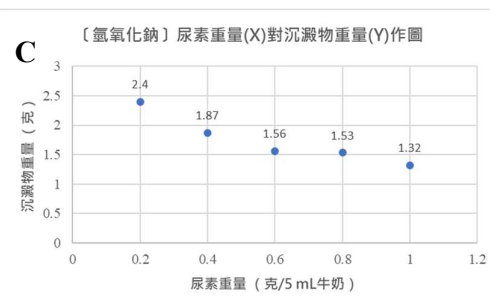
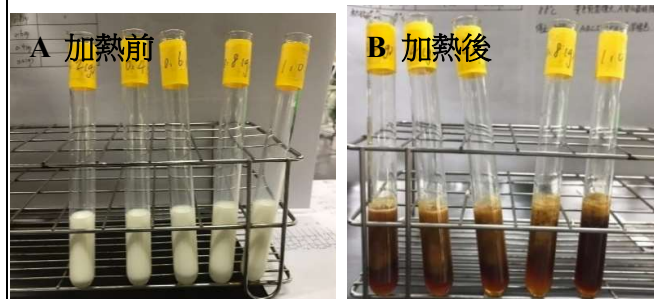
我們將加熱後各試管的試管進行過濾，並把所得到的固體烘乾進行秤重，所得結果如右圖的圖一，從圖一可以看出各試管所得的固體沉澱重量幾乎都差別不大，代表氫氧化鈉和牛奶加熱反應後，固體產物與牛奶內的蛋白質沒有明顯關係。



【圖一】牛奶比例對沉澱重量作圖。

(2) 氫氧化鈉加熱檢測：牛奶加入尿素

我們固定 5 mL 牛奶中，分別加入 0~1.0 克的尿素，並加入 0.5 克氫氧化鈉加熱檢測。



【圖二】在加入尿素後，我們發現加入的尿素重量越多，反而烘乾秤重的重量越少，我們推測尿素可能會與氫氧化鈉作用，使得氫氧化鈉與蛋白質作用變少，或者是影響沉澱物的溶解度等因素，進而影響蛋白質沉澱量。

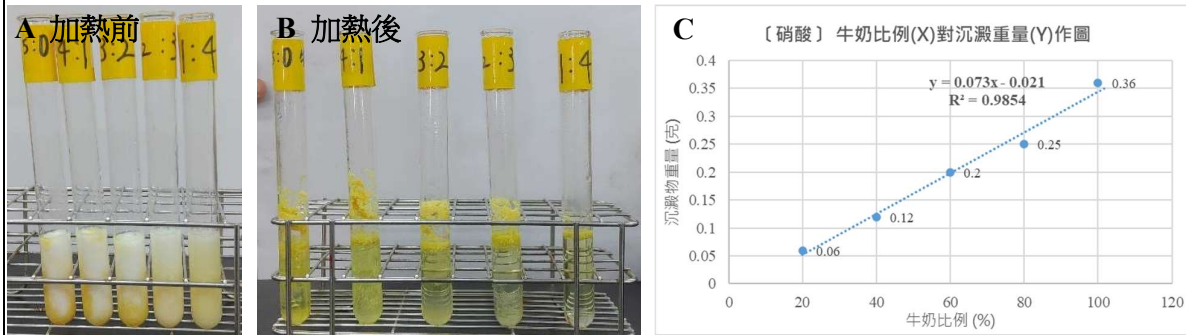
(3) 小結論

在牛奶加入氫氧化鈉加熱檢測中，可以看到明顯的棕褐色變色與沉澱，牛奶的含量比例越高，棕褐色顏色越深，不過反應後沉澱物經烘乾秤重後，沉澱物重量與牛奶比例相關程度不高，因此，使用氫氧化鈉檢測蛋白質定量效果不明顯，因此，我們改換其他試劑去實驗。

四、硝酸加熱檢測：在試管溶液內加入 1 mL 濃硝酸並隔水加熱至 100°C

(1) 硝酸加熱檢測：牛奶加水稀釋

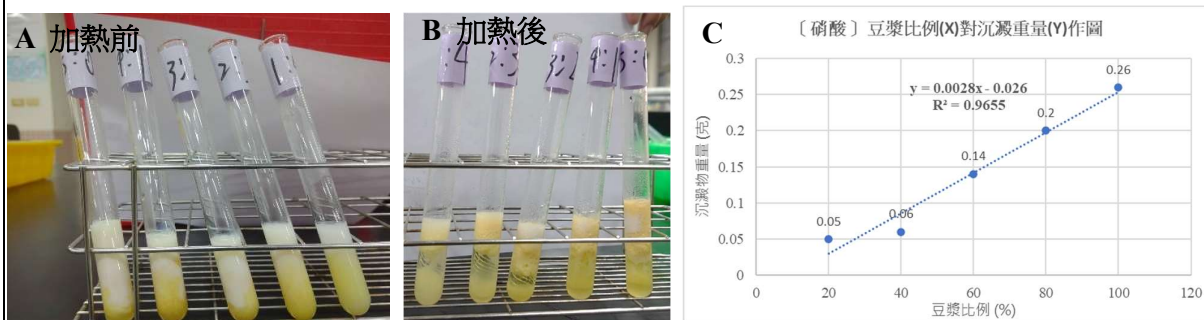
我們固定 5 mL 溶液中，以牛奶加水比例稀釋，並加入 1 mL 的濃硝酸加熱檢測。



【圖三】再加入 1 mL 的濃硝酸時會呈現乳白色 (圖三 A)，加熱後，會從白色混濁液體開始慢慢變得透明，底部會變成黃色澄清 (圖三 B)，上層出現難溶絮狀物固體沉澱，固體經過加熱烘乾秤重，發現沉澱物重量與牛奶比例呈現線性關係 (圖三 C)。

(2) 硝酸加熱檢測：豆漿加水稀釋

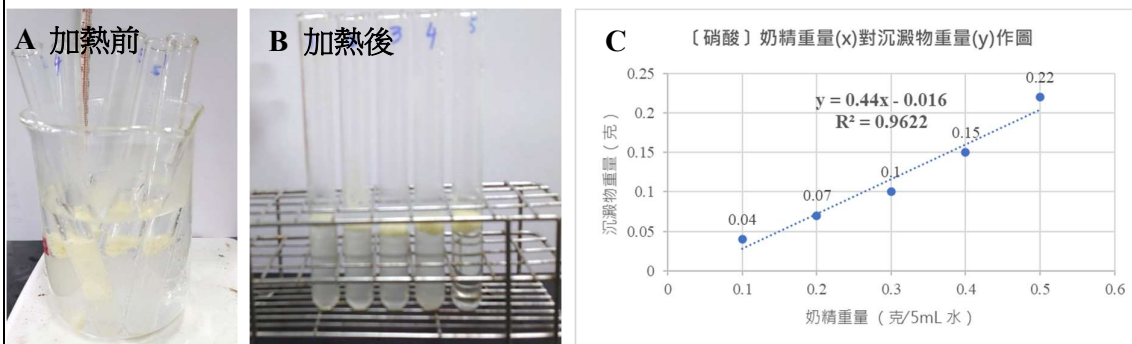
我們固體體積為 5 mL，配置成不同比例的豆漿加入試管中，並加入 1 mL 的濃硝酸加熱檢測。



【圖四】豆漿為植物性蛋白，加入 1 mL 的濃硝酸也會呈現和牛奶相同變化，加熱後，一樣上層出現難溶絮狀物固體沉澱 (圖四 B)，但溶液略帶白色固體混濁並非像牛奶那麼黃色澄清，固體經過加熱烘乾秤重，發現沉澱物重量與豆漿比例呈現線性關係 (圖四 C)。

(3) 硝酸加熱檢測：奶精加水稀釋

奶精的主要成分為植物性油脂，內含有一些乳製品加工過的酪蛋白 (蛋白質含量 2.2%)，我們固定 5 mL 水中，分別加入 0.1~0.5 克的奶精，並加入 1 mL 的濃硝酸加熱檢測。



【圖五】我們測 B 牌的奶精中，未加熱前，加入奶精的試管呈現整支白色，加熱後，上層出

現難溶絮狀物色固體沉澱 (圖五 B) , 但沉澱量較少 , 下層溶液為澄清透明而並非黃色 , 固體經過加熱烘乾秤重 , 發現沉澱物重量與奶精比例呈現線性關係 (圖五 C) , 奶精的沉澱量沒有牛奶和豆漿的量這麼多 , 溶液和固體黃色變化也不明顯。

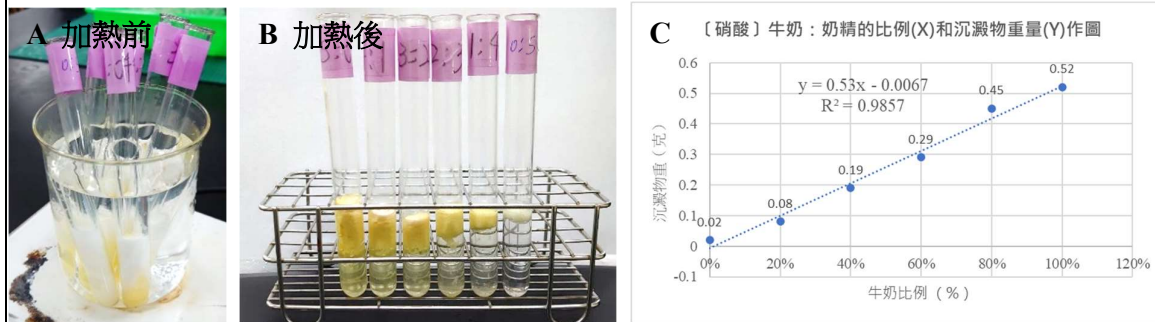
(4) 小結論

以硝酸加熱檢驗中 , 在牛奶、豆漿、奶精都有不錯的線性關係 , 推測硝酸加熱能夠和蛋白質的胺基酸反應 , 而可以用沉澱量去大約推測蛋白質含量的多寡 , 因此 , 我們得到硝酸加熱後沉澱物烘乾秤重 , 重量檢測法能做為蛋白質定量分析的一種好的檢驗方式。

四、硝酸隔水加熱檢測牛奶中的摻雜物

(1) 硝酸加熱檢測：牛奶加奶精混合

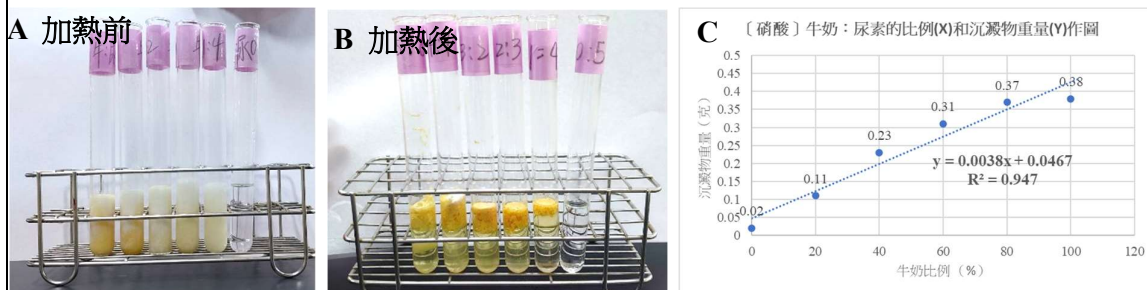
我們實驗購買的 B 牌的奶精的蛋白質含量為 2.2% , 我們配置 1.5% 的奶精水溶液 , 奶精水溶液等同於一般牛奶的含氮率 , 之後 , 並固定總體積為 5 mL , 以兩種含氮率相同的牛奶和奶精不同比例混合進行加硝酸隔水加熱實驗。



【圖六】在摻雜奶精的牛奶混合物中 , 牛奶比例越高 , 加熱時變黃的速度越快 , 最後所得上層沉澱物的量越多 , 並且能夠有不錯的線性關係 (圖六 C) 。

(2) 硝酸加熱檢測：牛奶加尿素混合

牛奶蛋白質的含氮率約 16% , 經過換算後 , 配置 1% 的尿素 (含氮率 46.6%) , 尿素水溶液便可以等同於一般牛奶的含氮率 , 因此 , 我們配置與牛奶相同含氮率濃度的尿素水溶液 , 並固定總體積為 5 mL , 以這兩種含氮率相同的牛奶和尿素溶液以不同比例混合進行加硝酸隔水加熱實驗。



【圖七】在摻雜尿素的牛奶混合物中 , 牛奶比例越高 , 加熱時變黃的速度越快 , 最後所得上層沉澱物的量越多 , 但在 100% 牛奶的沉澱物重量較低 , 推測是因過濾時有損失而導致誤差。

(3) 小結論

由牛奶添加物的硝酸檢測實驗中我們可以得知，在含有相同含氮量的尿素和奶精添加物加入牛奶中，實驗顯示結果與硝酸作用後的沉澱量卻是比較少的，我們假設牛奶的實際乳蛋白含量較多，並硝酸僅能和實際乳蛋白產生黃色沉澱，而較少與尿素作用。奶精主要是由一些植物油加工得到，雖然也有蛋白質含氮量，但不像與實際和乳製品牛奶或豆漿能與硝酸作用得到較多的沉澱量，實驗結果跟我們之前假設的內容為一致，並且從沉澱物的線性關係可以驗證到，其沉澱量與牛奶含量比例有關，如果將未知牛奶和純牛奶加入硝酸共同加熱比較沉澱量多寡，就能知道未知牛奶中是否有稀釋。我們未來希望能再將實驗做得更精準，可以在得到固定含氮量下，控制溫度和時間去加熱，看能不能從沉澱物重量去推測實際牛奶中的實際蛋白質，並且能實際應用在生活食品檢測上。

五、硝酸檢測牛奶的誤差分析討論

我們過程中在加熱升高溫度和加熱時間長短亦會影響到沉澱重量的多寡，我們只有同一組五支試管可以同時加熱，但在比較不同組別變因時，需要控制溫度和時間，此外，過濾和固體烘乾秤重時，可能會因為過濾過程的固體損失，或者是烘乾時間不夠久，水分未完全蒸發而導致重量有所誤差。

五、結論與生活應用

我們實驗中發現在加入氫氧化鈉和硝酸後牛奶中蛋白質會有明顯的顏色和沉澱變化，氫氧化鈉的反應沉澱物沒有線性關係，硝酸的反應沉澱物有明顯的線性關係，我們可以從硝酸反應的沉澱變化中，可以得到牛奶中的蛋白質含量比例，在加入硝酸去測量摻雜奶精或尿素的牛奶，都可以得到牛奶比例和沉澱物得到好的線性關係，且牛奶比例越高，沉澱物越多，推測摻雜物較多和牛奶的蛋白質反應形成沉澱，較少與添加物（尿素、奶精）作用，因此沉澱物量越多，牛奶的實際含量越高，我們希望可以再將實驗作改良或設計，如設計檢測試紙、找出最佳的試劑，希望能應用在食品分析檢驗上。

參考資料

1. 生物化學與分子生物學/蛋白質的理化性質-維基教科書
2022/4/1 取自 <https://reurl.cc/xOrpNL>
2. 薑黃反應-維基百科，2022/4/1 取自 <https://reurl.cc/EpEbdR>
3. Tomas (2017)：三聚氰胺是怎麼加到牛奶中的？-udn 網路部落格
2022/4/1 取自 <http://blog.udn.com/TomasTso/2232974>
4. 謝昆廷、楊弘易 (2008)：淺談三聚氰胺的化學面與對人體的-全國中小學小論文
2022/4/1 取自 <https://reurl.cc/KpN209>
5. 張蓉安 (2017)：不該在牛奶裡的「三聚氰胺」，是能吃的東西嗎？-泛科學
2022/4/1 取自 <https://pansci.asia/archives/128587>
6. 李名揚 (2008)：三聚氰胺如何檢驗？-科學人
2022/4/1 取自 <https://sa.ylib.com/MagArticle.aspx?id=1297>