

臺灣二〇〇四年國際科學展覽會

科 別：生物化學科

作品名稱：水果與 DNA

得獎獎項：儲備作品

學 校：臺北市立內湖國民中學

作 者：鍾介恆

作者簡介



自國小三年級起每年做一件科展作品，從「兩個水瓶變魔術」、「萬獸之王最高機密」、「奧斯特法拉第聊天室」、「廚房實驗室遇見 DNA」到今年的「水果酶與 DNA」，過程雖然常感辛勞，但結果總是甜美。見到自己累積的成果，成就感由然而生，驅使自己不斷地作下去，「作科展」漸已成為習慣。今年進入國際科展讓我見識成長，在科學研究、寫作與發表能力更加提升，祈繼續累積能量將來成為真正的國際『科學人』。

2004 年臺灣國際科學展覽會

2004 Taiwan International Science Fair

內文：

壹、摘要

本研究的目的是在探討數種水果分解酶，對萃取洋蔥 DNA 的影響，想了解在什麼情況下，哪一種水果分解酶的反應最快。**研究結果發現：**實驗所選水果都含分解酶，以**火龍果汁分解酶反應最快**。沒有加火龍果汁分解酶的洋蔥溶液，加入酒精後一樣會分層出像 DNA 的白色棉絮團狀物，但分層時間長，超過 15 分鐘以上；而加入火龍果汁後，反應時間明顯會增快，快至 30 到 40 秒內完成，可知**火龍果汁分解酶有催化作用**。在火龍果汁的量方面，由 0% 逐步加到 20% 時，以 10% 反應時間就達到極限，再增加單位果汁量並沒有顯著差異。在不同溫度的火龍果汁方面，除了常溫(22.5℃)外，冷凍(-10℃)、冷藏(4.2℃)和加溫(42.9℃)反應時間都變慢，這是因為**每一種酶都有一個反應最佳的溫度**，溫度太低，酶的活性會降低，溫度太高酶可能會變性失去催化作用。本研究用的火龍果分解酶在常溫下的反應最快。更進一步的研究發現，以最不易被萃取 DNA 的鳳梨當分解酶，萃取火龍果種子的 DNA 時，可以萃取到較純又多的火龍果 DNA。

貳、研究動機

2002/9/14 至 9/22 我去台大第二活動中心，參加國科會主辦的科學週：2002「基因、生命科學、生物科技」(件附件照片一)的全民科學教育活動，我參加了一個萃取 DNA 的活動。陽明大學蔡亭芬教授教大家用一些在家裡廚房就隨手可得的材料和生科系提供的萃取方法，教大家萃取奇異果 DNA，參加的人在教授的指導下都成功的萃取了奇異果的 DNA。她說加鳳梨汁是因為鳳梨含有鳳梨酶，可以分解 DNA 纏繞的蛋白質，把 DNA 分離開來，並告訴我們回家後也可以用一樣的方法萃取洋蔥等的 DNA。回家後我就繼續深入研究怎麼有這麼神奇的事情。

參、研究目的

- 一、鳳梨以外其他的水果汁可以作為萃取洋蔥 DNA 的分解酶嗎？
- 二、影響水果分解酶萃取洋蔥 DNA 的變因有哪些？

肆、研究設備和器材

- 一、果汁機、打蛋器、燒杯、量杯、咖啡濾紙、小磅秤、天平、洋蔥、常見新鮮水果(見附件照片七)、水、鹽、洗碗精、酒精 95%、漏斗、寶特瓶、試管、碼錶、試管架、電鍋、冰箱、打針筒、攪拌器(小馬達)、筷子、水果刀、溫度計、相機。(見附件照片二)
- 二、自製實驗器材部分
 - (一)六組同步攪拌器(見照片三)是以玩具馬達接上塑膠管當攪拌器。
 - (二)六組同步過濾器(見照片四、五)是以寶特瓶剪切成為漏斗狀，將咖啡過濾器放在上面，另外半截支撐漏斗，並承接最過濾後的洋蔥汁。
 - (三)同步酒精注入器(見照片六)是以六支打針筒，以竹筷子綁緊並用熱溶膠固定，以達到六支同時注入酒精。

伍、研究過程和方法

本研究之萃取 DNA 的方法是參考 2002 年科學週「基因 生命科學 生物技術」科普活動中，由國立陽明大學生命科學系提供的方法。

一、萃取 DNA 的方法

萃取 DNA 的步驟如下：

- (一)將 100g 的洋蔥去皮加水 100 c.c.放入果汁機以低速打碎 1 分鐘。
- (二)將打好的洋蔥汁與洋蔥肉一起倒入燒杯中(50 c.c.)，再加入 2.5 c.c.的沙拉脫攪拌 5 分鐘使其混合均勻，以破壞細胞膜和細胞核膜。
- (三)加入 5 c.c.的濃食鹽水(濃度為 5M，29.4g 的鹽加 100c.c.的水)並用筷子攪拌 1 分鐘。
因為 DNA 的是帶負電，加鹽水是為了中和 DNA 的負電，使 DNA 溶解在溶液中。

(四)將現榨新鮮的果汁如鳳梨汁 5 c.c，榨汁方法同步驟(一)，加入步驟洋蔥汁持續攪拌 5 分鐘，以分解 DNA 纏繞的蛋白質。

(五)以咖啡濾紙過濾上述混合液，此時 DNA 存在於濾下來的液體中。

(六)收集過濾下來的液體約 15 c.c 放入乾淨的 50 c.c 試管中。

(七)從試管邊緣慢慢倒入 30 c.c.95%的酒精(酒精為 DNA 水溶液的兩倍體積)。

使溶液分層。此時在兩層的交界處出現如棉絮般的白色物質就是要的 DNA。

(八)以碼錶測量從酒精倒入開始到 DNA 浮到酒精的液面為止的反應時間

二、研究過程

研究一、按照展覽教的方法以鳳梨萃取奇異果和洋蔥的 DNA。

研究二、同上方法，用青木瓜和熟木瓜來代替鳳梨萃取洋蔥 DNA。

研究三、同上方法，用其他水果萃取洋蔥 DNA。發現火龍果汁當分解酶抽取洋蔥 DNA 的反應最快。

研究四、改變火龍果汁的溫度，同上方法，觀察 DNA 浮出的時間。冰箱冷凍(-10℃)、冷藏(4.2℃)、常溫(22.5℃)和電鍋保溫(42.9℃)的火龍果當分解酶，研究溫度是否影響水果酶的作用。

研究五、不同火龍果汁的量，以自製同步攪拌器、過濾器與酒精注入器，實驗每管相差 2c.c.的火龍果汁，觀察 DNA 浮出的時間。

研究六、同五方法，不同果汁的量設計(每管差 1c.c.的火龍果汁)，對萃取洋蔥 DNA 的反應和研究五的反應有何不同？

研究七、以火龍果當分解酶抽取的洋蔥 DNA，可能裡面參雜著火龍果的 DNA，所以想用鳳梨當分解酶抽取火龍果 DNA，看看是否真的是這樣？

研究八、研究七發現，用鳳梨當分解酶抽取火龍果 DNA 浮出大量的 DNA，是否因火龍果種子的 DNA 特別多嗎？所以我就想把火龍果的子 and 肉分開，分別抽取 DNA，來比較肉和子的差異。

研究九、鳳梨 DNA 真的很難抽取嗎？以火龍果分解酶實驗看看。

陸、研究結果

研究結果一、按照展覽教的方法以鳳梨萃取奇異果和洋蔥的 DNA。

反應過程紀錄如下表 1，結果如圖 1 及附件照片九

表一 鳳梨萃取奇異果和洋蔥的 DNA 反應過程紀錄

| 觀察項目 | 實驗紀錄 | 第一次實驗 | 第二次實驗 | 第三次實驗 |
|------|-------------|---|---------|--------|
| 奇異果 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 黃綠色 不透明 | 黃綠色 不透明 | 黃綠色不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與奇異果溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 480 | 473 | 498 |
| | 平均(秒) | 484 | | |
| 洋蔥 | 實驗結果紀錄 | 第一次實驗 | 第二次實驗 | 第三次實驗 |
| | 倒入酒精前溶液的外觀 | 米色 不透明 | 米色 不透明 | 米色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 386 | 357 | 318 |
| | 平均(秒) | 849 | | |

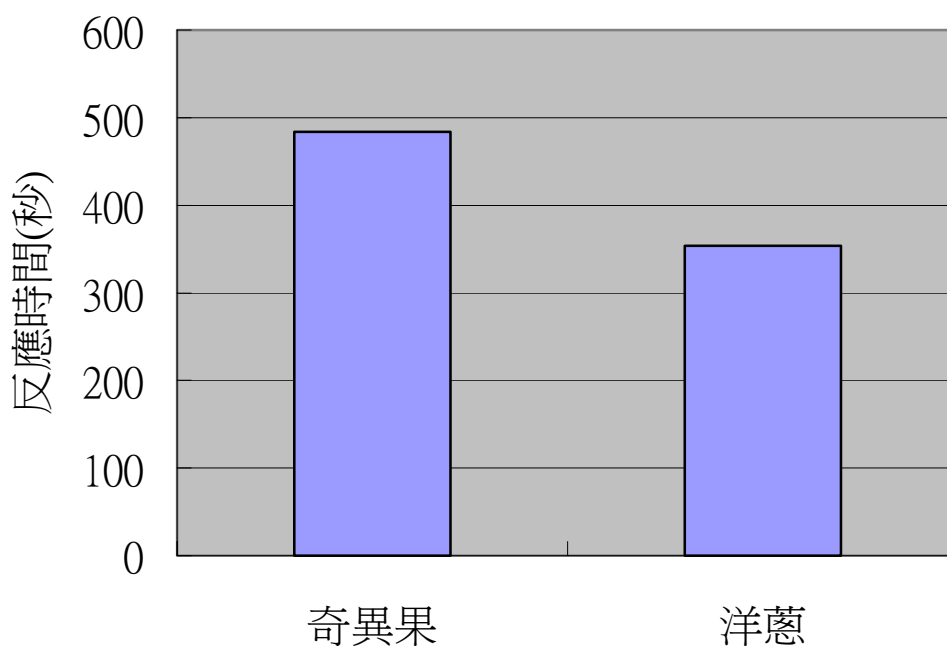


圖 1 鳳梨萃取奇異果和洋蔥 D N A 的反應時間比較圖

研究結果二、用青木瓜和熟木瓜梨萃取洋蔥 DNA。

反應過程紀錄如下表 2、結果見圖 2 及附件照片十、十一

表 2 青木瓜和熟木瓜萃取洋蔥 DNA 反應過程紀錄

| 種類 | 實驗結果紀錄 觀察項目 | 第一次實驗 | 第二次實驗 | 第三次實驗 |
|-----|-----------------|--|---------|---------|
| 青木瓜 | 倒入酒精前溶液的 外觀 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應 時的現象 | 酒精與洋蔥溶液 分成兩層，酒精 在上層。有許多 小氣泡浮出。在 接縫處有一團像 白色棉絮狀的物 體出現並慢慢的 向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 468 | 523 | 487 |
| | 平均(秒) | 493 | | |

| 種類 | 實驗結果紀錄 | 第一次實驗 | 第二次實驗 | 第三次實驗 |
|-----|-------------|--|---------|---------|
| 熟木瓜 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 橘紅色 不透明 | 橘紅色 不透明 | 橘紅色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像橘色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 830 | 780 | 910 |
| | 平均(秒) | 840 | | |

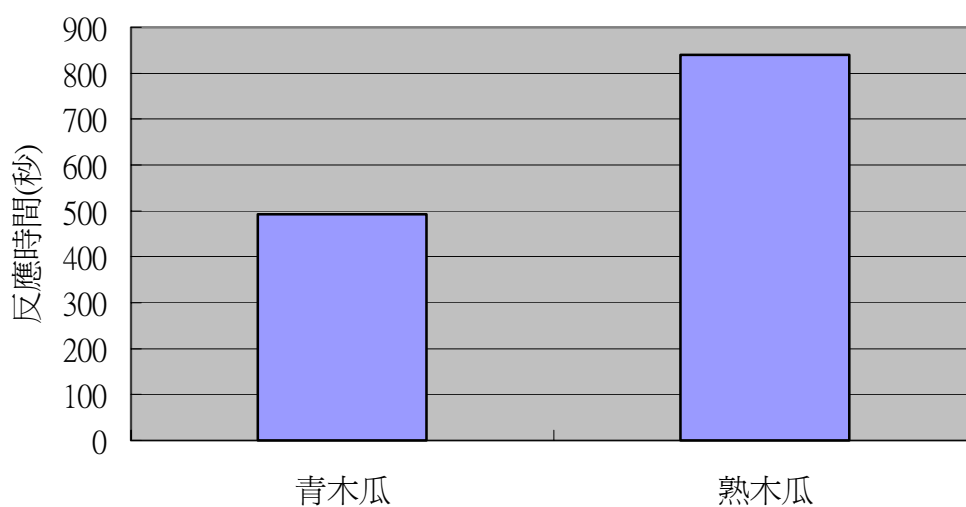


圖2 青木瓜、熟木瓜萃取洋蔥DNA的反應時間比較圖

研究結果三、用其他水果萃取洋蔥 DNA。

反應過程紀錄見下表 3，結果見圖 3 及附件照片十二

表 3 其他水果萃取洋蔥 DNA 反應過程紀錄表

| 種類 | 實驗紀錄 | 第一次實驗 | 第二次實驗 | 第三次實驗 |
|-----|-------------|--|---------|---------|
| 奇異果 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 米白色 不透明 | 米白色 不透明 | 米白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 430 | 465 | 500 |
| | 平均(秒) | 465 | | |
| 哈密瓜 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 135 | 138 | 512 |
| | 平均(秒) | 262 | | |

| | | | | |
|-----|-------------|--|---------|---------|
| 火龍果 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 34 | 42 | 27 |
| | 平均(秒) | 34 | | |
| 密棗 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 238 | 233 | 246 |
| | 平均(秒) | 239 | | |
| 蘋果 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 橘黃色 不透明 | 橘黃色 不透明 | 橘黃色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 511 | 501 | 521 |
| | 平均(秒) | 511 | | |

| | | | | |
|----|-------------|--|----------|----------|
| 芭樂 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 167 | 173 | 160 |
| | 平均(秒) | 167 | | |
| 柳丁 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 白卡其色 不透明 | 白卡其色 不透明 | 白卡其色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 147 | 149 | 145 |
| | 平均(秒) | 147 | | |
| 香蕉 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 140 | 149 | 147 |
| | 平均(秒) | 145 | | |

| | | | | |
|----|-------------|--|---------|---------|
| 柚子 | 倒入酒精前溶液的外觀 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 | 乳白色 不透明 |
| | 倒入酒精後反應時的現象 | 酒精與洋蔥溶液分成兩層，酒精在上層。有許多小氣泡浮出。在接縫處有一團像白色棉絮狀的物體出現並慢慢的向上浮起。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 浮起時間(秒) | 156 | 141 | 158 |
| | 平均(秒) | 152 | | |

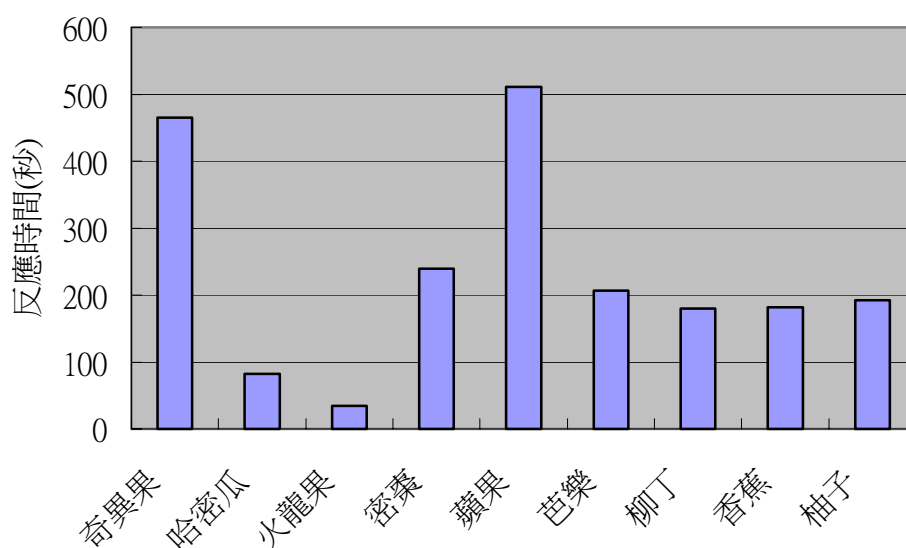


圖3 各種水果萃取洋蔥D N A的反應時間比較圖

研究結果四、改變火龍果的溫度，觀察 DNA 浮出的時間。

結果見下表 4 及圖 4

表 4 改變火龍果的溫度，DNA 浮出時間紀錄表

| 溫度 浮出時間(秒) | 冷凍 -10℃ | 冷藏 4.2℃ | 常溫 22.5℃ | 加熱 42.9℃ |
|---------------|------------|------------|-------------|-------------|
| 第一次實驗 | 548 | 155 | 80 | 220 |
| 第二次實驗 | 472 | 151 | 86 | 250 |
| 第三次實驗 | 496 | 170 | 90 | 258 |
| 平 均 | 505 | 159 | 85 | 243 |

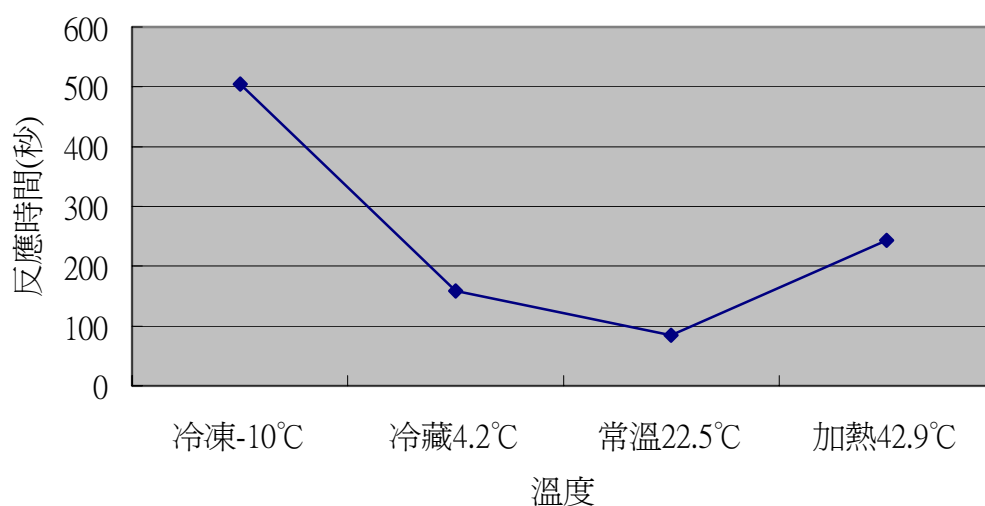


圖 4 改變火龍果的溫度，觀察 DNA 浮出時間比較圖

研究結果五、每杯差 2c.c.的火龍果汁，觀察 DNA 浮出的時間

結果見下表 5,圖 5 及附件照片十三

表 5 每差 2c.c. 的火龍果汁浮出的時間紀錄

| 水果汁的量(c.c.) 浮出時間(秒) | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12c |
|------------------------|----|----|----|----|----|-----|
| 第一次實驗 | 49 | 49 | 46 | 47 | 47 | 48 |
| 第二次實驗 | 49 | 48 | 45 | 46 | 46 | 45 |
| 第三次實驗 | 50 | 48 | 44 | 42 | 46 | 46 |
| 平 均 | 49 | 48 | 45 | 45 | 46 | 46 |

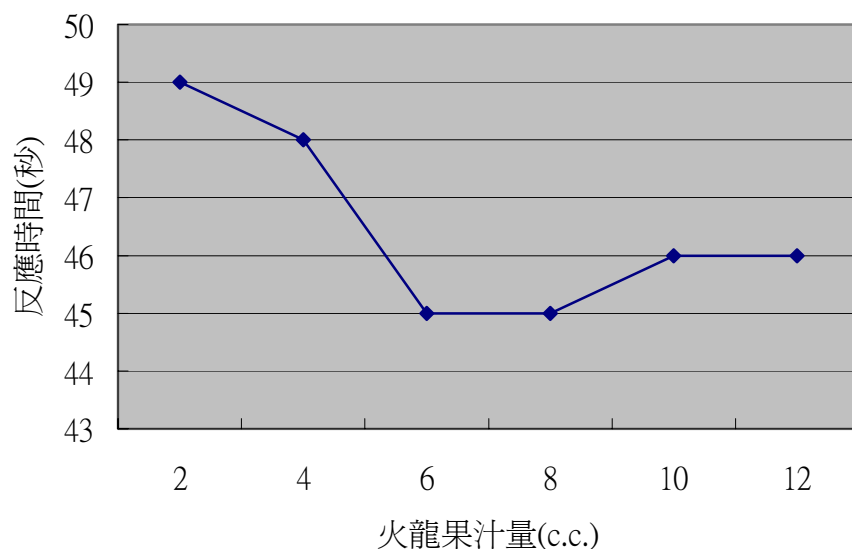


圖 5 每杯差 2c.c.的火龍果汁，觀察 DNA 浮出的時間比較圖

研究結果六、每杯差 1c.c.的火龍果汁，觀察 DNA 浮出的時間。

結果表 6,圖 6 及附件照片十四

表 6 每杯差 1c.c.的火龍果汁，DNA 浮出的時間紀錄表

| 水果汁的量(c.c.) \ 浮出時間(秒) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------------|---|-----|----|----|----|----|
| 第一次實驗 | | 138 | 75 | 70 | 67 | 57 |
| 第二次實驗 | | 136 | 88 | 74 | 66 | 55 |
| 第三次實驗 | | 131 | 83 | 68 | 66 | 53 |
| 平 均 | | 135 | 82 | 71 | 66 | 55 |

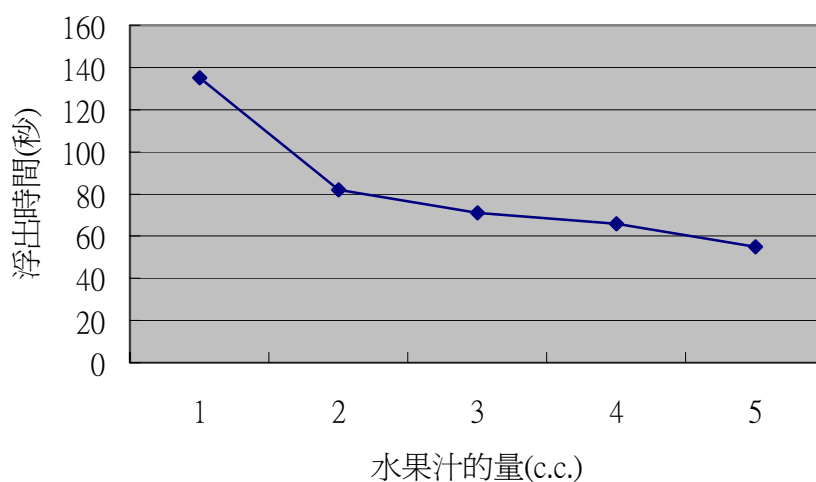


圖 6 每杯差 1c.c.的火龍果汁，DNA 浮出的時間比較圖

研究七、以鳳梨當分解酶來萃取火龍果的 DNA。

結果見表 7、圖 7 及附件照片十五、十六、十七

表 7 鳳梨萃取火龍果 DNA 紀錄表

| | | | | |
|-----|--------------|-----------------------------------|--------|--------|
| 火龍果 | 倒入酒精實的反應時的現象 | 與火龍果當分解酶情形相似。有一大團白色棉絮狀物浮出，浮起速度很快。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 反應時間(秒) | 37 | 35 | 36 |
| | 平均 | 36 | | |
| | 實驗結果 | 大團 DNA 浮在酒精液面。 | | |
| 果肉 | 倒入酒精實的反應時的現象 | 一樣有一大團棉絮狀物浮出，但酒精是渾濁的。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 反應時間(秒) | 129 | 123 | 126 |
| | 平均 | 126 | | |
| | 實驗結果 | 大團 DNA 浮在酒精液面。 | | |
| 種子 | 倒入酒精實的反應時的現象 | 大團的棉絮狀物浮出，酒精是澄清的。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| | 反應時間(秒) | 60 | 58 | 63 |
| | 平均 | 60 | | |
| | 實驗結果 | 大團 DNA 浮在酒精液面。 | | |

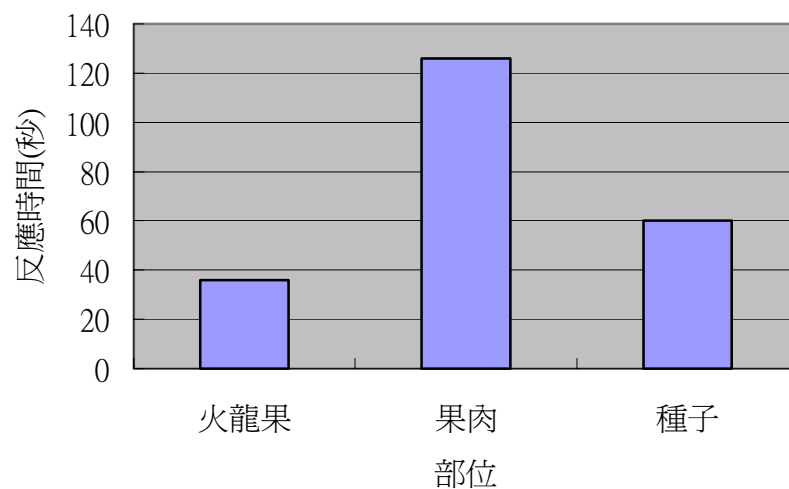


圖 7 鳳梨抽取不同火龍果部位之 DNA 反應時間比較圖

研究八、以火龍果當分解酶來萃取鳳梨的 DNA。

結果見表 8 及附件照片十八

表 8 鳳梨萃取火龍果 DNA 紀錄表

| | | | |
|--------------|------------------------------------|--------|--------|
| 倒入酒精實的反應時的現象 | 沒有馬上反應，但放了 10 分鐘後，有一小小團 DNA 浮在酒精中。 | 同第一次實驗 | 同第一次實驗 |
| 實驗結果 | 只有一小小團 DNA 浮在酒精中。 | | |

柒、討論

一、用鳳梨萃取奇異果和洋蔥 DNA

(一)從圖 1 得知鳳梨除了可以萃取奇異果 DNA 外，也可以萃取洋蔥的 DNA，而且反應時間比較快。像白色團狀棉絮物就是洋蔥 DNA 混合物，但並不是純的 DNA，是 DNA 與其他雜質的混合物[1]。因為鳳梨含有分解酶，能把被 DNA 纏繞的蛋白質分解，鹽水讓 DNA 分子散開與溶液混合，加酒精是使 DNA 和 DNA 聚集在一起，然後上浮至酒精液面。而 DNA 浮起來時，在棉絮狀物裡有很多氣泡，氣泡應該也會增加 DNA 的浮力。

(二)鳳梨會刮舌頭推測是因為它的分解酶會分解人的口腔黏膜。酶是一種蛋白質、酵素 [1] [2] [12]。我們使用的鳳梨酶是屬於蛋白酶。

二、用青木瓜和熟木瓜萃取洋蔥 DNA

(一)在書上看到木瓜也有分解酶，所以就拿木瓜來做實驗。

(二)竟然木瓜也有木瓜蛋白酶，為什麼它不會刮舌頭呢？是因為不同的酶能分解的蛋白質也不一樣[5]。木瓜酶被用在肉類的軟化劑上，木瓜酶也會幫助消化。 [7]。

(三)比較圖 2 的結果，發現熟木瓜浮起時間(840 秒)比青木瓜(493 秒)慢。再比較附件照片 11,12 發現青木瓜萃取出來的洋蔥 DNA 以肉眼觀察比熟木瓜大團很多。這和書上說青木瓜奶含大量木瓜酶的說法應該有關[5]。由此可推論未成熟果酶含量應該比較多。

(四)是否生活中常見的水果，都含有分解酶？

三、用生活中常見的水果萃取洋蔥 DNA

- (一)如圖 3 及附件照片十二所示，實驗中的**每一種水果都能萃取洋蔥 DNA**。其中以**火龍果汁反應時間最快(34 秒)**，其他水果都反應時間都差不多，火龍果汁為什麼最快呢？是否火龍果酶的反應最佳溫度就是常溫呢？所以我想改變火龍果的溫度，來看看溫度對火龍果酶的影響究竟如何？

四、在溫度的實驗方面

- (一) **每一種酶都有一個反應最佳的溫度**，例如胃蛋白酶最適合的溫度和人體的溫度差不多，溫度太低胃蛋白酶活性會降低，溫度太高胃蛋白酶會失去催化作用[8]，本研究得到相同結果如圖 4 所示，發現以置放在常溫下的火龍果當分解酶，抽取洋蔥 DNA 反應時間最快。
- (二)溫度會影響火龍果酶的作用，那火龍果汁的量會不會影響萃取洋蔥 DNA 的反應？

五、改變酶的量

- (一)從圖 5 發現 6c.c.的反應最快，6c.c.以後反應時間就沒有明顯的差異。為了找到最佳 c.c.數，所以把 c.c.數的差距減小為 1c.c.，來找到真正的最佳果汁量。
- (二)從圖 6 及照片 16 發現，沒有加火龍果汁，洋蔥溶液也會浮出棉絮狀物，但量很少，而且浮出時間也很長，長達 15 分鐘以上，顯然火龍果汁有加快萃取反應時間的作用。
- (三) 從圖 6 發現，果汁的量在 5c.c.之後，DNA 浮出的反應時間就沒有明顯的差別，所以 **5c.c.應該就是火龍果汁分解酶反應的最佳量**。這和陽明大學生科系提供方法得到相同的結果。

六、拉絲現象

- (一)實驗過程中發現，洋蔥 DNA 在分離過程中的特殊現象(照片二十)，拉出像白絲巾的物質，上面附著許多氣泡。這次使用的火龍果裡面有些地方都變成茶褐色，口感變差了(附件照片十九)，可能是火龍果過熟，分解酶的作用較弱，切不斷 DNA，所以拉出像絲巾一樣的物质，這部分必須再研究。
- (二)再次實驗又出現同樣的拉絲現象，而且都在過熟火龍果汁 4c.c.，6c.c.，8c.c.的試管出現。可是這次絲帶上沒有出現氣泡。

七、新鮮現榨反應效果較佳

果汁放了 20 分鐘後酶的效果會變差實驗將做不出結果。過濾過的洋蔥溶液放了十分鐘後效果也會變差。

八、反應時間與測量 DNA 的量

DNA 的量不容易測量，需要再研究定量方法，發現實驗中 DNA 浮出量的多少也與浮起來的時間快慢沒有一定相關，因為 DNA 如果聚集很大團較重會浮很慢，拉絲時上下層拖住。目前以浮起來的時間快慢比較抽取反應的快慢，可能有些不妥當。

九、分層現象

(一)加酒精後洋蔥溶液為什麼就會開始分層？從文獻得知加入食鹽水後 DNA 分散開來以和水果分解酶充份混合將 DNA 纏繞的蛋白質分解[11]；加酒精後，水和酒精結合，DNA 互相吸引，DNA 比重比酒精小，DNA 就會浮到酒精液面上。

(二)分層作用一開始就會有小氣泡出現，小氣泡怎樣生成的？是因加入酒精後，DNA 開始聚集，把溶液裡的空氣夾住形成氣泡[11]，就跟著 DNA 一起浮上來。又發現加酒精時輕輕從試管邊流入時氣泡較小，較用力時則較大。

十、以鳳梨抽取火龍果 DNA

結果與火龍果當分解酶抽取洋蔥 DNA 類似。可能浮出的洋蔥 DNA 裡有參雜著火龍果的 DNA，所以要抽取出較純的 DNA，還是要使用鳳梨當分解酶，因為鳳梨的纖維很多，DNA 不易萃取[1]，由實驗八結果得知鳳梨的 DNA 的確不易萃取。

十一、果肉與種子 DNA 的差別

從圖 7 與照片(27-33)發現，果肉 DNA 上浮的時間較長，肉加子的時間最短，種子次之，以肉眼目測發現種子的 DNA 最大團，應是因為種子是傳宗接代的組織，DNA 含量較多的原因。另外還發現分層的界線就是酒精加入的深度，深度越深分層界線越低，若加以攪拌，DNA 像雲團般從燒杯底上浮非常壯觀。因此這個時候計時似乎意義不大。

捌、結論

本研究中所使用的各種水果都含有分解酶。如果想加快洋蔥 DNA 分層的效果，可以使用火龍果汁並搭配適當的的果汁量(10%)，並小心控制反應時的溫度，維持在最適合分解酶工作的溫度(22.5℃)，就可以使萃取洋蔥 DNA 的時間變快。更進一步又發現以最不容易被萃取 DNA 的鳳梨當分解酶，來萃取火龍果的種子的 DNA；並在加酒精時加以攪拌，DNA 會聚集更多，然後從燒杯底像雲團般壯觀的上浮；所以火龍果的 DNA 是很容易被萃取。用鳳梨當分解酶應能萃取到比較純的火龍果 DNA，特別是種子的 DNA。

玖、參考資料

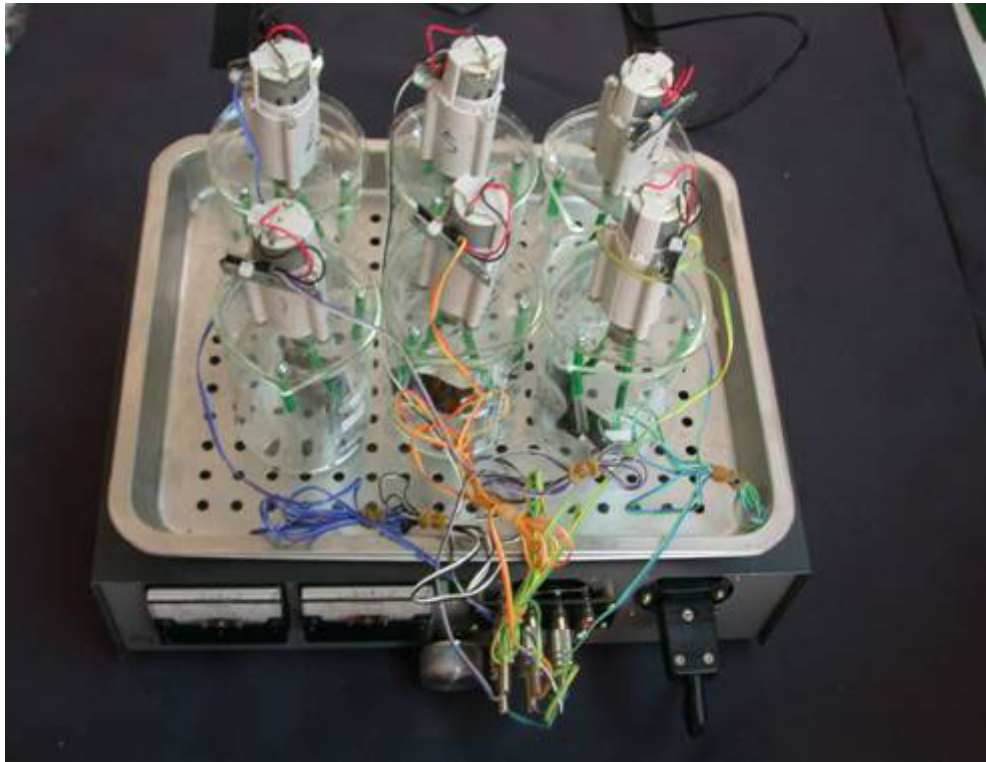
- 1.2002 年國科會科學週 DNA 動手做活動手冊。網址：<http://www.dls.ym.edu.tw/2002dna.htm>
- 2.劉英俊編著,酵素工程,中央圖書出版社,,71~75,1994。
- 3.Mahlon Hoagland , Bert Dodson,觀念生物學,天下文化,2002。
- 4.林敬二,楊美惠,楊寶旺,廖德章,薛敬和,化學大辭典,高立圖書公司,2000。
- 5.中川榮一,馬場正勝合著,木瓜酵素的奇效,世茂,2001。
- 6.王群光著,仙密果的魅力,台灣仙密果公司,1999。
- 7.劉宗寅,呂志清著,不知道的世界,凡異,45~50，2000。
- 8.羅伯特·沃克著,高雄柏譯,愛因斯坦的廚房,臉譜,42，2002。
- 9.溫永福,鄭湧涇,郭麗香,周雪美,生物學實驗,藝軒,25~27，2001。
- 10.國小自然六上,六下,牛頓，2002。
- 11.莊榮輝,台大農化系蛋白質抽取網站，<http://ccms.ntu.edu.tw/~juang/ECX/Pur2.htm>
- 12.鳳梨酵素,,<http://www.hmb.com.tw/>成份與構造.htm



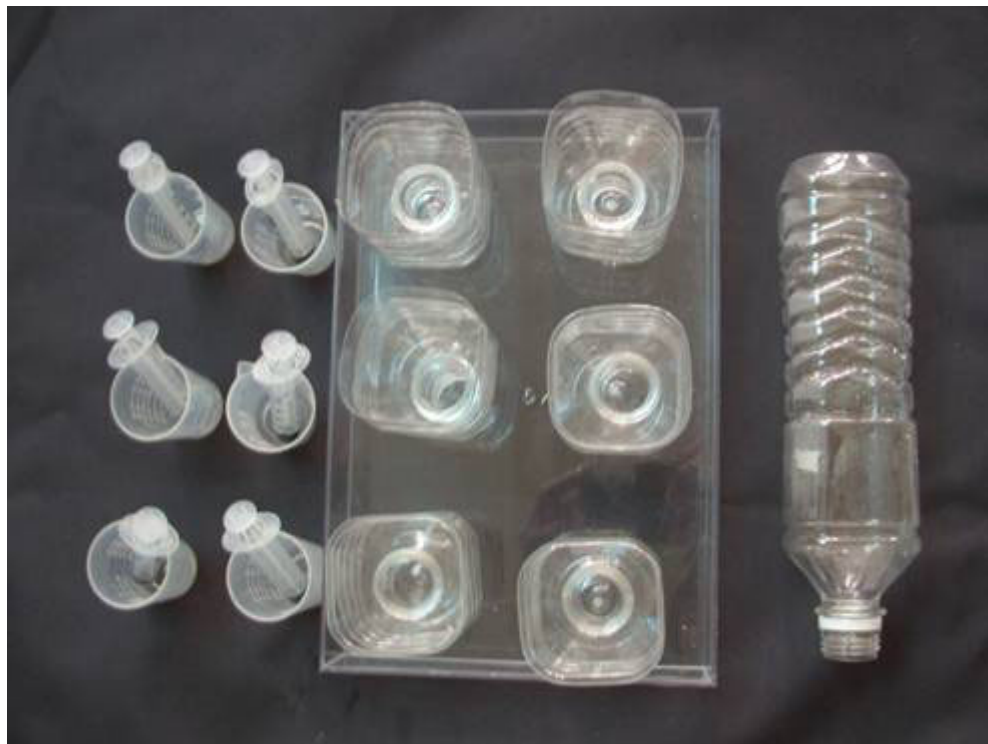
照片一 取自科學週海報



照片二 實驗器材



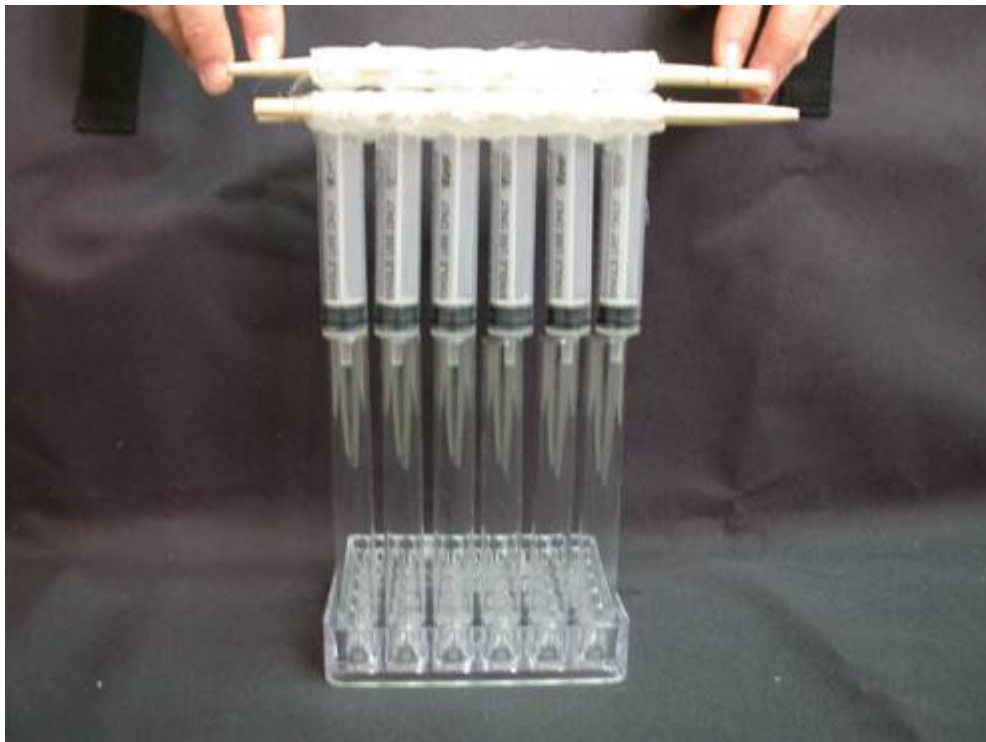
照片三 自製六組同步攪拌器。



照片四 自製六組同步過濾器。



照片五 自製六組同步過濾器。



照片六 自製六組同步酒精注入器。六根試管同時注入酒精。



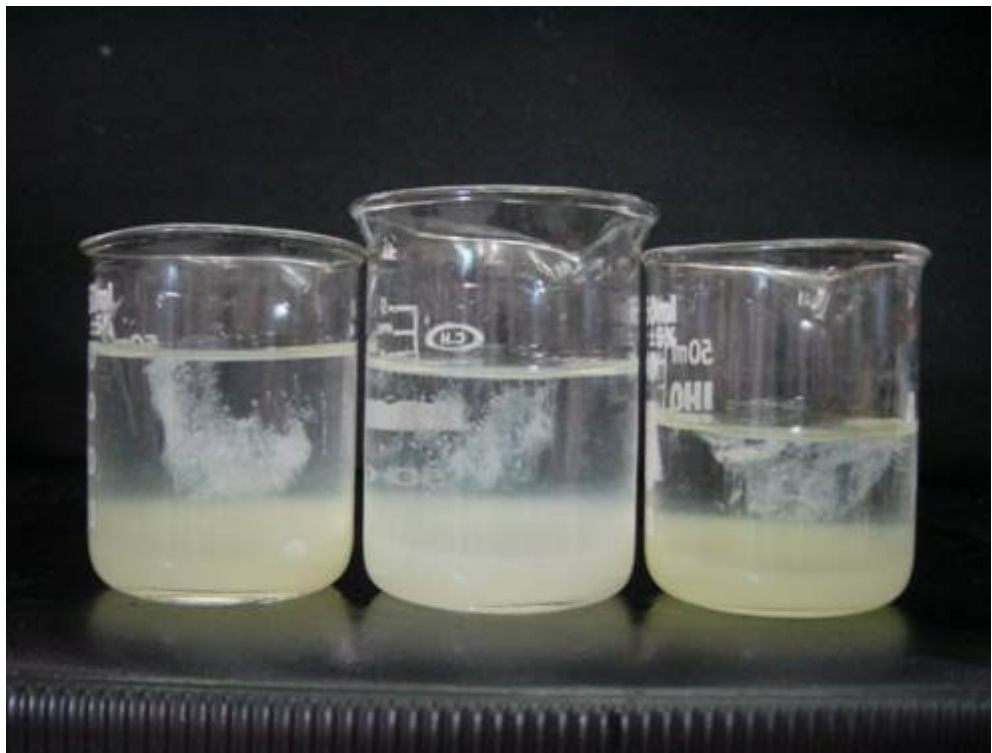
照片七 用來當分解酶的水果。



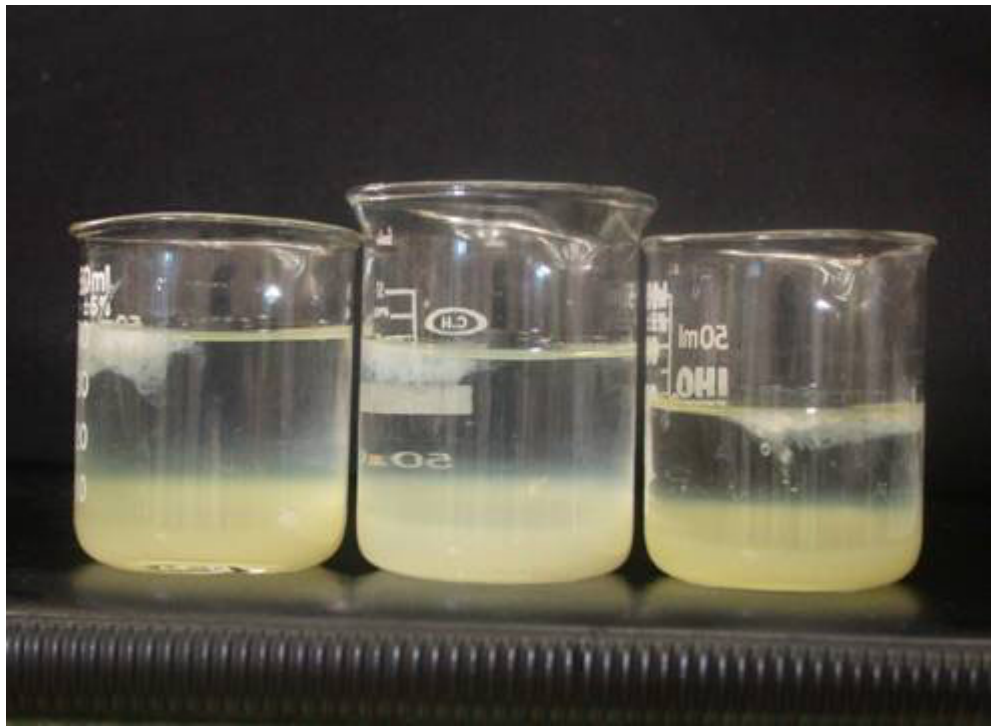
照片八 用果汁機打好的洋蔥汁和哈密瓜汁。



照片九 用鳳梨萃取的洋蔥 DNA 浮起來了。



照片十 用青木瓜萃取洋蔥 DNA 快浮起來了。



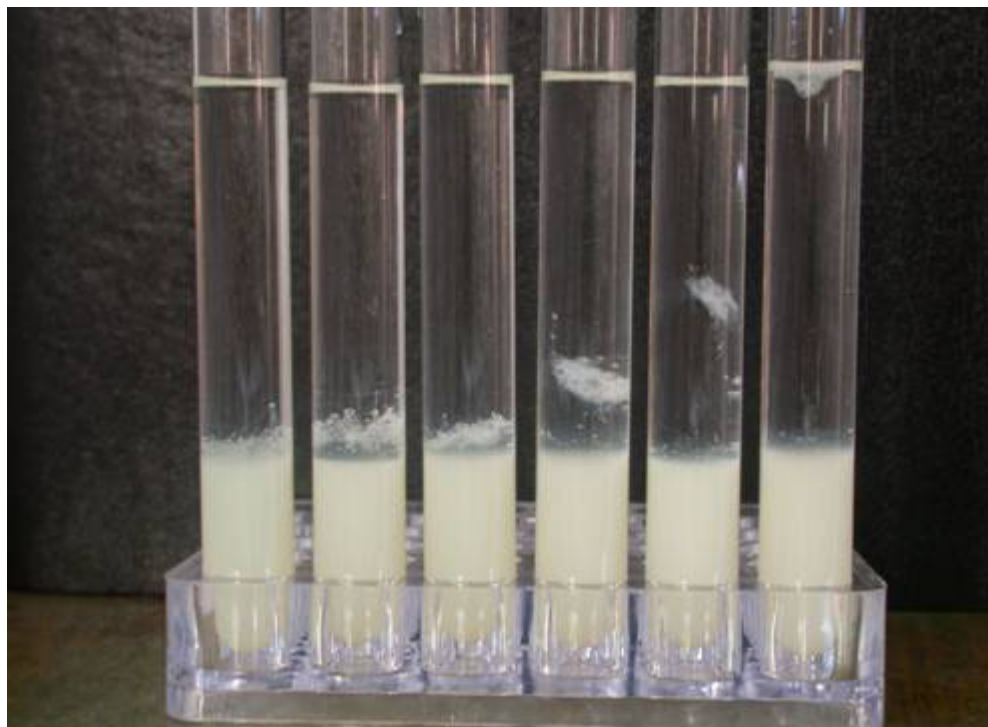
照片十一 用熟木瓜萃取洋蔥 DNA 浮起來了。



照片十二 用不同的果汁萃取洋蔥 DNA，以火龍果汁的分層反應最快，洋蔥 DNA 已浮到酒精液面。



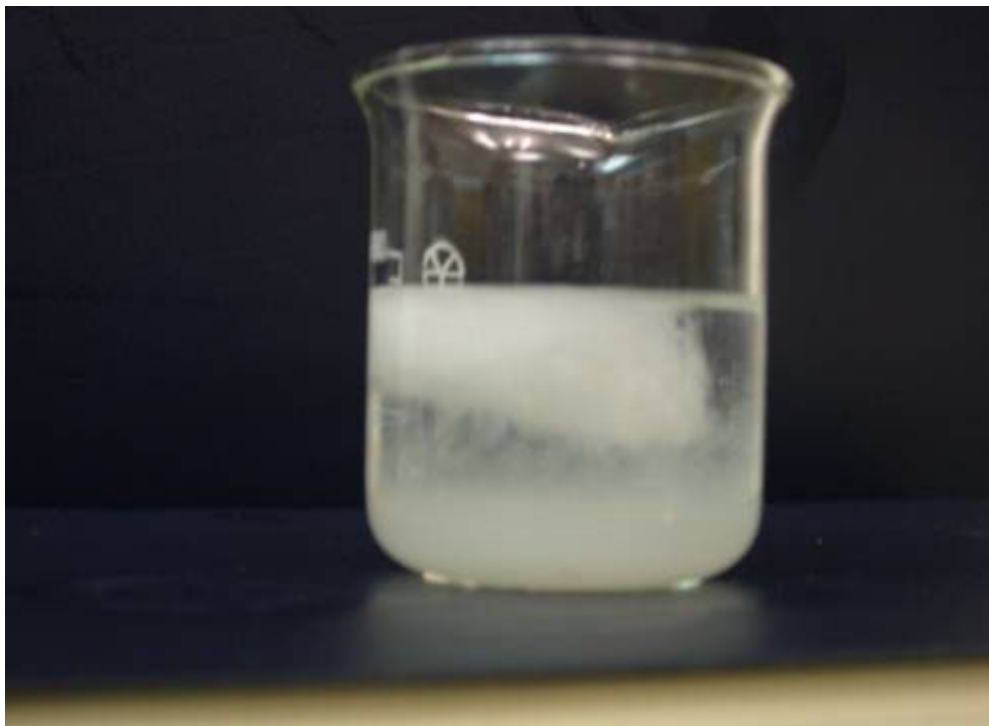
照片十三 火龍果汁 6c. c. 時，萃取洋蔥 DNA 的反應最快。



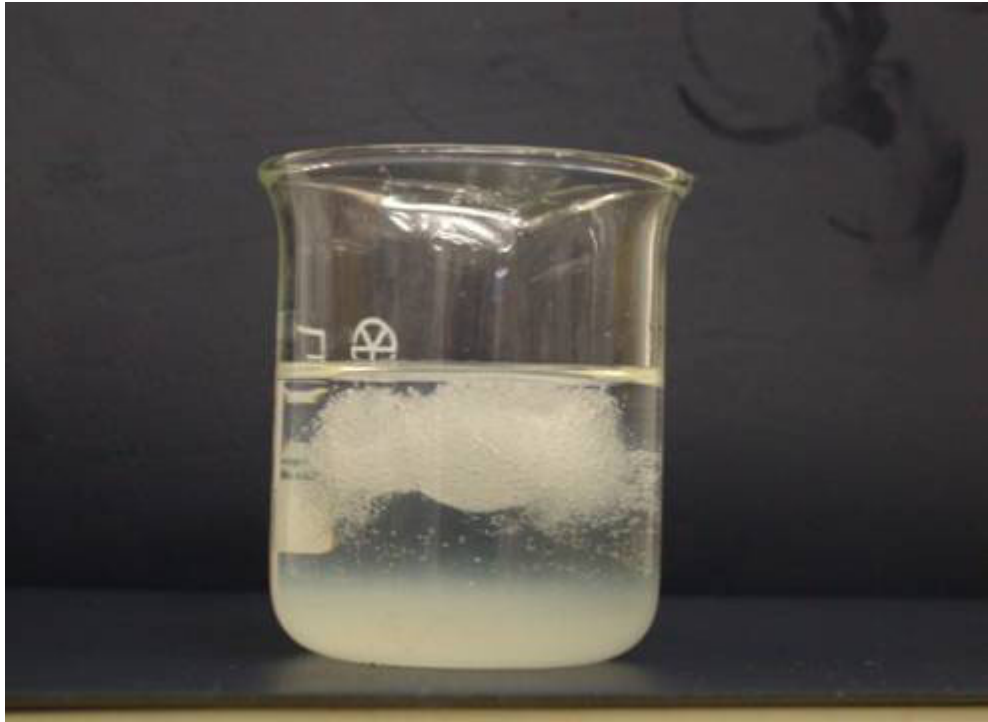
照片十四 火龍果汁 5c. c. 時萃取洋蔥 DNA 的反應最快，已浮到酒精液面上。



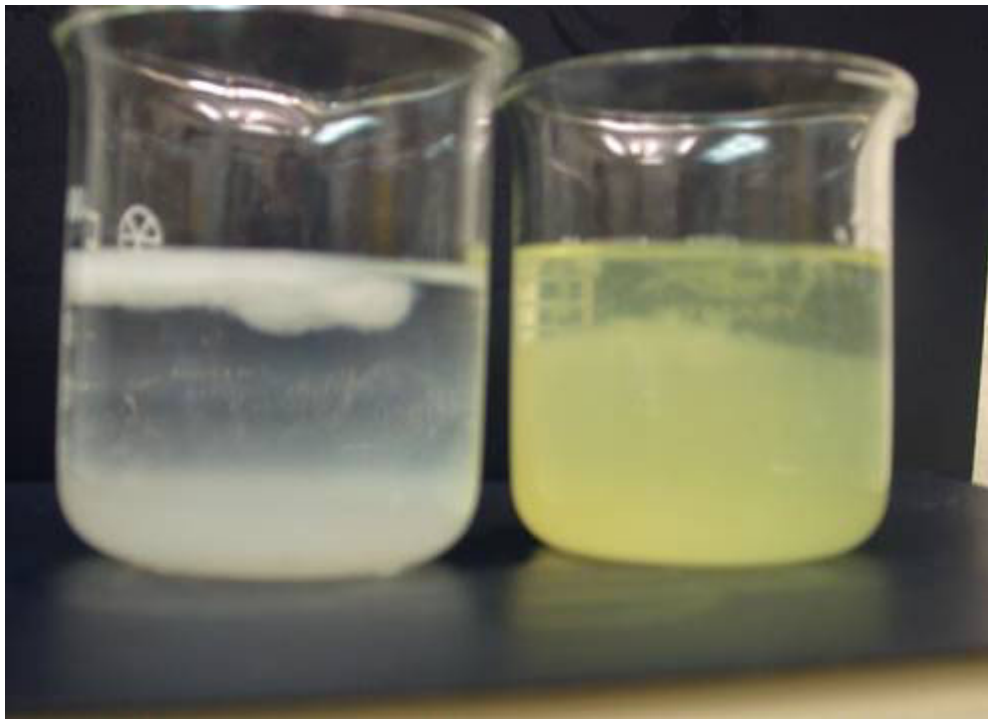
照片十五 鳳梨萃取火龍果 DNA(果肉加種子)



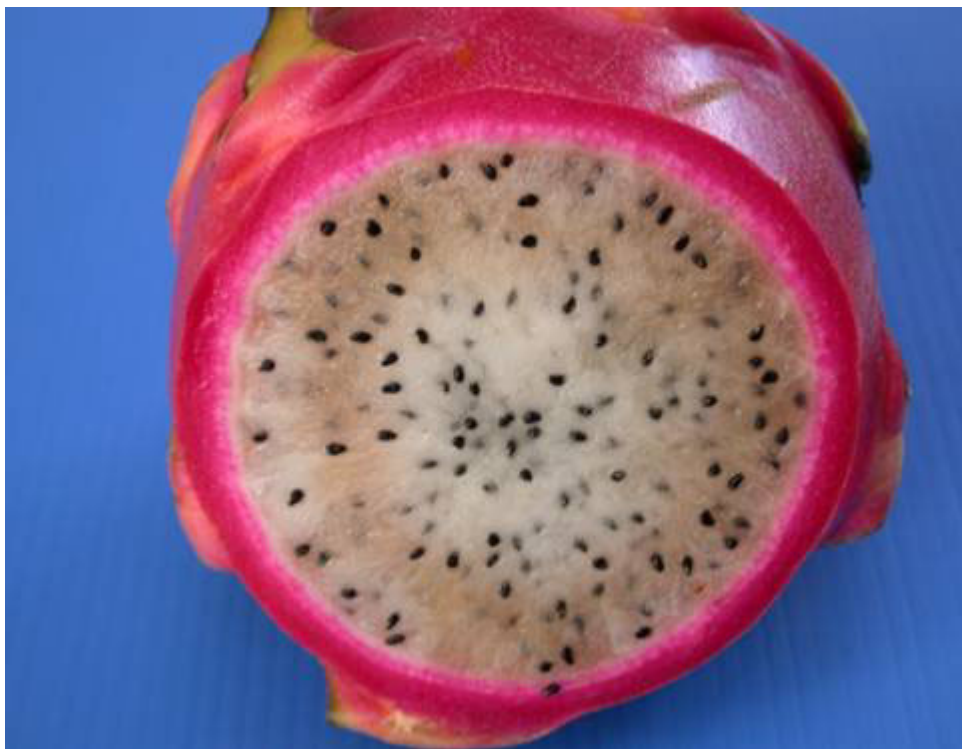
照片十六 鳳梨抽取火龍果肉 DNA



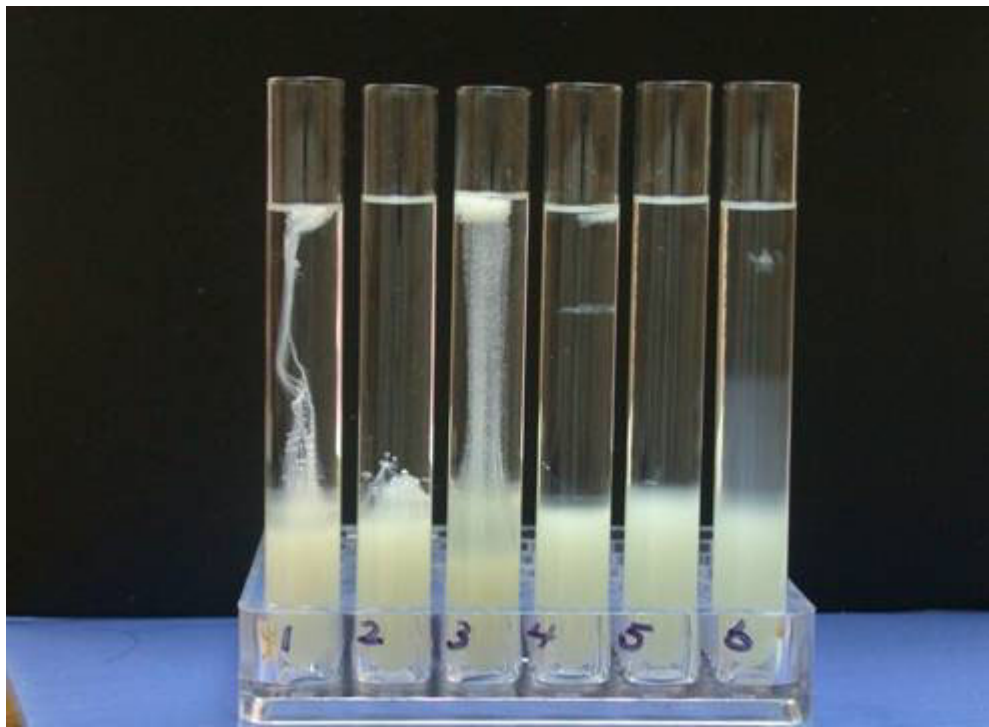
照片十七 鳳梨抽取火龍果子 DNA



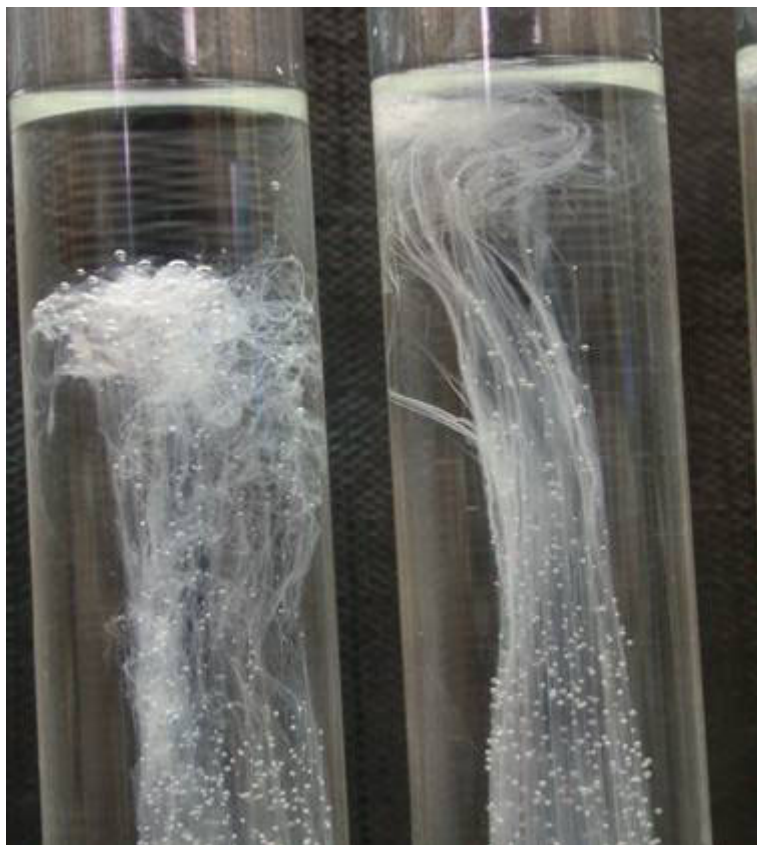
照片十八 火龍果抽取鳳梨 DNA



照片十九 新鮮火龍果與過熟火龍果。推測與拉絲現象有關。



照片二十 常溫下過熟火龍果汁 5c. c. 萃取洋蔥 DNA 時，出現特殊的拉絲現象，絲帶上夾雜著許多小氣泡。



照片二十一 拉絲與氣泡特寫鏡頭。



照片二十二 拉絲與氣泡特寫鏡頭。

2004 Taiwan International Science Fair

Research report

North Taiwan

(VIII) Biochemistry

Fruit's enzyme and DNA

(水果酶 與 DNA)

Key words:

Fruit's enzyme(水果酶),

synchronic ejectors (同步注入器),

synchronic agitation machines(同步攪拌器)

Fruit's enzyme and DNA

Jieh-Hen Tsung

3F, 3, 18 A., 160 L., Dahu St., Neihu Chiu, Taipei, Taiwan, R.O.C.,114
Taipei Municipal Nei-Hu Junior High School, Taipei, Taiwan, R.O.C.

Abstract

In this study, what I notice most about the phenomena of a extraction DNA method by using fruit's enzyme are stepping progressive researches, that are at first qualitative analysis, then quantitative analysis (volumetric analysis), and finally deep study the interaction (special phenomena) among the onion juice, fruit's enzymes, salt solution and 95% ethyl alcohol. The enzymes of various kinds of fruits were explored in a kitchen as a laboratory. The compare methods of fruits' enzymes reaction rate have been proposed. The hand-made experimental systems, six synchronic agitation machines and six synchronic ejectors were developed and have been set up to control the key parameters and find out the phenomena of the reaction process. The key parameters are the quantity of onion slurry, fruit's enzymes, salt solution, 95% ethyl alcohol, temperature and mixing time.

The results show that: (1) The onion DNA phenomena through fruit's juice as enzyme is visible in kitchen as a laboratory. (2) The hand-made experimental system demonstrated an effective way to control mixing times, therefore compare methods have well been simplified. (3) All fruits' juice has enzymes function. Normally, the reaction time in process is more than 15 minutes. (4) The enzyme of fruit Pitaya has the highest activity. The reaction time in process of Pitaya juice as enzyme in the reactant onion slurry is less than 40 second. (5) And the optimal quantity of Pitaya juice is 10% of the reactants, since the reaction rate might seem like to the saturated speed, if more than 10%. (6) The reaction rate depends strongly on temperature. The optimal temperature is room temperature, 22.5°C.

Finally, the aggregating effect of the DNA and protein was also observed. The reacted products were examined with the optical microscope and the composition of the products was analyzed and identified by using the UV diffraction method. The interaction among DNA, proteins, salt, ethyl alcohol and water was investigated with computer simulation (the software "Hyper Chem").

Introduction

During September 14 to 22, 2002, there was a popular science education activity "Science week - Genes, Life Science and Bio-technology" in the 2nd activity center of National Taiwan University. The poster of the fair is shown in Photo 1. The fair's sponsor is National Science Council Taiwan, ROC.

I had joined a program of "extraction DNA". The professor, Ting-Fen Tsai, of National Yang-Ming University has designed the program. In the program, she had instructed us to extract plant's DNA by using fruit's enzyme in a kitchen as a laboratory. Through this activity, I understood and got the extraction DNA method. Under the instruction of professor Tsai and by using the pineapple juice as fruit's enzyme, we have extracted the fruit kiwi's DNA successfully. I'm very interested of the program. "Pineapple's enzyme could decompose the DNA-binding proteins of kiwi, so we can get the kiwi's DNA by this method" she had explained to us. The wonder activity attracts me. And my wonderment forces me to try any study the enzymes of various kinds of fruits in the kitchen at home.

Once I select various kinds of fruits for my proposed research and applied hand-made experimental systems to control the key parameters. The phenomena of the reaction process are found out in the same time. Perhaps, through the phenomena I could get much more exciting wonders to fill my scientific life science knowledge.

Therefore, the key parameters which can be applied to study the phenomena of the reaction process of different kinds of fruits, such as quantity of onion slurry, fruit's enzymes, salt solution, 95% ethyl alcohol, temperature and mixing time are investigated in this research.

Materials and methods

A. Raw materials and experimental set up

The experiment system is shown as Photo 2 and 3. It was configured with a set of apparatus, as Trip balance, Thermometer, Test tube, Test tube rack, Filter funnel, Filter paper, Beaker, Microscope, Measuring cylinder, Alcohol, Juicer and Agitator etc. And the hand-made experiment system is six synchronic agitation machines; six synchronic filter apparatus and six synchronic ejectors have been developed. The construction and function are as following:

The hand-made six synchronic agitation machines are shown as Photo 4. They are constructed with toy's motor and soft plastic hose. This apparatus are used to mix up reactant in the same time.

The hand-made six synchronic filter apparatus are shown as Photo 5. They are cut out from plastic drinking water carafe. One part of the water carafe was used as a funnel. The other part was used as a funnel stand. In the funnel is filter paper. With the filter paper, we can separate juice and residual during experiment time.

The hand-made six synchronic ejectors are shown as Photo 7. They are constructed with chopsticks and six ejectors using thermo-plastic glue to bond together. By using this apparatus, the 95% ethyl alcohol can easy and accurate be ejected in 6 test tube. And the reaction phenomena of the 6 kinds of fruit's enzymes can be compared in the same time easily and clear.

The fruits, Pitaya, Papaya (*Carica papaya*) Pineapple (*Ananas comosus*), kiwi (*Actinidia deliciosa*), melon (*Cucumis melon*) and onion were used in this study as raw material, which is shown as Photo 8. The detergent (salatt), salt solution and 95% ethyl alcohol were employed as chemical material for Salting in method.

B. Extraction DNA method

The extraction DNA method, from the professor, Ting-Fen Tsai, of National Yang-Ming University is as below:

- Step 1. Put Peel skin off onion, and chop onion 100g and water 100 cc into juicer. And juicer runs at low speed 1 min. Then the onion is scrambled like slurry.
2. 50 cc scrambled onion slurry and 2.5 cc detergent (salatt) are hold in a beaker. The Slato breaks the cell wall and membrane of onion.
3. To scramble continuously 5 min.
4. To add salt solution (5M) 5 cc. The salt solution is prepared by using 100

cc water and 29.4g salts. Because DNA has negative electricity, salt solution can force DNA decomposes into the onion slurry.

5. Pineapple juice, which is prepared by using the same step 1. to take out 5 cc, and put in to the beaker, which is prepared by using the same step 4. In order to decompose the bonding protein of DNA, the reactant is scrambled continuously 5 min.
6. Using filter funnel and filter paper to separate the juice mixture. The DNA is in the filtered juice.
7. To put 15 cc the filtered juice in to a test tube.
8. To fill the 95% ethyl alcohol in to the test tube, under contacting test tube smoothly falling down. The quantity of 95% ethyl alcohol is two time of the filtered juice in to a test tube.
9. Using timer to counter the reaction time, from the start filling ethyl alcohol to the gathered DNA floated under the surface of filtered juice mixture.

C. Experimental procedure

At beginning, how is the DNA cluster? Pineapple and onion, only two objects, were focused to study the qualitative analysis. Which one can gather DNA cluster? Using the enzymes of the various fruits, as pitaya, papaya (fresh and over ripe) pineapple, kiwi and cucumis melon to extract onion DNA, is prepare to begin study the quantitative analysis (volumetric analysis).

Then, which one react the fastest? To compare the reaction time of the gathering process is studied in room where the temperature. What happens, if pitaya juice has different temperature, as enzyme? Is the temperature a key factor during experiment time? How is the difference of the reaction time with the different quantity of pitaya juice? What is the difference between pitaya juice and pineapple juice as enzyme? Are there difference phenomena between seed and pulp?

Finally, in order to observe the microstructure phenomena of the products 'gathered DNA', which were examined with the Ultra-Violet Spectroscopy (UV). And the surface morphological microstructure of the products was also examined by a conventional phase contrast optical microscopy (PCOM).

Experiment results and discussion

1. Qualitative analysis

The pineapple's juice as enzyme to extract onion DNA, the result is shown in Photo 9. The gathered DNA has floated up to under the surface of filtered juice mixture. As Photo 9 to 12 are showed, that various kinds of fruit's enzymes can also extract onion DNA and gather as a cluster. In the case of pitaya juice as enzyme is as like the fastest reaction time of the process. So we can see the onion DNA extraction phenomena through fruit's juice as enzyme is visible in kitchen as a laboratory.

2. Development of hand-made experimental systems

In this research, when applying the hand-made experimental systems, the key parameters were successfully controlled. The variant temperature influence in the room can be neglected and the all kick off points can be exactly controlled. Then, measuring the quantity of the key parameters is meaningful and exact, especially for comparing the reaction time of the gathering process. And the wonderful phenomena and the exact experiment results of the reaction process can be found out in the same time. So, the reaction phenomena of the various kinds of fruit's enzymes can be compared in the same time easily and clear. And the hand-made instrument demonstrated an effective way to control mixing times, therefore compare methods have well been simplified.

3. Quantitative analysis (volumetric analysis)

The Fig. 1 to 7 shows that: The pitaya juice as enzyme is the fastest reaction speed (in 34 second) of all fruits' juice as enzymes. The temperature is a key factor of reaction process during experiment time. The reaction rate depends strongly on temperature. Fig. 4 shows that when the temperature was higher, the reaction speed (sec) increase more rapidly, and then decreased slowly. In other words, the optimal temperature for pitaya juice as enzyme of the reaction is 22.5 °C. The optimal temperature for pitaya juice as enzyme of the reaction is 22.5 °C. The optimal quantity for pitaya juice as enzyme of the reaction is the volume from 6 to 8 cc. For the volume 1cc pitaya juice as enzyme has reaction speed a limitation about 50 sec. The DNA quantity of seed is much more than pulps. All fruits' juice has enzymes function. Normally, the reaction time in process is more than 15 minutes. The enzyme of fruit Pitaya has the highest activity. The reaction time in process of Pitaya juice as enzyme in the reactant onion slurry is less than 40 second. And the optimal quantity of pitaya juice is the volumetric rate 10% of the reactants, since the reaction rate might seem like to the saturated speed, if more than the volumetric rate 10%.

4. Special phenomena

The extraction DNA method has been carried out successfully, the UV-absorption spectra are shown in Fig. 8, 9, 10 and 11. The experimental results were found out special phenomena as shown in photo 15 to 17. A silk like band, on which there are many small bubbles, was found after experimental measurement. The PCOM photo reveals the cell structure of the raw materials, onion and pitaya, as shown in Photo 23 to 26. The transparent parts are proteins substance, and the silk wire as well as thread seem like they are the DNA clusters. It's shown in Photo16&17.

5. Detail Study

In order to observe details the interaction among DNA, proteins, salt, ethyl alcohol and water clearly, computer simulation (the software “HyperChem”) was taken, and the result is shown in photo 18 to 22. The photos are the lowest energy level of the atoms. HyperChem is ease of use to investigate the special phenomena, because it's a sophisticated molecular modeling, uniting 3D visualization and animation with quantum chemical calculations, molecular mechanics, and dynamics. The atoms of protein and DNA are not only too complex to simulate but very interest. Therefore, this topic should be deeply studied forever.

Conclusion

The hand-made synchronic experimental systems have been successfully developed and to control the key parameters.

The qualitative analysis shows, that the different fruits have the different enzymes. The quantitative analysis (volumetric analysis) is then used to find out, that the pitaya's enzyme has more activity than others. The reaction time of the pitaya juice as enzyme is the shortest. It may provide a new important information to study food science.

And the temperature and quantity of juice are key parameters of reaction process.

Finally, special phenomena during the reaction process are not only very complex and interest but it should be more detail and deeply studied in the future.

References

1. <http://www.dls.ym.edu.tw/2002dna.htm>.
2. Ing-Jueng Liu, enzymes *Engineering*, 2th edition, Central Publisher Co., Taipei, 1994, ISBN 957-637-229-1.
3. Mahlon Hoagland , Bert Dodson, *The Way Life Works*, Commonwealth Publishing Co., Ltd. Taiwan Taipei, 2002, ISBN 986-417-000-7.
4. Jieng-Ae Lin, Mei-Huei Yang, Tie-Chang Liao, Jieng-Ho Hsia, *Chemistry Dictionary*, 2th edition, Gau-Li Publisher Co., Taipei, 2000, ISBN 957-584-088-7.
5. Robert L. Wolke, What Einstein told his cook: Kitchen Science Explained, Faces Publications, a division of Cite Publishing Group, Taipei, 2002, ISBN 986-7896-09-2.
6. Chieng-Kong Wang, *Eco-Agriculture in Pitaya Planting*, Taiwan Pitaya Enterprise Co. Publication, Taipei, 2002, ISBN 957-97802-0-x.
7. Zhong-Ien Liu, Zhie-Ching Lue, *Buzhidao De Shijie*, I-Van Publisher Co., Taipei, 2000, ISBN 957-694-416-3.
8. <http://ccms.ntu.edu.tw/~juang/ECX/Pur2.htm>
9. <http://www.hmb.com.tw/>



Photo 1 The poster of the fair “Genes, Life Science and Bio-technology”



Photo 2 Test tube, Test tube rack, Balance, Juicer and Agitator etc



Photo 3 Using juicer to prepare experimental material

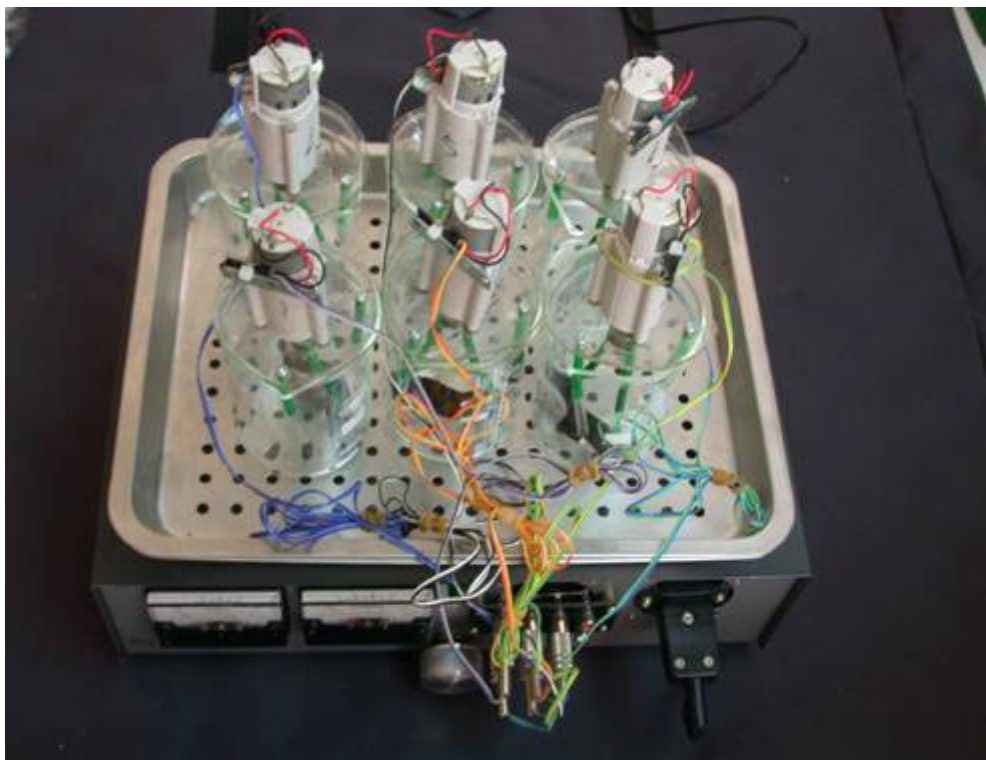


Photo 4 The hand-made six synchronic agitation machines

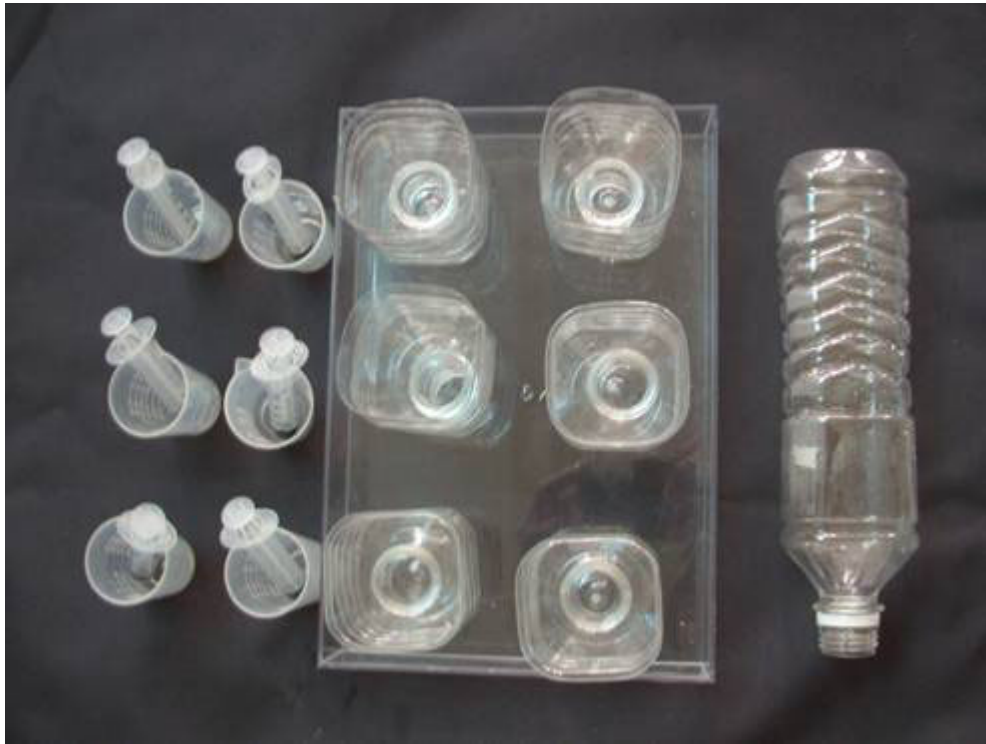


Photo 5 The hand-made six synchronic filter apparatus



Photo 6 The filter paper is in six synchronic filter apparatus

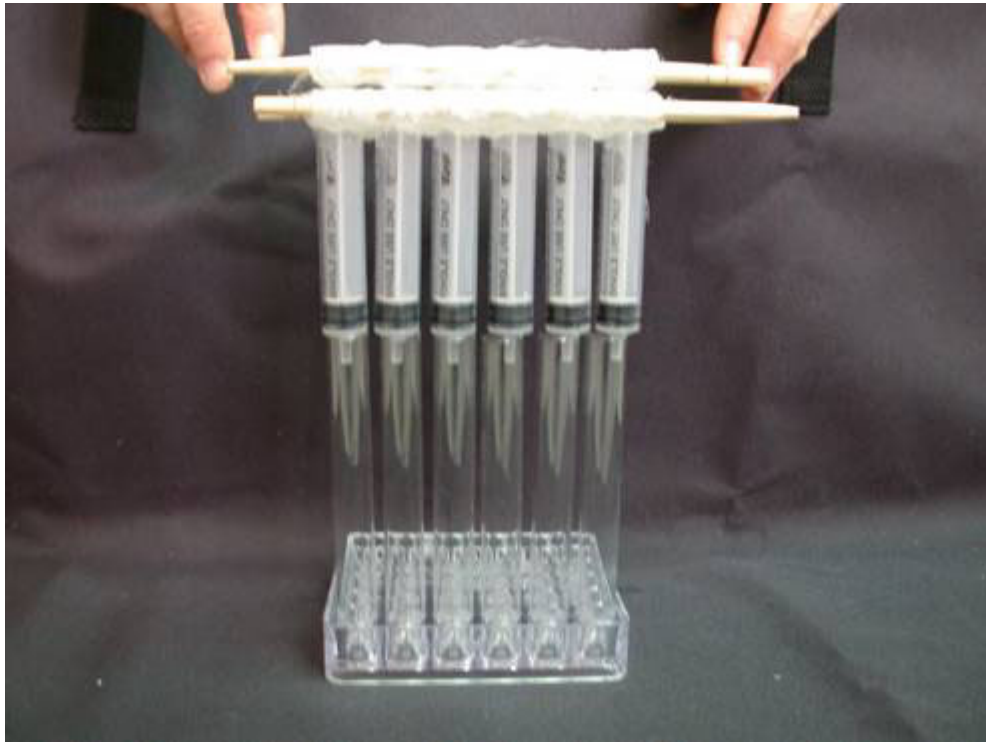


Photo 7 The hand-made six synchronic ejectors



Photo 8 the fruits are used in the study



Photo 9 The pineapple's juice as enzyme to extract onion DNA, the gathered DNA is floating up



Photo 10 In the Beaker is extracted and gathered onion DNA, unripe papaya juice as enzyme. (left: ripe, right: not ripe and gathering faster)



Photo 11 In the Beaker is extracted and gathered onion DNA, ripe papaya juice as enzyme.



Photo 12 Many kinds of fruit's enzymes can also extract onion DNA and gather as a cluster. Pitaya juice as enzyme is the fastest

reaction time .

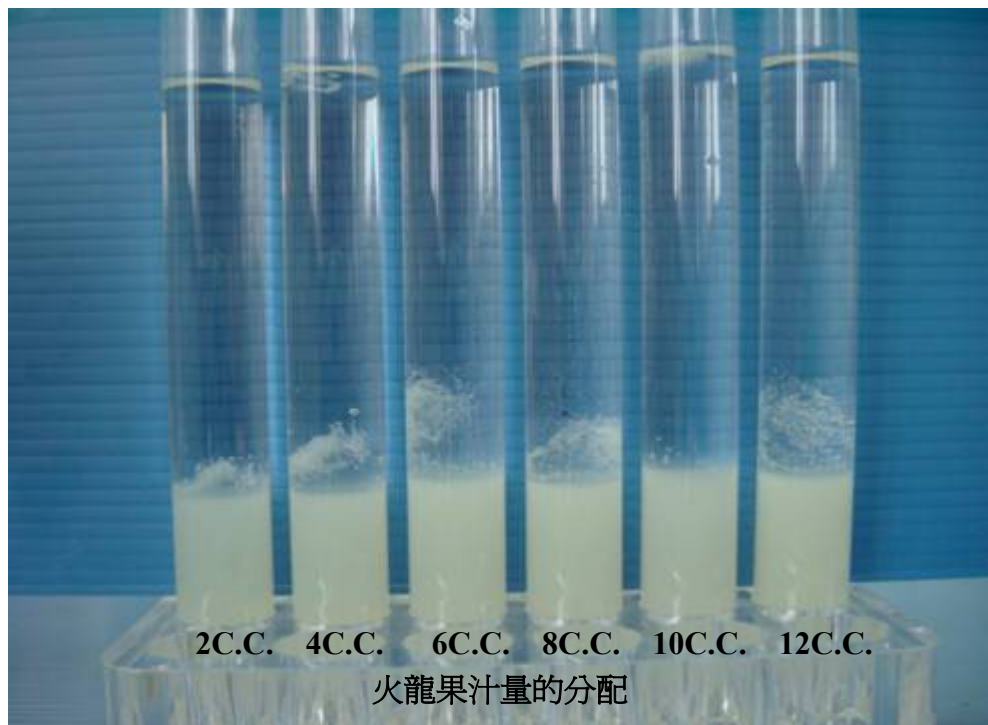


Photo 13 Comparing the reaction time of the gathering process
(The pitaya juice for reaction is 6 cc the fastest.)

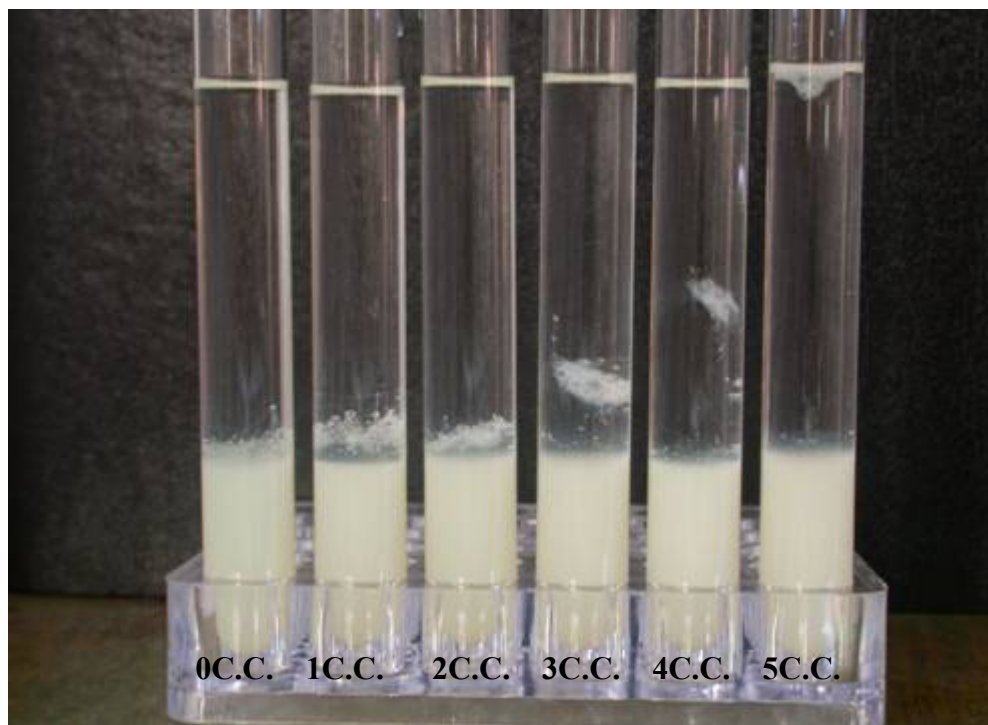


Photo 14 Comparing the reaction time of the gathering process
(The pitaya juice for reaction is 5 cc the optimal quantity.)



Photo 15 Pineapple juice as enzyme to extract pitaya pulp and seed DNA

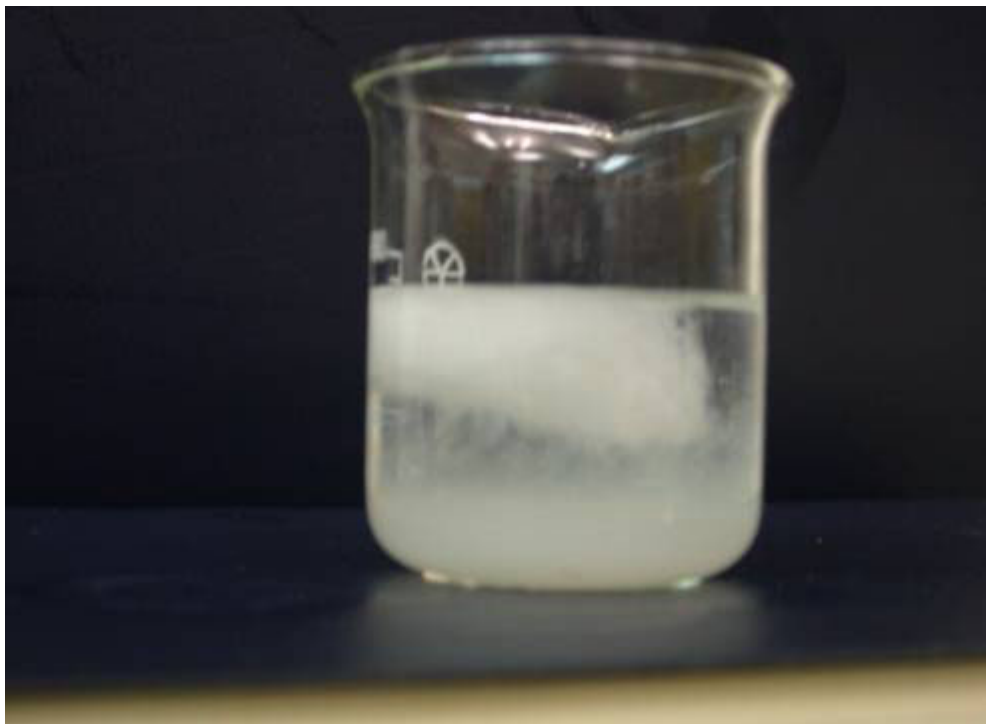


Photo 16 Pineapple juice as enzyme to extract pitaya pulp DNA

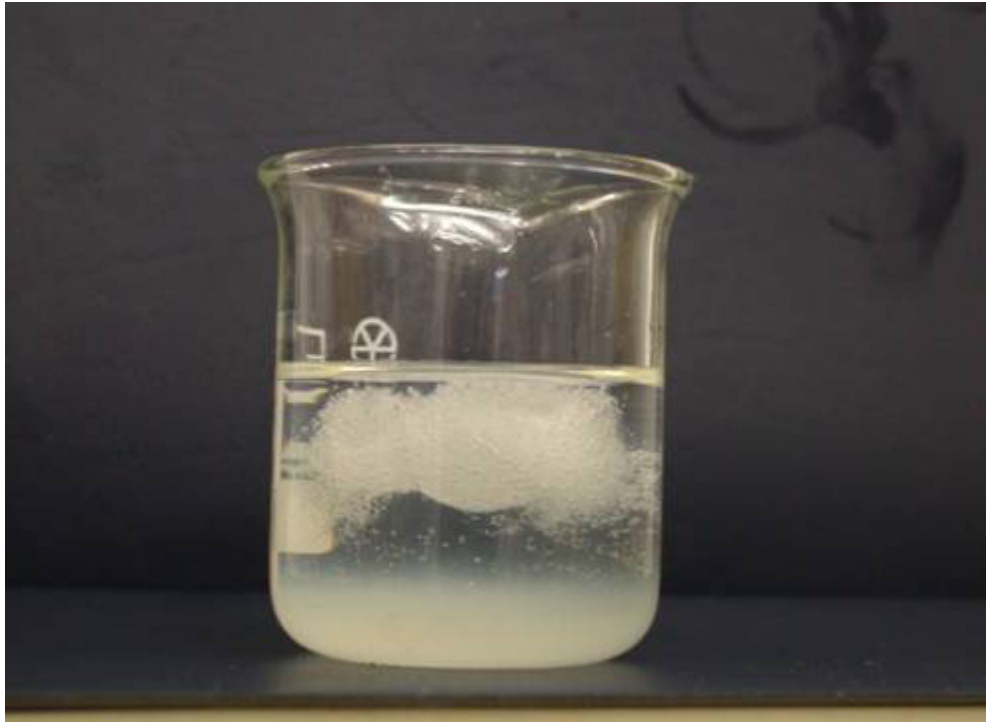


Photo 17 Pineapple juice as enzyme to extract pitaya seed DNA

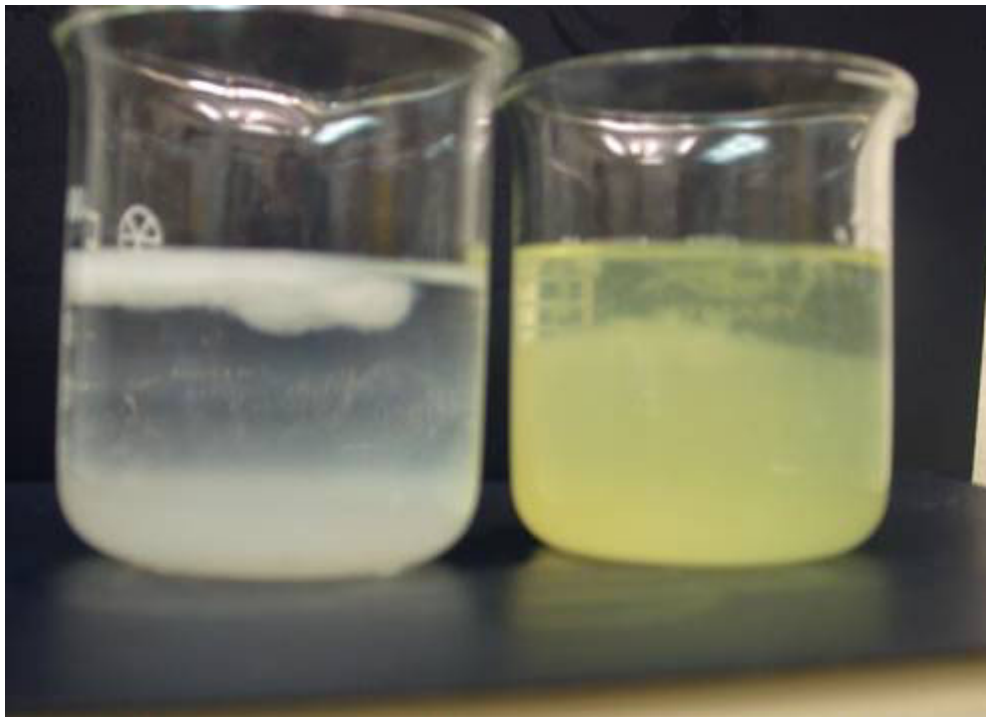


Photo 18 Pitaya juice as enzyme to extract pineapple DNA



Photo 19 fresh pitaya

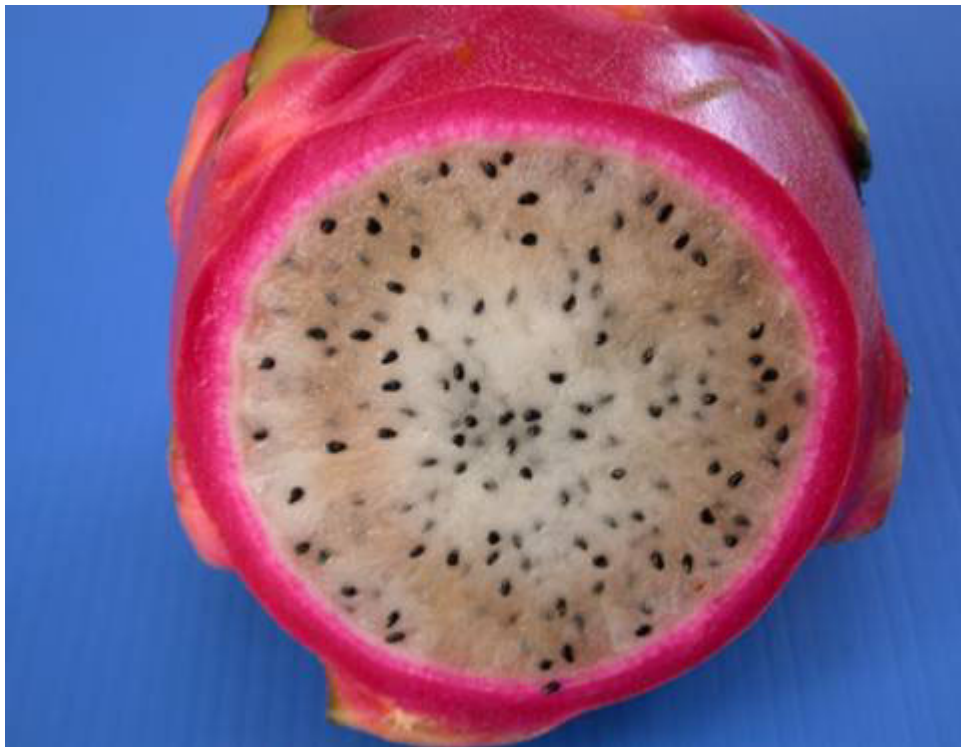


Photo 20 Over ripe pitaya

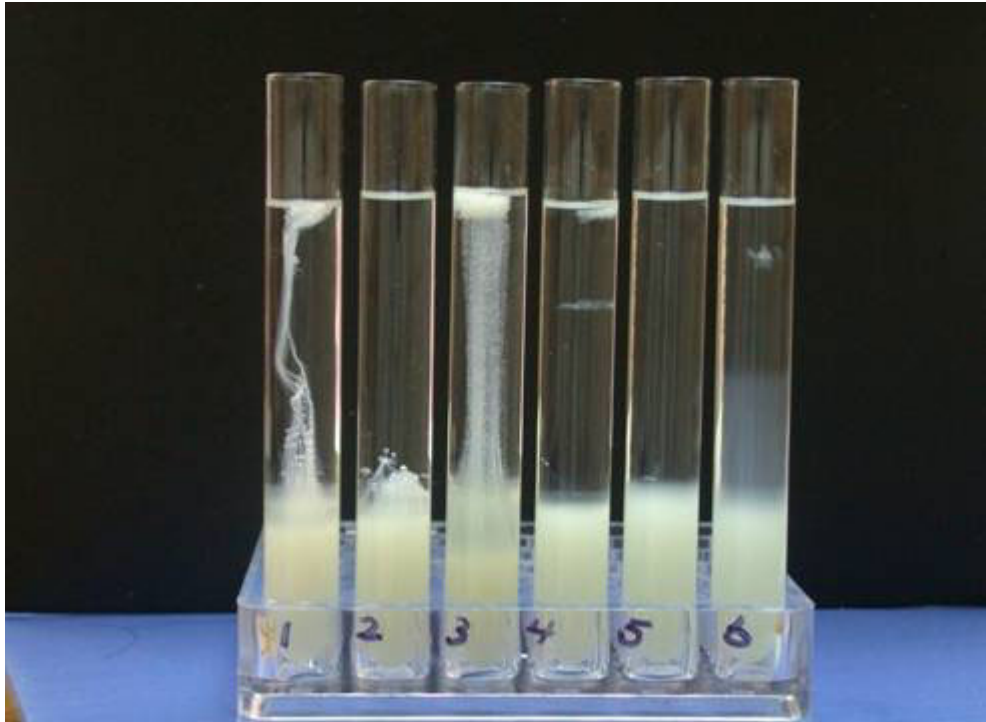


Photo 21 A silk like band, on which there are many small bubbles.

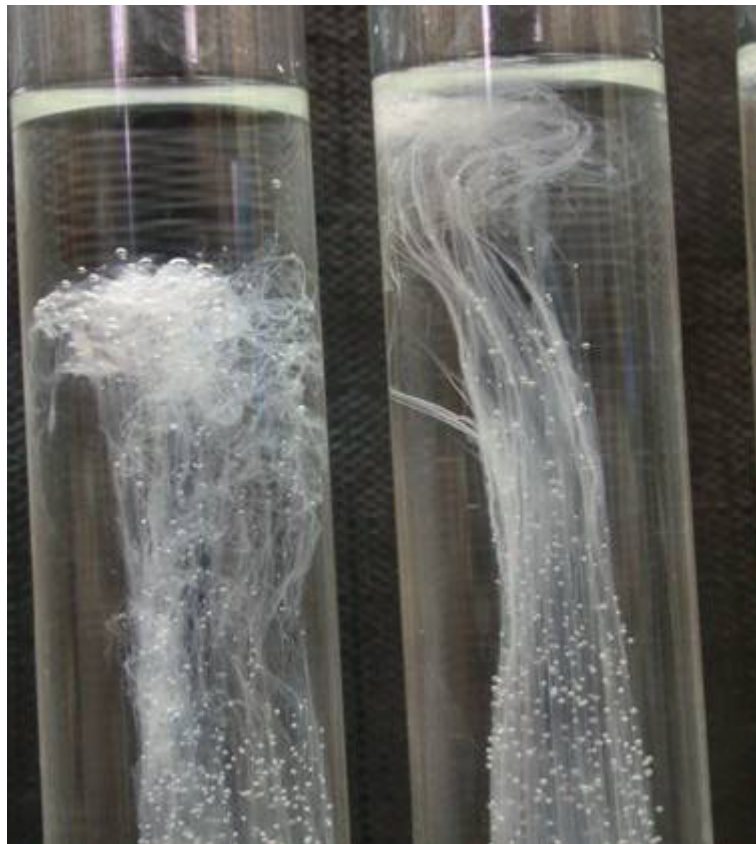


Photo 22 The transparent parts are proteins substance, and the silk wire

as well as thread seem like they are the DNA clusters.



Photo 23 The structure of the silk like band is quite different.



Photo 24 The cell structure of fresh onion. (PCOM x 100)

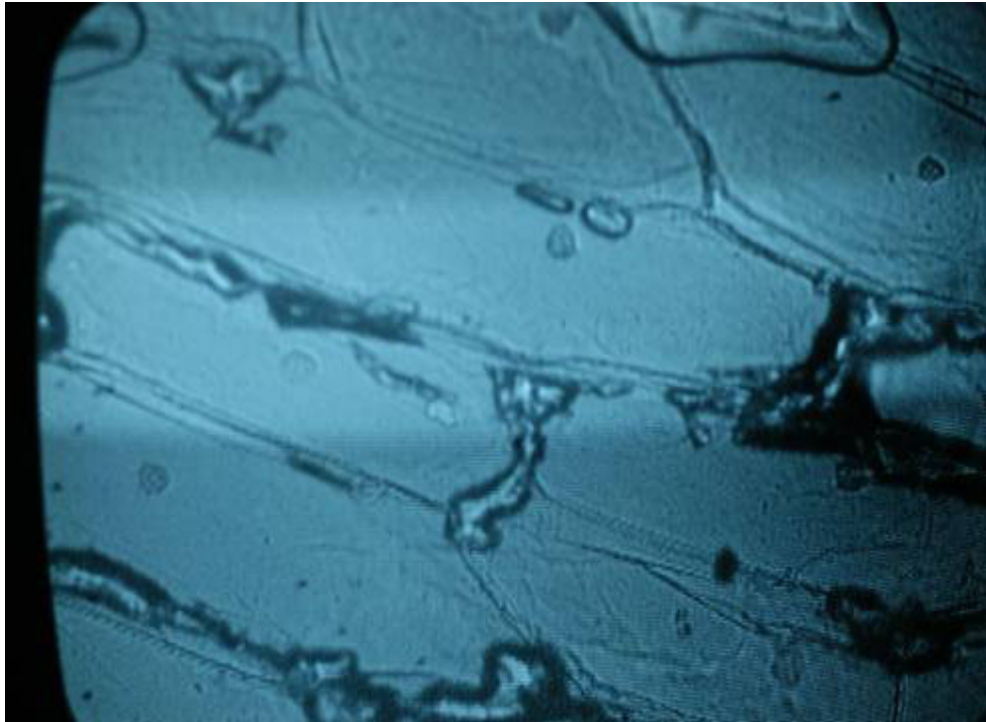


Photo 25 The cell structure of fresh pitaya. (PCOM x 100)



Photo 26 The cell and nuclei structure of fresh pitaya. (PCOM x 100)



Photo 27 The DNA cluster of fresh pitaya.(x 100)

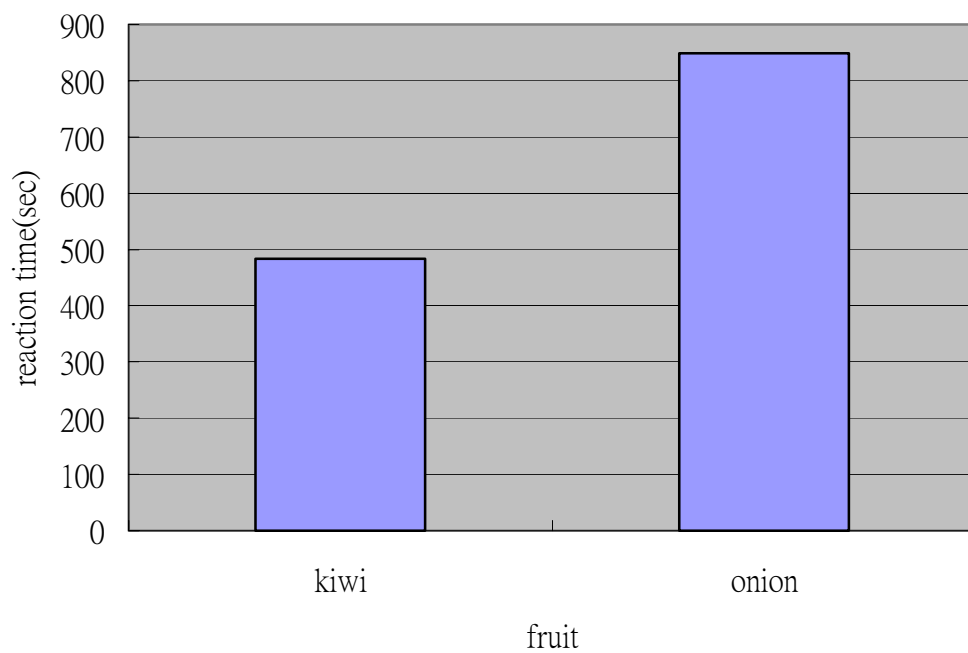


Fig. 1 Comparing the reaction time of pineapple juice as enzyme to extract kiwi and onion DNA

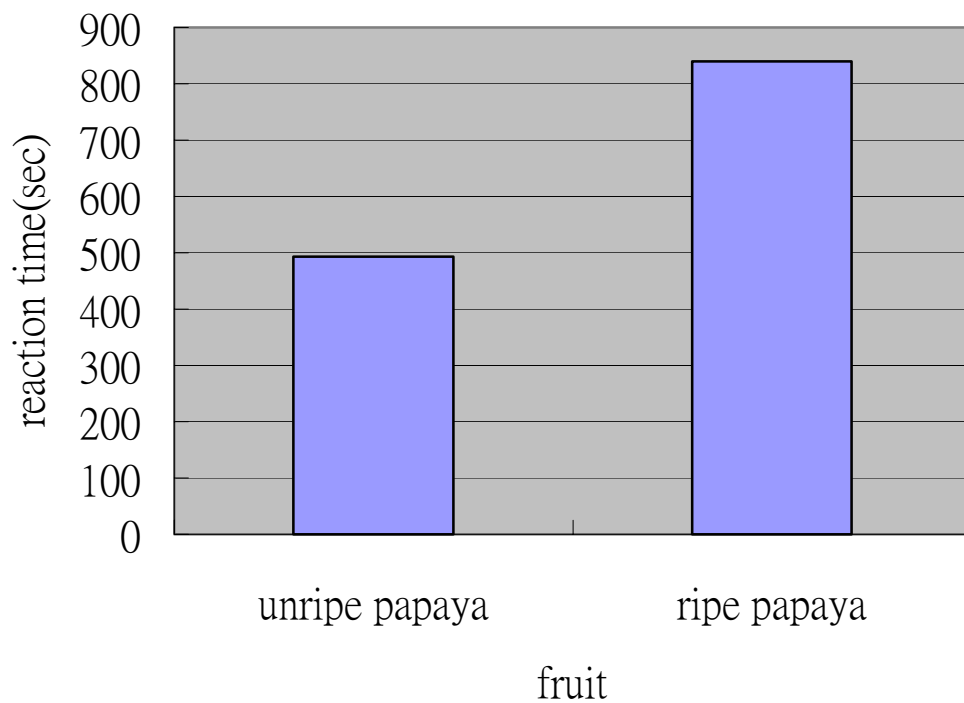


Fig. 2 Compare the reaction time of not ripe papaya and ripe papaya juice as enzyme to extract onion DNA

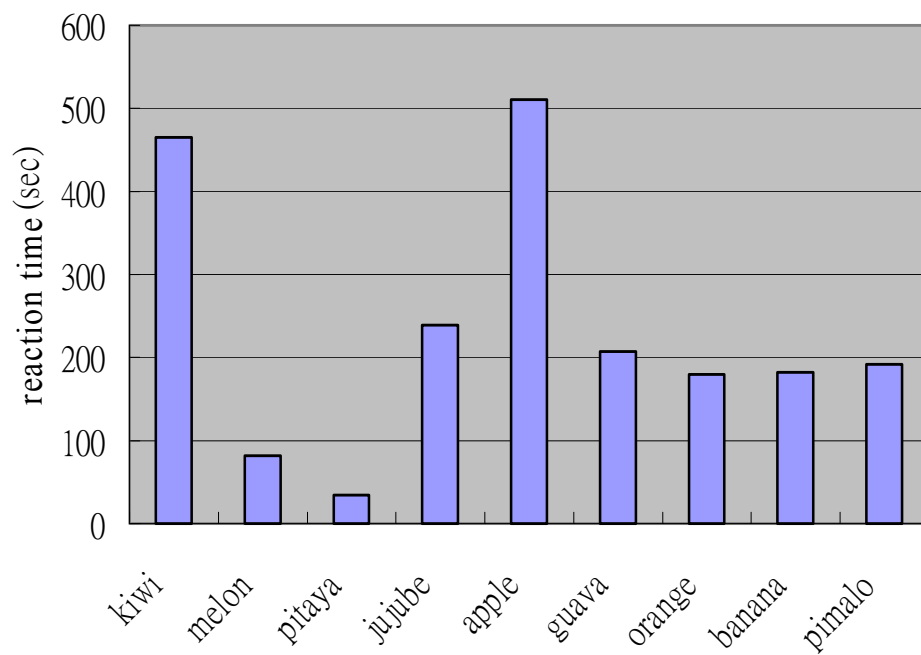


Fig. 3 Comparing the reaction time of different kinds fruits juice as enzyme to extract onion DNA

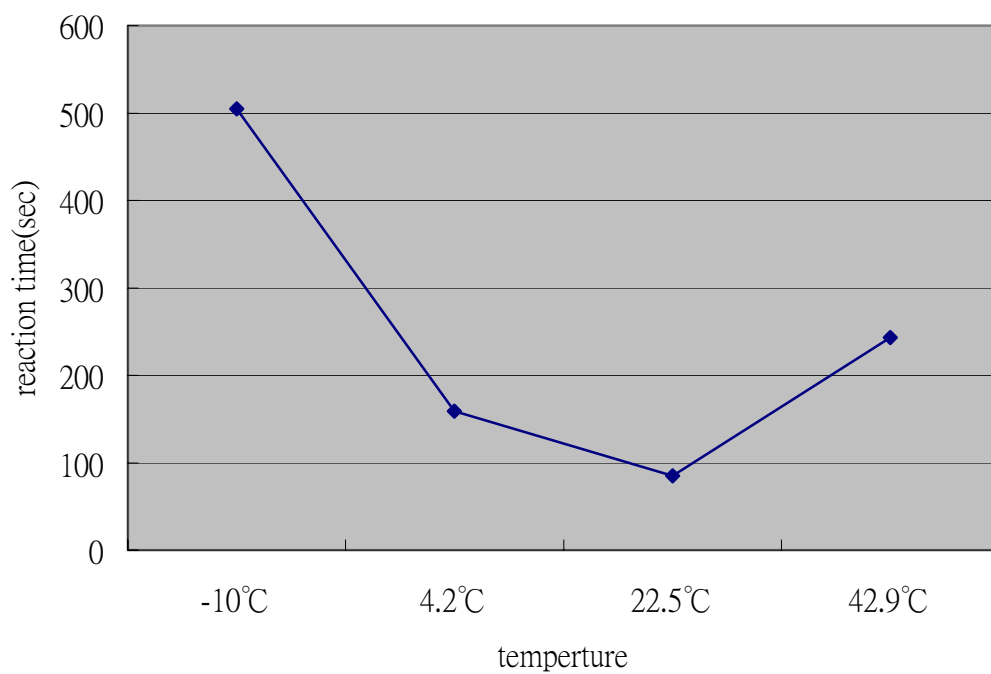


Fig. 4 Plot of reaction time (sec) versus temperature (°C)

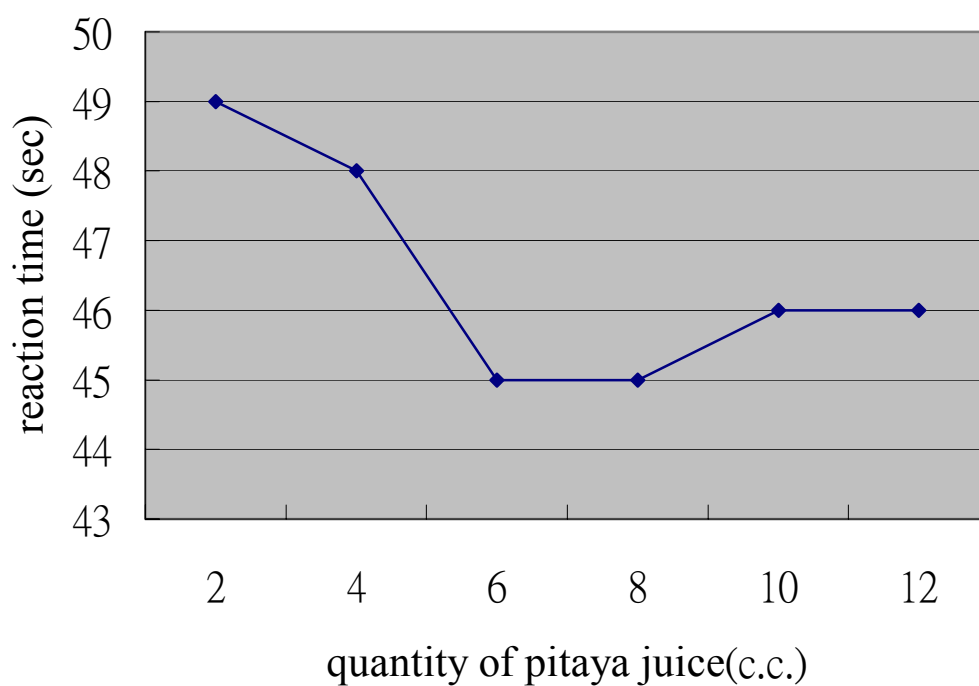


Fig. 5 Plot of reaction time (sec) versus quantity of pitaya juice as enzyme (c.c.) the bias volume 2 cc.

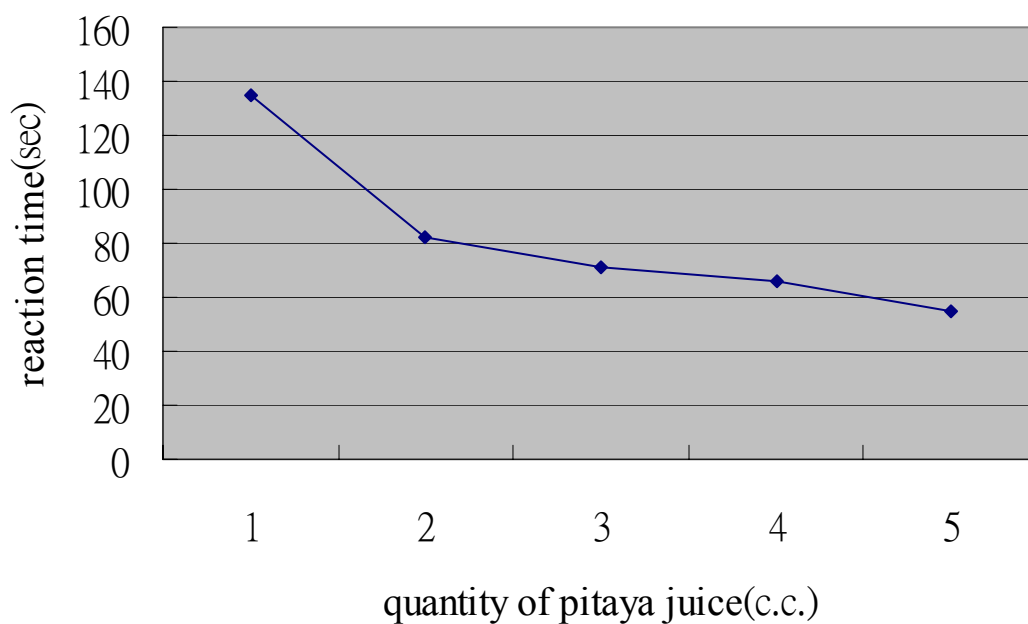


Fig. 6 Plot of reaction time (sec) versus quantity of pitaya juice as enzyme(c.c.), the bias volume 1 cc.

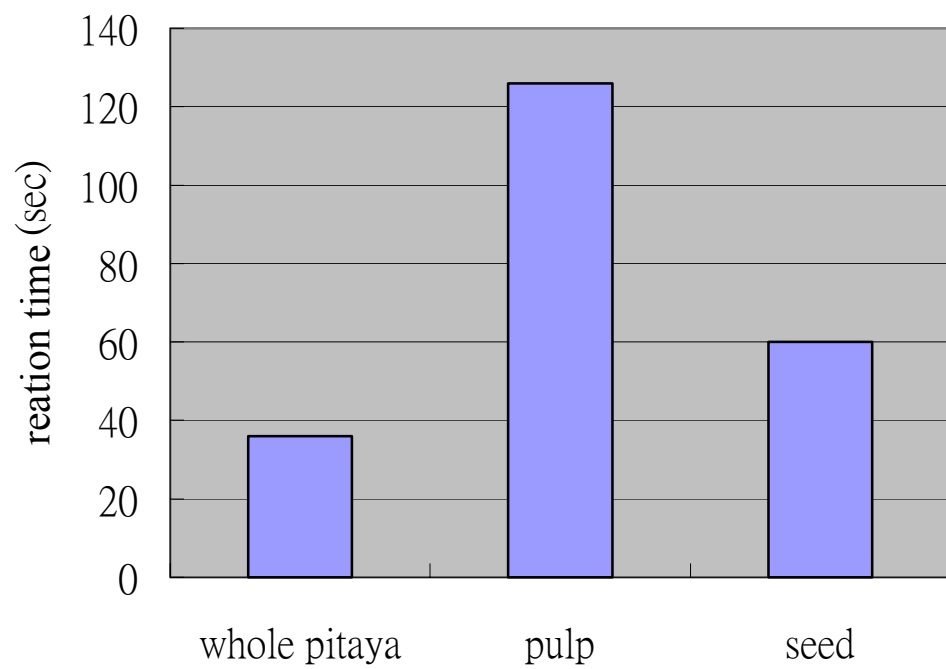


Fig. 7 Compare the reaction time of not ripe papaya and ripe papaya juice as enzyme to extract onion DNA

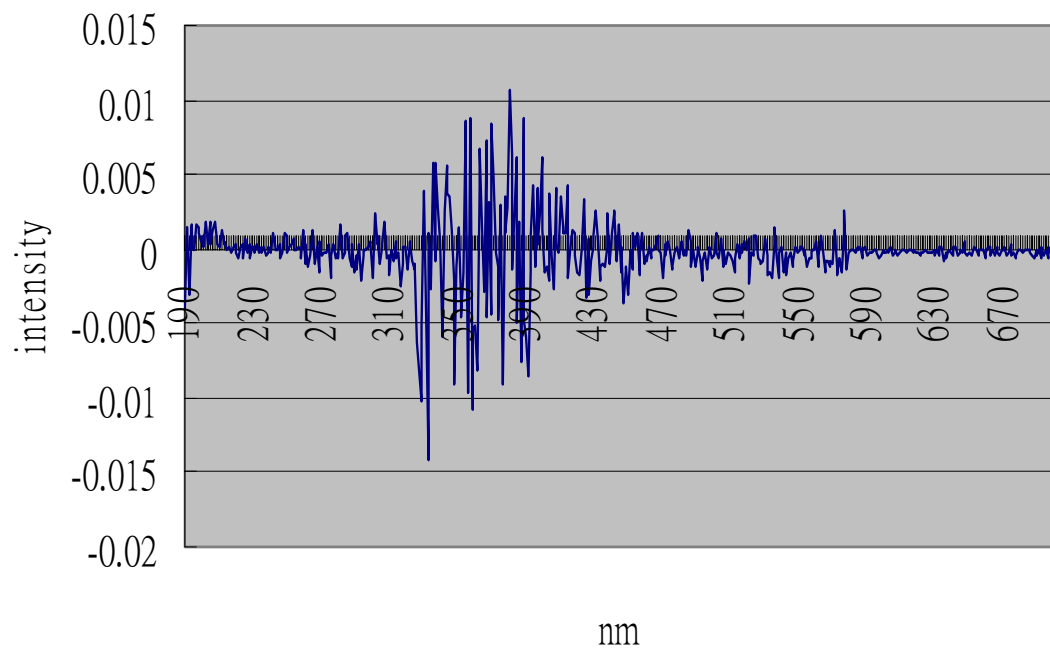


Fig. 8 UV- absorption spectra of water

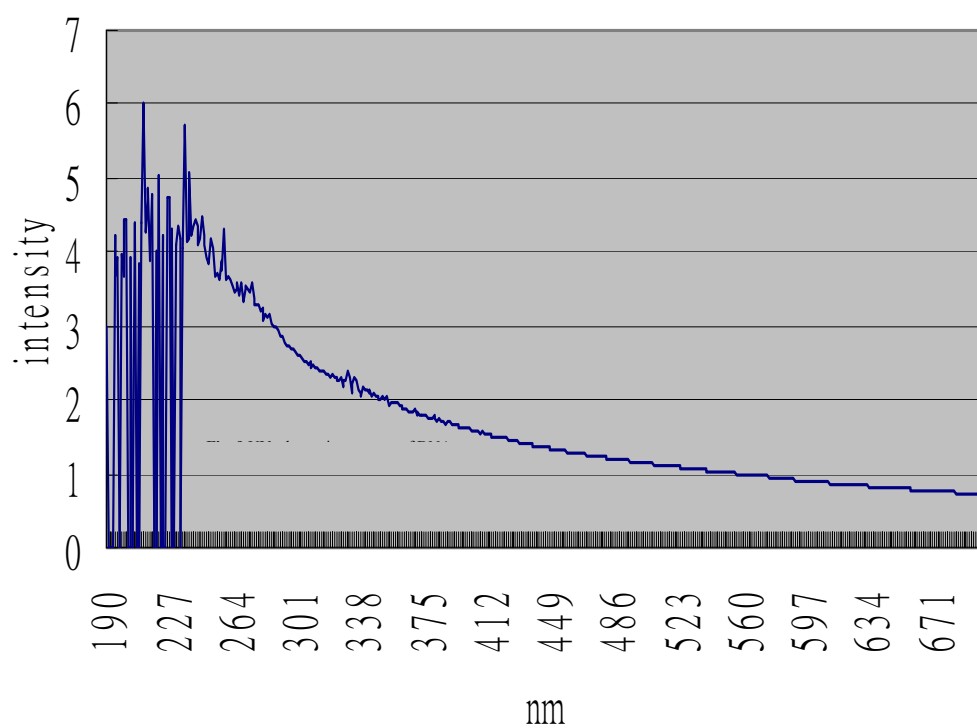


Fig. 9 UV- absorption spectra of DNA

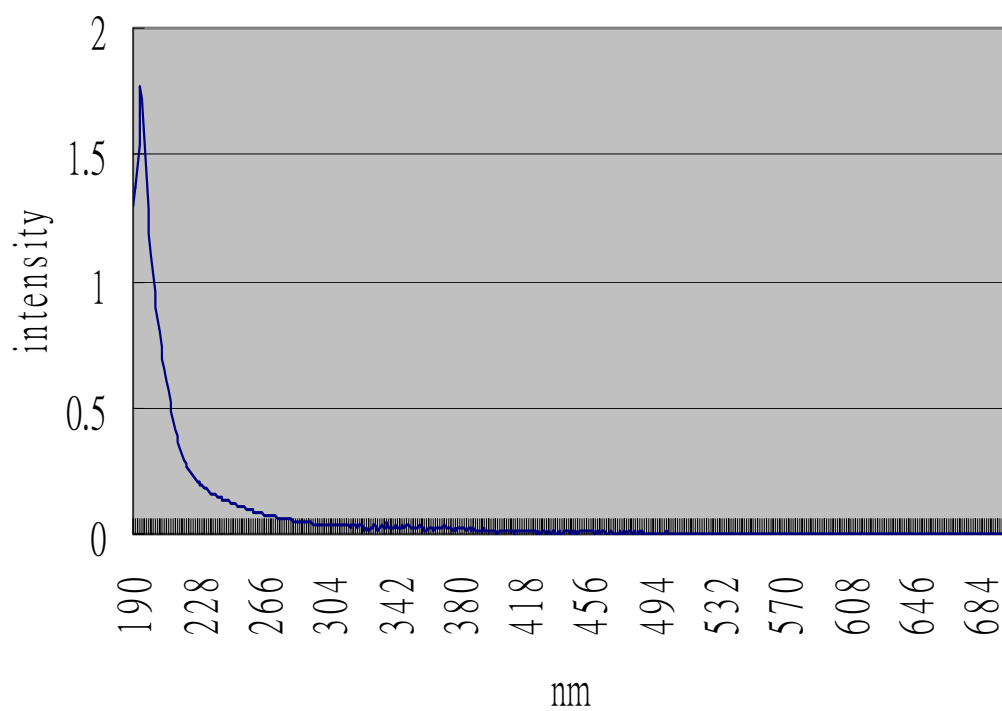


Fig. 10 UV- absorption spectra of middle layer

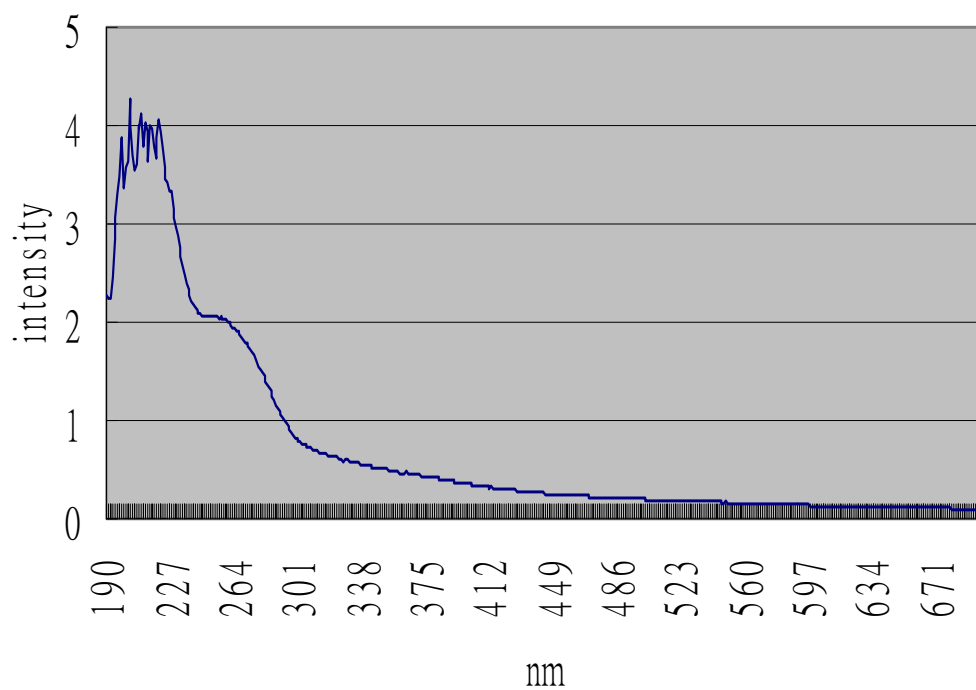


Fig. 11 UV- absorption spectra of onion jam

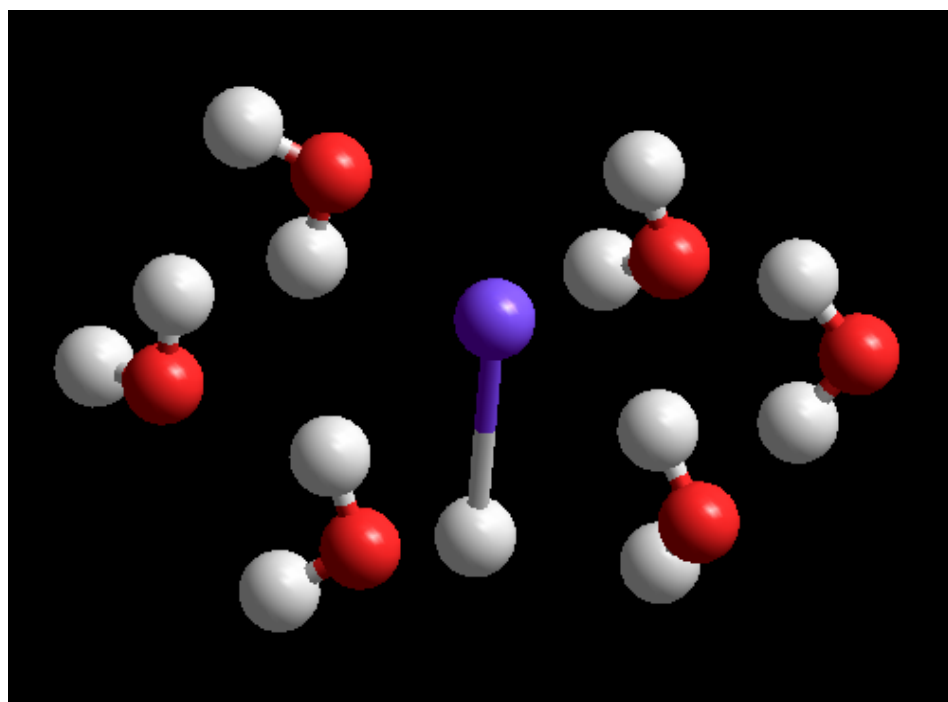


Fig. 12 HyperChem simulation, Connectivity of ethyl alcohol and water

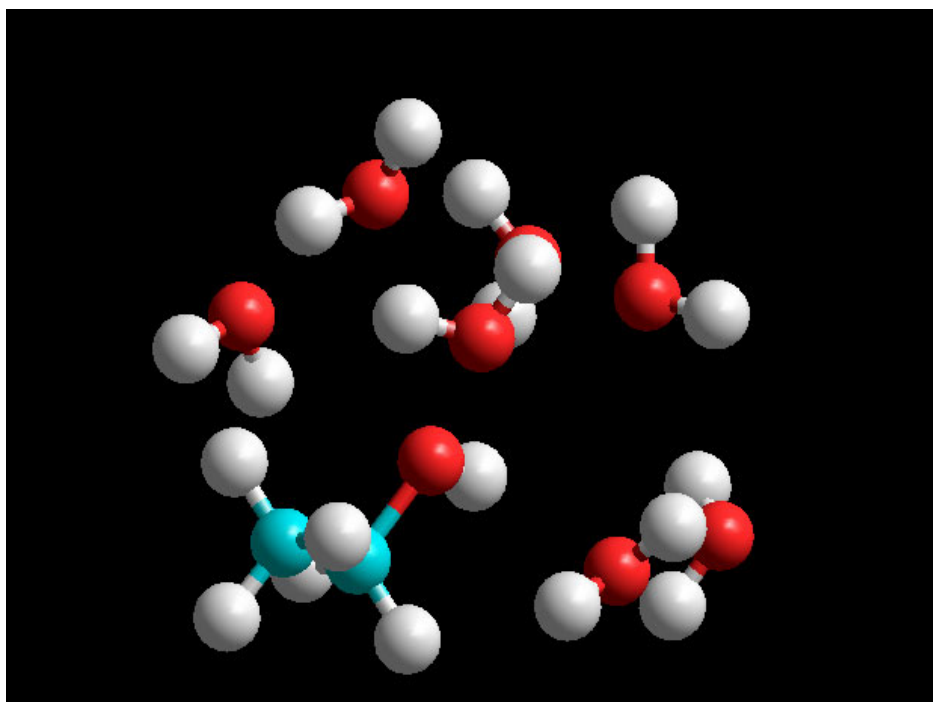


Fig. 13 HyperChem simulation of ethyl alcohol and water

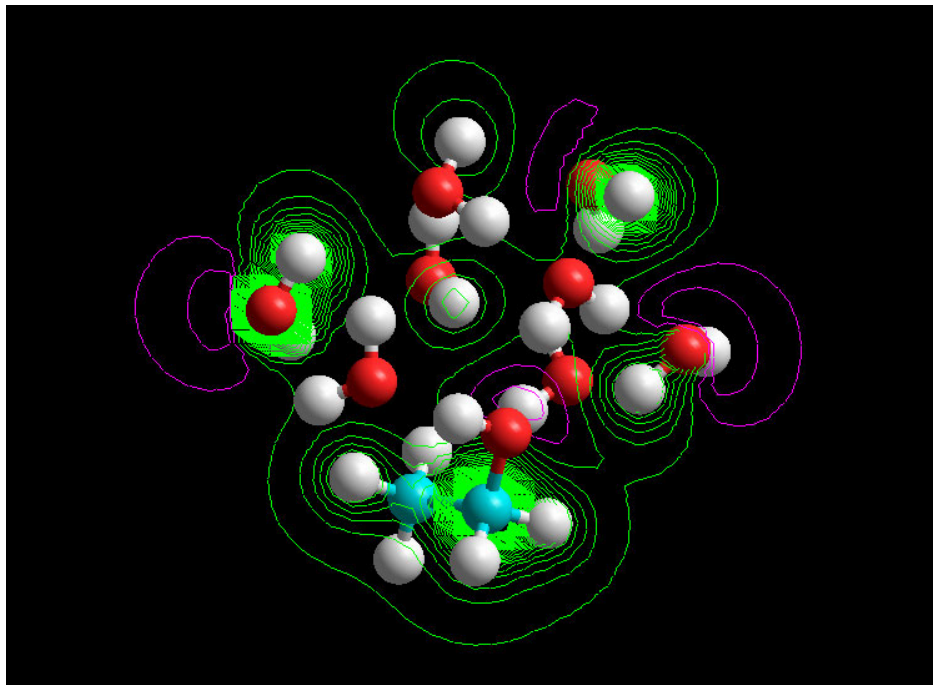


Fig. 14 HyperChem simulation, Electrostatic potential of ethyl alcohol and water

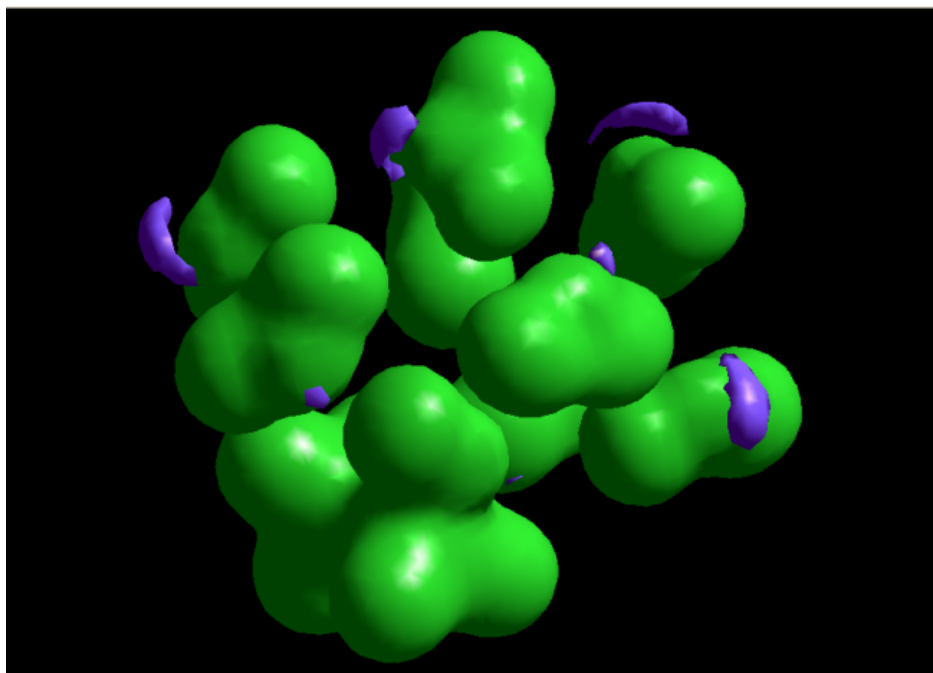


Fig. 15 HyperChem simulation, Total charge density of ethyl alcohol and water

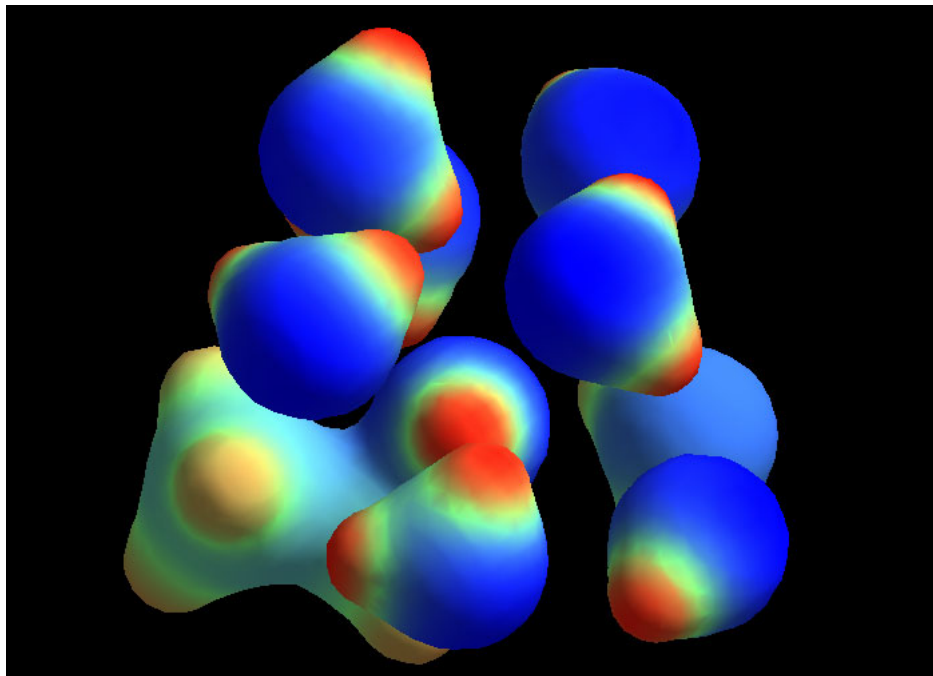


Fig. 16 HyperChem simulation, 3D-Isosurface of ethyl alcohol and water

評語及建議事項

鍾同學英文表達能力相當，化學實驗能力亦有超越同齡層的水準，然其有興趣的問題，仍須進一步集中焦點，綜言之，鍾同學具潛力，可加強訓練。