中華民國第60屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組　化學科

第三名

030203

以自組修飾光學檢測儀器探討甜菜紅的特性及與銅鉛離子的作用

學校名稱：彰化縣立彰泰國民中學

作者：	指導老師：
國二 高宜蓁 國二 余巧庭 國二 劉宥汶	陳柏村

關鍵詞：甜菜紅、銅離子、鉛離子

摘要

本研究自組光學檢測儀器，探討甜菜紅與銅鉛離子的作用特性，用於評估含甜菜紅蔬果與銅鉛接觸之食品安全，及應用於銅鉛離子檢測的開發。研究中先測試自組儀器的穩定度，尋找不同色光測定甜菜紅靈敏度及適用濃度範圍，以光譜強度的消退探討銅鉛離子與甜菜紅的作用及不同酸鹼值的影響。研究發現銅鉛離子均會消退甜菜紅的光譜強度，因此在銅鉛接觸下，甜菜紅將有食安的疑慮。研究也發現，在 pH 10 甜菜紅與銅鉛離子具有穩定作用關係，銅離子在濃度 4×10^{-5}M 以下有線性關係，偵測極限為 0.095ppm；鉛離子在濃度 2×10^{-5}M 以下有線性關係，偵測極限為 0.25 ppm。因此，利用甜菜紅的光譜強度，有潛力開發為銅、鉛離子的檢測方法。

壹、研究動機

甜菜紅素為少數能被允許使用於食品的天然色素，常以食用紅甜菜為原料，通過浸提、分離、濃縮、乾燥而成。國內新興水果的紅龍果具有豐富的甜菜紅素，也作為甜菜紅素的主要來源。根據研究發現，火龍果皮中更富含有甜菜紅素，具有抑制癌細胞、抗發炎的效果，所以火龍果皮用於萃取甜菜紅素。波爾多液是由硫酸銅與氫氧化鈣以不同比例配置成的液體農藥，藉著銅離子釋放進入病菌體內，凝固菌絲細胞膜的蛋白質和破壞活性，致使病菌死亡，起到殺菌防病作用。波爾多液是綠色食品所允許使用的天然農藥，廣泛地防治果樹、蔬菜，園林、花卉上多種病害，也常被推薦施用於火龍果病害的防治。銅離子為重金屬，長時間停留在火龍果植株或果實上，是否會滲進果皮甚或果肉中，與豐富的甜菜紅素起作用產生重金屬殘留，而造成食安問題的疑慮，引起我們研究的興趣。甜菜紅常從甜菜根萃取，土壤中若有鉛的汙染，是否也會與甜菜紅素結合，也是我們好奇的議題。我們試著用富含甜菜紅素火龍果皮做初步實驗，將火龍果皮榨成汁液過濾後加入金屬離子溶液，發現銅離子與鉛離子都能使甜菜紅素顏色從原本的紅色慢慢變成無色，推測甜菜紅素可能會與銅離子及鉛離子產生反應。因此想探討銅鉛離子與甜菜紅的反應情形，也探討是否能以甜菜紅與銅或鉛離子的作用，開發為銅或鉛離子的檢測方法。

貳、文獻探討及研究原理

一、文獻探討

近幾年來的中小學科展作品，有不少作品是利用如葉綠素、薑黃素、幾丁聚醣、大腸桿菌、及甜菜紅等天然物質，與金屬離子的結合或螯合作用，用來探討、偵測、或去除特定的重金屬離子。

在54屆國中組化學科”開發葉綠素檢驗微量重金屬的方法”，利用菠菜中萃取的葉綠素照光後所產生的螢光，結果發現葉綠素螢光會隨著銅離子濃度變化，且銅與葉綠素反應後螢光會變弱，但是菠菜裡不只有葉綠素，有其他物質可能也會與銅離子反應。推測可能是天然植物的成份中含有一些可以與金屬結合的結構，例如葉綠素本身為天然色素，會與金屬離子結合，原本的鎂離子會被銅離子取代形成更穩定的銅葉綠素，若用酸的氫離子去取代金屬，則會變成褐色，所以我們推測天然色素會因為酸鹼或金屬離子的結合而改變顏色。

有些作品提到某些天然的物質有與金屬吸附或螯合的反應，在57屆國高中組化學科”新式污水處理複合材料－結合薑黃素與幾丁聚醣清除水中有機物和重金屬離子”，利用薑黃素與幾丁聚醣結合，消除水中有機色素與重金屬離子，淨化水質。利用薑黃素光降解、可螯合重金屬離子之特性，設計一套可以淨化水質的系統。

還有57屆高中組化學科的”反「薑」一「金」—探討薑黃素對於金屬離子的螯合作用”，這些作品都是利用一些有機化合物來與金屬離子反應，來達到檢測或吸附的目的，所以在藥品的選用上可以先探討物品的結構。在2017年台灣國際科展環境科學科”神農菌、嚐百草–利用基因轉殖的大腸桿菌偵測中草藥內的重金屬”與58屆高中組環境學科”砷汙染終結者：中藥砷汙染的生物感測器與螯合器”，得知有些中藥、草藥中都會含有重金屬的成份，

以上所使用的天然植物的成份，推測可能是天然植物的成份中含有一些可以與金屬結合的結構，例如葉綠素本身為天然色素，會與金屬離子結合，原本的鎂離子會被銅離子取代形成更穩定的銅葉綠素，若用酸的氫離子去取代金屬，則會變成褐色，所以我們推測天然色素會因為酸鹼或金屬離子的結合而改變顏色。

以上的文獻可得知利用一些天然的有機物，並先了解物質本身的結構特性，藉由特性來達到吸附及螯合金屬離子的效果，根據此我們找尋報導的連結，得知甜菜紅本身為天然色

素，以火龍果皮萃取嘗試實驗後，發現紅色的汁液會與部份的金屬離子產生顏色褪色，因此想找尋與甜菜紅素相關的文獻。

在歷屆科展作品中，研究甜菜紅的作品有幾件，54 屆國中組化學科的”花開花飛花滿天－以手機應用軟體色差計探討植物色素對酸鹼與重金屬之色差值可行性”，以甜菜根的溶液來代表甜菜紅色素，但甜菜根富含維生素 C 和維生素 A，維生素 B1、B2，粗蛋白、粗脂肪、膳食纖維、容易消化吸收的醣類等其他成份，都可能會與金屬產生反應，且利用手機拍照時的些微的角度不同或是環境光源都可能造成顏色的差異。在 58 屆國中組生活與應用科學(二)科的”非常好色，左右紅圓---火龍果皮色素萃取之應用”，以火龍果萃取色素再用針筒滴定 20 滴 10^{-2}M 金屬離子溶液，火龍果色素沒確定濃度以外也會有其他成份，且金屬離子濃度也無法得知是多少，只能看到有部份的金屬離子造成色素褪色，無法定量分析到低濃度的檢測。目前沒有作品是使用純的甜菜紅素來做檢測，而本組購買試藥級的甜菜紅素來做此研究。

在課本中所學到一些基礎的概念，將這些課程運用到實驗中的儀器、方法、原理、分析來完成研究。從科學 maker 社團網站裡江教授所推廣的手機光譜儀，訂購後做改良，用來做吸收光譜的檢測，搭配 imagej 來做分析光譜的功能，另外有在科技領域有學到利用 Arduino 的設計可以去控制及接收儀器的方法，並套用在一些自組的電路上，過程中參考施正雄教授的「儀器分析原理與應用」的類比/數位訊號轉換、儀器基本結構、運算放大器、儀器雜訊及處理等單元，並與指導老師討論電路及程式的內容，提高儀器的穩定度及功能性，期望做出簡單、低成本的多功能儀器，用於探討透光度與散射度的關係，並利用甜菜紅來檢驗出金屬離子，並推廣出簡單的測量方法，達到生活化的應用。

二、研究原理

(一)甜菜紅(Betanin)

甜菜色素(Betalain)曾被誤認為花青素，甜菜素是一種由酪氨酸組成的芳族吲哚及吡啶衍生物，甜菜醛氨酸(betalamic acid)為其基本生色團。和花青素化學結構不同，具有排斥性，從未在同一種植物中同時發現。

目前研究最深入的甜菜素是甜菜紅(Betanin) (亦稱甜菜鹼或甜菜根紅)，化學式通常寫作$C_{24}H_{26}N_2O_{13}$，是一種水溶性含氮天然色素，具糖苷配基。為弱酸性，結構及pKa值如圖2-1，因存在多個羧基，所以未被歸類為生物鹼。可以將甜菜根以壓榨或擴散技術等類似於果汁生產的方式加工成果汁，然後將果汁離心、巴氏殺菌並濃縮，以麥芽糊精作為載體，將果汁噴霧乾燥成粉末來取得甜菜紅。這種從甜菜中提取的紅色糖食染料，可作為食品添加劑，呈粉紅色至紅紫色溶液。

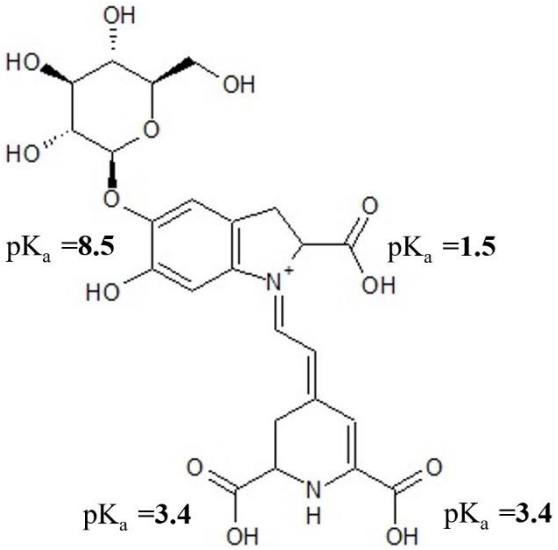


圖2-1 甜菜紅結構及pK_a值圖

甜菜紅在pH值為4.0~5.0時最為穩定，通過水解掉而獲得的葡萄糖分子，是betanidin。甜菜紅隨著pH的增加而變成藍紫色，另外醛亞胺鍵水解，生成betalamic acid和cyclo-dopa-5-O-glucoside，顏色轉為黃棕色，如圖2-2。

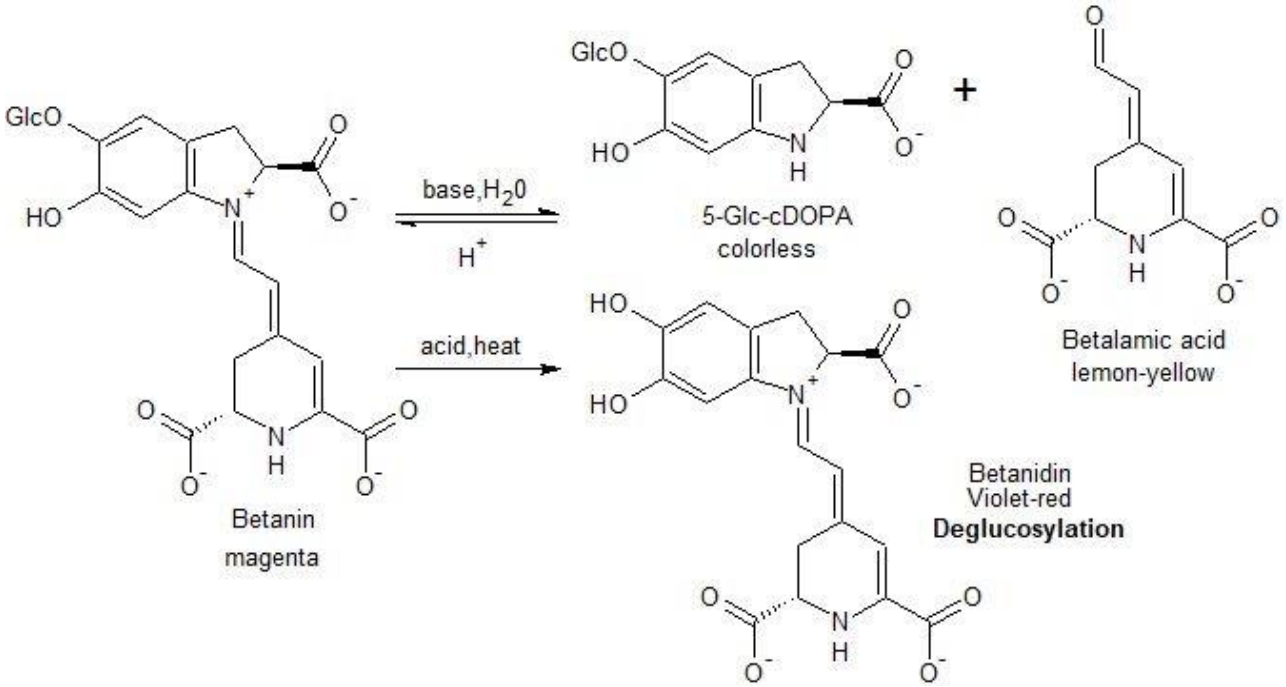


圖 2-2 在酸性或鹼性環境下甜菜紅可能發生的化學變化

金屬陽離子可以加速甜菜鹼的氧化，可能發生脫羧和脫氫的差向異構物或是水解產物的產生。甜菜紅的降解還易受光、氧氣、熱等因素影響，因此多用於冷凍產品、保質期短的產品或以乾燥狀態出售的產品，當中添加抗壞血酸或螯合劑有保護作用。火龍果、仙人掌、莧菜中同樣含有甜菜紅。

(二)銅

銅化合物種類多，最常見的氧化數為 1+價或 2+價，呈藍色，易與其他配體形成配合物。電鍍工業和金屬加工業排放的廢水含銅量最高，可能造成農作物生長不良或人體攝取過多會引起肝硬化和中樞神經傷害等。根據環保署全國環境水質監測資訊網資料監測標準質超過 5mg/L 即為水質污染。

(三)鉛

無機鉛化合物中最穩定的價態是 2+價，容易被吸附沉澱。Pb^{2+}在溶液中是無色的。鉛具有累積、代謝性毒性，會破壞兒童的神經系統，過多亦會造成聽視覺功能變差和精神障礙等。蓄電池製造業排放的廢水含有鉛。根據環保署全國環境水質監測資訊網資料監測標準質超過 0.05mg/L 即為水質污染。

(四)比爾定律

光電測定儀的基礎原理是依比爾定律來量測分析物。比爾定律是用一束平行單色光垂直照射在待測液，通過一定長度的待測液後，會被吸收掉一部分的光能，使透光強度減弱。吸光度與光穿過溶液的長度及溶液濃度間之關係式為：

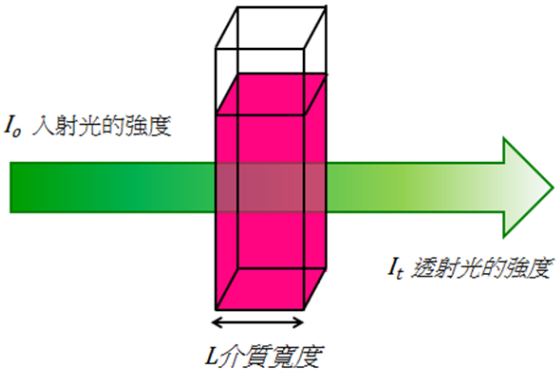


圖 2-3　比爾定律之示意圖

$$A = \log\frac{I_0}{I_t} = \log\frac{1}{T} = K \times L \times c$$

符號的意義：A為溶液的吸光度；K為吸收係數；It為透射光的強度；I_0為入射光的強度；T為透光度；c為溶液的濃度；L為光穿過溶液的長度

(五)偵測極限之測定

試劑水中添加待測物配製成7個待測樣品，並將測得之結果依檢測方法規定之計算方法求得濃度。計算7次測定值之標準偏差$S = \sqrt{\sum_{i=1}^{n}(X_i - \overline{X})^2 / n-1}$，其中$X_i$＝待測樣品之個別測定值，$\overline{X}$＝待測樣品測定值之平均值，n＝測定次數（7次），其偵測極限$(MDL) = 3 \times S$。

參、研究設備

一、電子材料：訊號傳送介面(Arduino)、運算放大器(OP LMC662CN)、精密可變電阻、發光二極體(LED)、精密電阻、電容、電晶體、麵包板、光電二極體、網路攝影機等電子材料均購買自電子材料行。

二、實驗儀器：比色管、試管、滴管、量瓶、燒杯、刮勺、錐形瓶、廣口瓶、玻璃棒、漏斗、pH計、電子秤、試管刷、比色槽放置架等均購自化工儀器行，

三、實驗藥品：甜菜紅(Betanin)、$CuSO_4$、$Pb(NO_3)_2$、NaOH、HCl等化學藥品購自化工原料行。

四、電腦使用軟體:Word、Excel、Power point、Chemsketch、ReadAnalogVoltage、AutoCAD、Dia及Easy Paint Tool SAI下載自網路通行版。

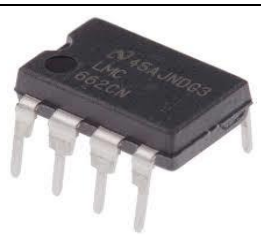
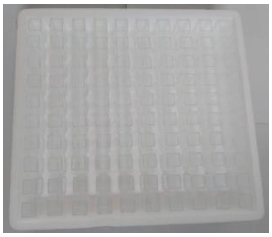
			
Arduino	OP LMC662CN	比色管	甜菜紅

圖3-1 訊號傳送介面、運算放大器、比色管及甜菜紅圖

肆、研究目的

一、自組實驗儀器並偵測穩定度

二、探討不同濃度的甜菜紅的光譜及在各色光透射電壓

三、探討不同濃度的銅離子對甜菜紅反應情形

四、探討不同濃度的鉛離子對甜菜紅反應情形

五、探討銅與鉛離子對不同酸鹼值的甜菜紅的反應情形

六、探討不同濃度的銅離子與鹼性甜菜紅反應情形

七、探討不同濃度的鉛離子與鹼性甜菜紅反應情形

伍、研究過程

一、自組實驗儀器並偵測穩定度

(一) 組裝簡易光譜儀

圖 5-1 為來自 maker 社團網站訂購，並組裝成光譜儀，利用積木固定比色槽狹縫(2 號)和光源(1 號)的相對高度與攝像頭(3 號)位置，且調整鏡頭焦距，利用軟體可分析範圍內的 LED 光源，使光譜能有較明顯變化亦能更準確分析。通過比色管及內部的待測液經由光柵之後呈現光譜，並分析之光源的吸收，再利用吸收程度較好的當作接下來比色法的光源。

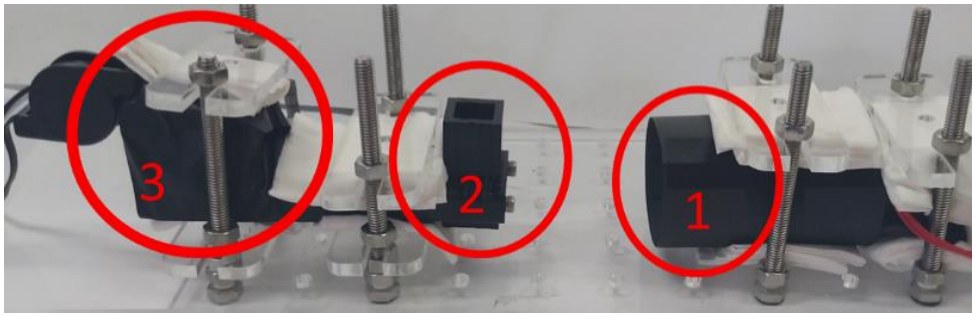


圖 5-1 簡易光譜儀圖

(二) 組裝 LED 光電測定儀

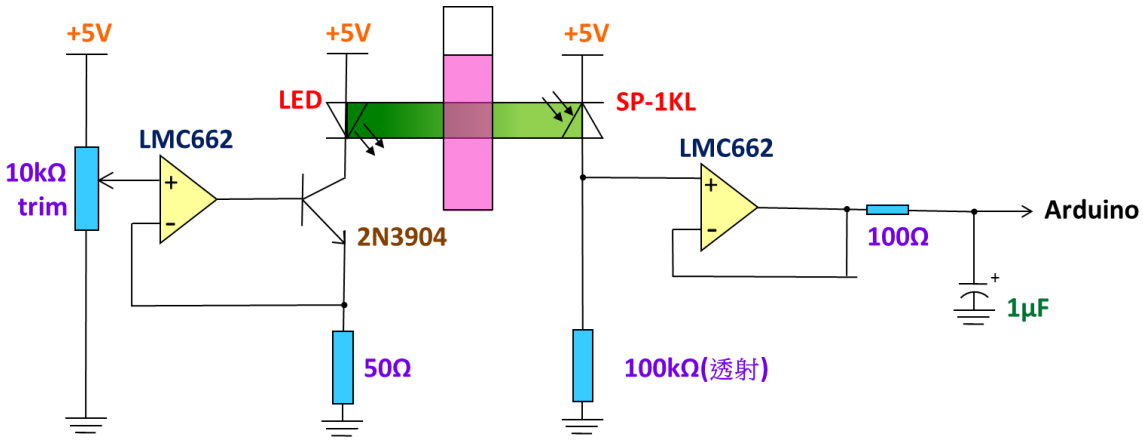


圖 5-2 儀器電路圖

圖 5-2 為儀器電路圖，藉由電路組裝成光電測定儀(圖 5-3)，由 USB 提供儀器電源，透過可變電阻(1 號)調整 LED 光源，可同時測量透射光及散射光；利用 IC 及電晶體組成穩壓裝置(2 號)，可讓輸出光源穩定的；接收器為光電二極體，將訊號轉為電壓，利用 IC 及電阻組成的運算放大器來調整其放大倍率(3 號)，調整至適用於實驗的範圍；利用電容及電阻組成的低通濾波器(4 號)，可將高頻雜訊濾掉，將訊號送進 Arduino，傳送給電腦讀取。

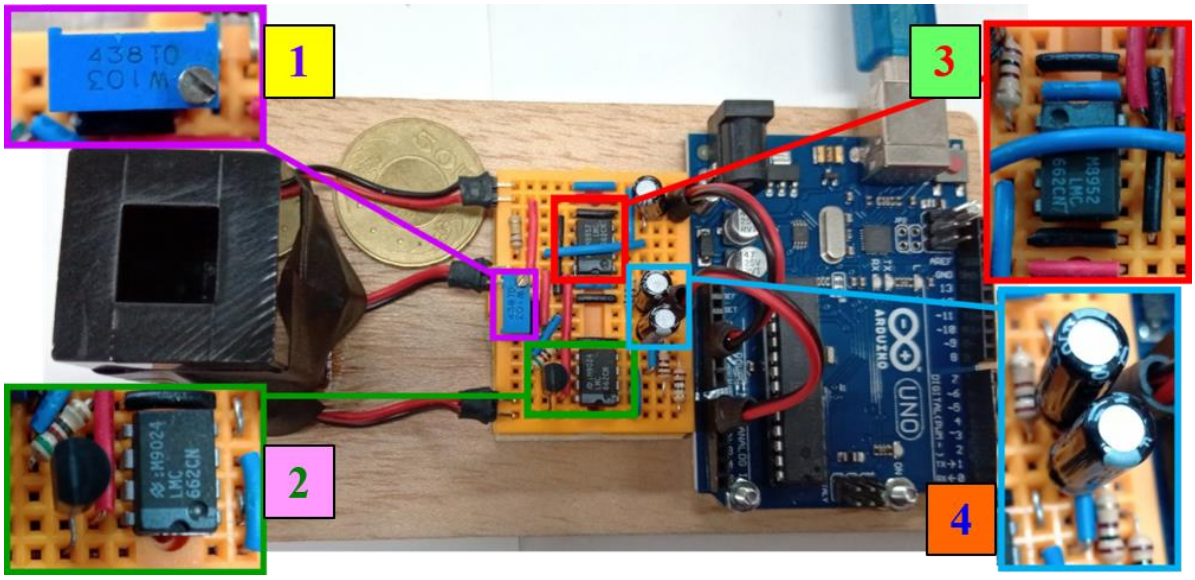


圖 5-3 光電測定儀模組圖

特色：1.可用透射光強化比色法功能，及散射光測定濁度，為一台多功能的光學儀器

2.將訊號傳給電腦並直接顯示電壓對時間的關係，可用於做時間對濃度的連續測定。

3.記錄時間間隔之時間解析度為 1ms，因此可測量反應速率較快的顏色變化。

4.具有內建數據平均的功能，可以提升儀器解析度及穩定度。

5.具有定電壓驅動電路，使發光二極體光源穩定，減少實驗之隨機誤差。

6.成本低廉，不超過千元，且體積較一般分光光度計小，便於攜帶及收納。

(三)組裝恆溫水浴槽

將插頭插上插座來提供電源，讓電湯匙可以加熱溶液，並用功率調節器控制。設定加熱的啟動溫度和停止溫度，並將模組放置在能保溫的容器，控制所要的水溫。

圖 5-4 溫控感測器恆溫水浴槽完成圖及示意圖

二、探討不同濃度的甜菜紅的光譜及在各色光透射電壓

(一)配製甜菜紅水溶液

1.用 0.555g 的甜菜紅(莫耳數約為 10^{-2} mole)加入約 50ml 蒸餾水中，利用攪拌器溶解後倒入 100 ml 的量瓶中，並加水至刻度線，調配出濃度為 10^{-2}M 的甜菜紅水溶液 100ml。

2.取甜菜紅水溶液(10^{-2}M)取出 50g (因量筒刻度不準確，以電子秤測量質量，電子秤至小數點第三位)，加至 100ml 調配出 5.0×10^{-3}M，以同樣方法配製其他濃度的甜菜紅水溶液。

(二)測量甜菜紅溶液光譜及電壓

1.將 5.0×10^{-3}M 之甜菜紅滴入比色管後，放入簡易光譜儀檢測光譜，測量其光譜。

2.將紅光裝至光電測定儀中，開啟 ReadAnalogVoltage 軟體並按下 Serial Monitor()，並用蒸餾水校正初始電壓至 3V(此為本研究定義的參考值)。

3.將 5.0×10^{-3}M 之甜菜紅滴入比色管後，置於儀器比色槽中蓋上蓋子，記錄透射及散射電壓

4.將濃度換成 4.8×10^{-3}M、4.6×10^{-3}M、4.4×10^{-3}M…等，重複步驟 3。

5.將紅光 LED 燈換成綠光、藍光後，重複 2~4 的步驟。

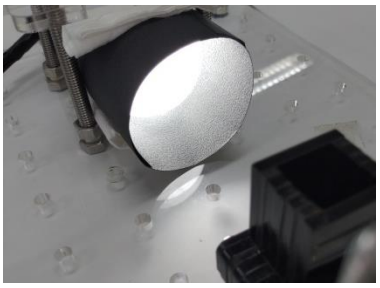
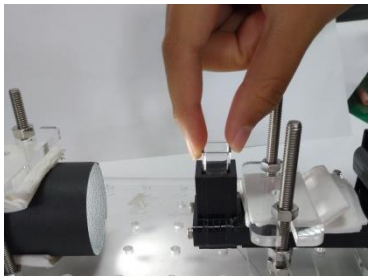
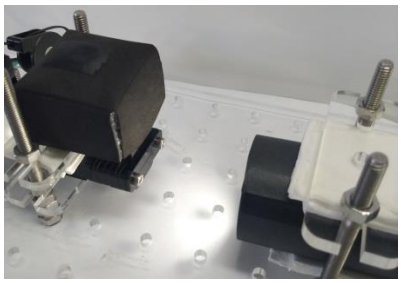
		
打開光源	將比色管裝入裝置	蓋上蓋子

圖 5-5 光譜儀操作說明

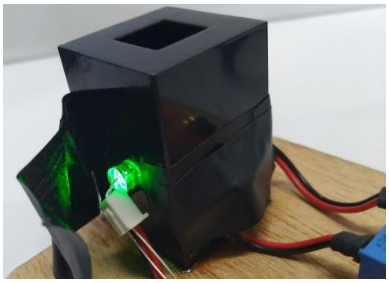
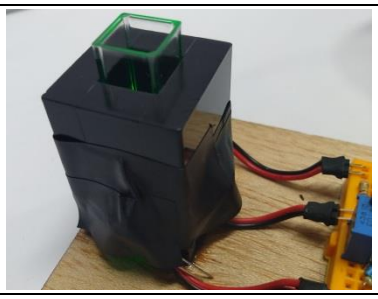
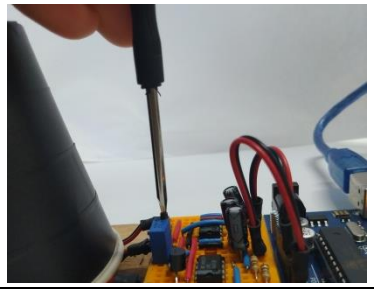
		
綠光裝置光電測定儀	將比色管放入比色槽	蓋上蓋子並調整可變電阻

圖 5-6 光電測定儀操作

三、探討不同濃度的銅離子對甜菜紅的反應情形

1.取 1×10^{-2}M 的甜菜紅溶液 4g 與 2×10^{-3}M 的 $CuSO_4$ 溶液 4g 倒入試管中，用保鮮膜封住後均勻搖晃，置於恆溫水浴槽內並蓋上黑布，控制溫度在 25^0C 左右，靜置 6 小時。

2.將試管中溶液取出溶液滴入比色管中，並放入比色槽內，測量其光譜。

3.將綠光裝入光電測定儀中，利用蒸餾水校正光源為 3V，之後將溶液放入比色槽內，並記錄其透射電壓。

4.利用 pH 計測量溶液的酸鹼值

5.將 2.0×10^{-3}M 的 $CuSO_4$ 溶液稀釋成 1.8×10^{-3}M、1.6×10^{-3}M…等濃度，重複步驟 1~4。

6.將 1×10^{-2}M 的甜菜紅溶液換成 8×10^{-3}M、6×10^{-3}M、4×10^{-3}M、2×10^{-3}M，重複步驟 1~5。

秤量 $CuSO_4$ 溶液 4g	再加入甜菜紅溶液至 8g	利用保鮮膜封住
貼上標籤置入恆溫水浴槽	蓋上黑布遮光	利用 pH 計測量

圖 5-7 調配溶液及實驗過程圖

四、探討不同濃度的鉛離子對甜菜紅的反應情形

1.取 1×10^{-2}M 的甜菜紅溶液 4g 與 2×10^{-3}M 的 $Pb(NO_3)_2$ 溶液 4g 倒入試管中，用保鮮膜封住後均勻搖晃，置於恆溫水浴槽內並蓋上黑布，控制溫度在 25^0C 左右，靜置 6 小時。

2.將試管中溶液取出溶液滴入比色管中，並放入比色槽內，測量其光譜。

3.將綠光裝入光電測定儀中，利用蒸餾水校正光源為 3V，之後將溶液放入比色槽內，並記錄其透射電壓。

4.利用 pH 計測量溶液的酸鹼值

5.將 2.0×10^{-3}M 的 $Pb(NO_3)_2$ 溶液稀釋成 1.8×10^{-3}M、1.6×10^{-3}M…等濃度，重複步驟 1~4。

6.將 1×10^{-2}M 的甜菜紅溶液換成 8×10^{-3}M、6×10^{-3}M、4×10^{-3}M、2×10^{-3}M，重複步驟 1~5。

五、探討銅與鉛離子對不同酸鹼值的甜菜紅的反應情形

1.取 $HCl_{(aq)}$及 $NaOH_{(aq)}$調至 pH 值為 1~13 的 5×10^{-3}M 甜菜紅溶液，並測量其光譜。

2.取 $HCl_{(aq)}$及 $NaOH_{(aq)}$調至 pH 值為 1 的 10^{-2}M 甜菜紅溶液 4g 與 2.0×10^{-4}M 的 $CuSO_4$ 溶液 4g 倒入試管中，用保鮮膜封住後均勻搖晃，置於恆溫水浴槽內並蓋上黑布，控制溫度在 25^0C 左右，靜置 1 小時。

3.將 pH 值為 1 的 10^{-2}M 的甜菜紅溶液換成 pH 值為 2、3…等，重複步驟 2。

4.將 $CuSO_4$ 換成 $Pb(NO_3)_2$，重複步驟 2~3。

六、探討不同濃度的銅離子與鹼性甜菜紅的反應情形

1.利用 $NaOH_{(aq)}$調至 pH 值為 10 的 10^{-2}M 甜菜紅溶液 4g 與 2.0×10^{-3}M 的 $CuSO_4$ 溶液 4g 同時倒入試管中，用保鮮膜封住後均勻搖晃，置於恆溫水浴槽內並蓋上黑布，控制溫度在 25^0C 左右，靜置 4 小時。

2.將試管中溶液取出溶液滴入比色管中，並放入比色槽內，測量其光譜。

3.將綠光裝入光電測定儀中，利用蒸餾水校正光源為 3V，之後將溶液放入比色槽內，並記錄其透射電壓。

4.利用 pH 計測量溶液的酸鹼值

5.將 2.0×10^{-3}M 的 $CuSO_4$ 溶液稀釋成 1.8×10^{-3}M、1.6×10^{-3}M…等濃度，重複步驟 1~4。

6.將 1×10^{-2}M 的甜菜紅溶液換成 8×10^{-3}M、6×10^{-3}M、4×10^{-3}M、2×10^{-3}M，重複步驟 1~5。

七、探討不同濃度的鉛離子與鹼性甜菜紅的反應情形

1.利用 $NaOH_{(aq)}$調至 pH 值為 10 的 10^{-2}M 甜菜紅溶液 4g 與 2.0×10^{-3}M 的 $Pb(NO_3)_2$ 溶液 4g 同時倒入試管中，用保鮮膜封住後均勻搖晃，置於恆溫水浴槽內並蓋上黑布，控制溫度在 25^0C 左右，靜置 4 小時。

2.將試管中溶液取出溶液滴入比色管中，並放入比色槽內，測量其光譜。

3.將綠光裝入光電測定儀中，利用蒸餾水校正光源為 3V，之後將溶液放入比色槽內，並記錄其透射電壓。

4.利用 pH 計測量溶液的酸鹼值

5.將 2.0×10^{-3}M 的 $Pb(NO_3)_2$ 溶液稀釋成 1.8×10^{-3}M、1.6×10^{-3}M…等濃度，重複步驟 1~4。

6.將 1×10^{-2}M 的甜菜紅溶液換成 8×10^{-3}M、6×10^{-3}M、4×10^{-3}M、2×10^{-3}M，重複步驟 1~5。

陸、研究結果與討論

一、自組實驗儀器並偵測穩定度

(一)簡易光譜儀

本組使用電腦軟體 ImageJ 進行光譜吸光值分析，首先將蒸餾水裝入比色管再放入光譜儀中的比色槽，利用 YouCan 拍攝光譜，再打開 ImageJ 軟體選取 File→Open，選取要分析的

光譜圖檔，利用游標選取分析範圍，固定每張光譜圖的長度、寬度及相對位置(在圖中為像素)，再選取 Analyze→Plot Profile 開啟強度折線圖，得到 X 值(像素質)與 Y 值(灰度值)的關係圖，並點選 List 將數值檔案複製到 Excel 試算表進行像素質校正。

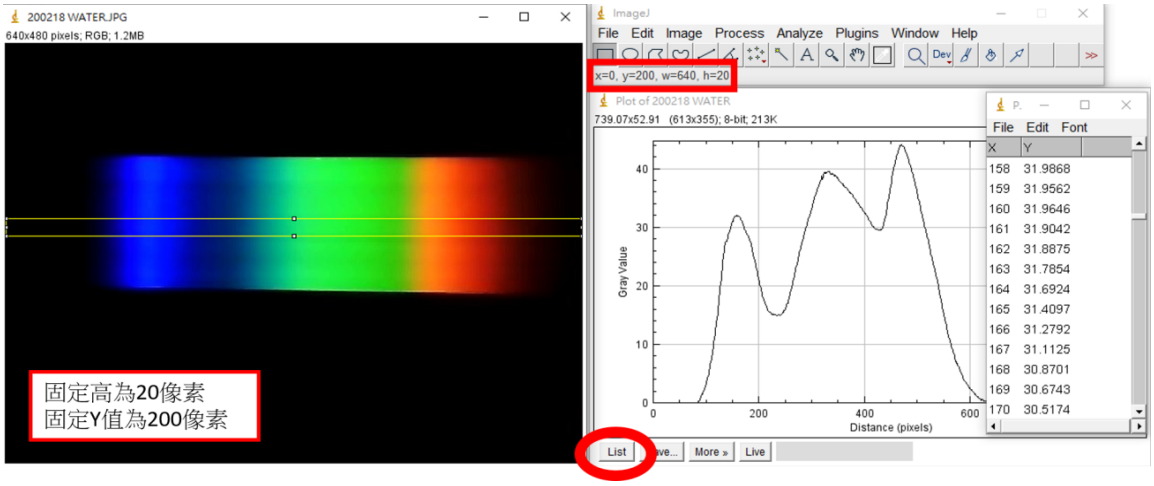


圖 6-1 光譜使用說明

利用不同的燈泡測量其光譜，在相同範圍內的找出蒸餾水的三個峰值對應的像素值，利用文獻得知三色光的波長(藍光 440nm，綠光 550nm，紅光 635nm)來與峰值作線性迴歸，得到波長與像素關係(波長=0.625307×像素值+341.568483)來作轉換，得到波長與光譜關係圖。利用比爾定律來計算出吸收率，將水所得到的 Gray Value 除上溶液所得到的 Gray Value，再取對數後可以得到吸收率 $A = \log(I_0/It)$，再作出吸收光譜圖。

(二)LED 光電測定儀

本儀器透過電阻改良過去的放大倍率，提高靈敏度來測量更微小的變化，再利用低通濾波器濾除一起被放大的雜訊，同時將數據的類比轉數位的解析度增加，可測量到小數點第四位或第五位，以得到穩定且變化量明顯的實驗數據，再由程式收集數據到 Excel 做分析。

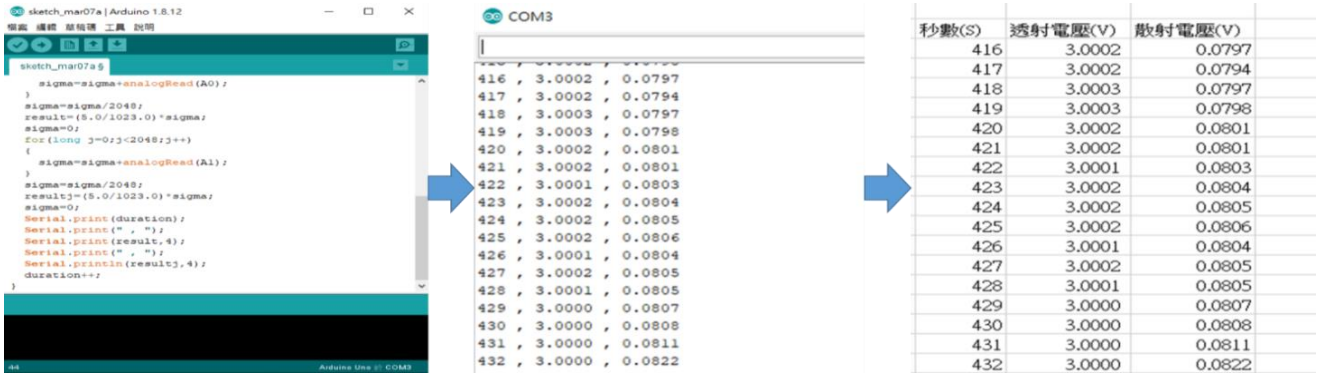


圖 6-2 程式操作流程圖

二、探討不同濃度的甜菜紅的光譜及在各色光透射電壓

本組配製甜菜紅溶液 5×10^{-3}M~2×10^{-4}M (圖 6-3)，並利用光譜儀測量 5×10^{-3}M~1×10^{-3}M 的甜菜紅溶液光譜圖，並算出吸收率，作出波長與吸收率的關係圖，如圖 6-4。

濃度 (E-03M)	5.0	4.8	4.6	4.4	4.2	4.0	3.8	3.6	3.4	3.2	3.0	2.8	2.6	2.4	2.2	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2

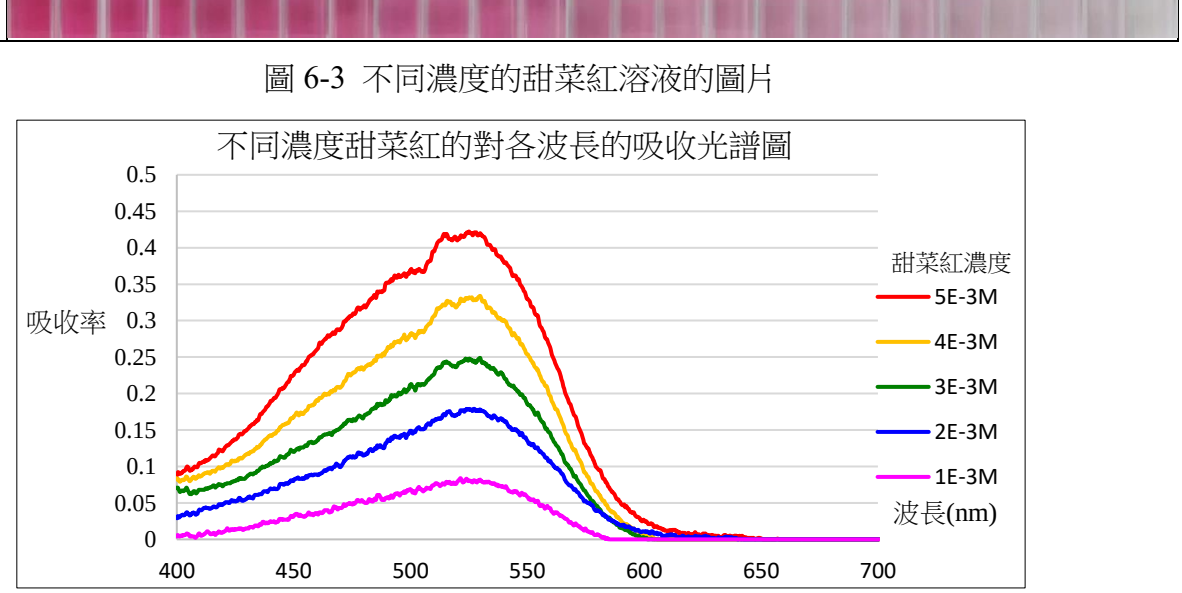


圖 6-3 不同濃度的甜菜紅溶液的圖片

圖 6-4 不同濃度甜菜紅的對光譜的吸收光譜圖

從光譜圖可以看到波長大概在綠光被吸收最多，藍光有被吸收一部份，而紅光幾乎沒有被吸收，所以甜菜紅顏色大概呈現紅色偏一點紫色，在不同濃度的甜菜紅的吸收程度也不一樣，因此再利用紅(630nm)、綠(532nm)、藍(460nm)的不同色光 LED 利用光電測定儀測量電壓，並作電壓與濃度的關係圖，再將電壓與取倒數後再取對數，來做不同 log(1/Vt)與甜菜紅濃度的關係圖。

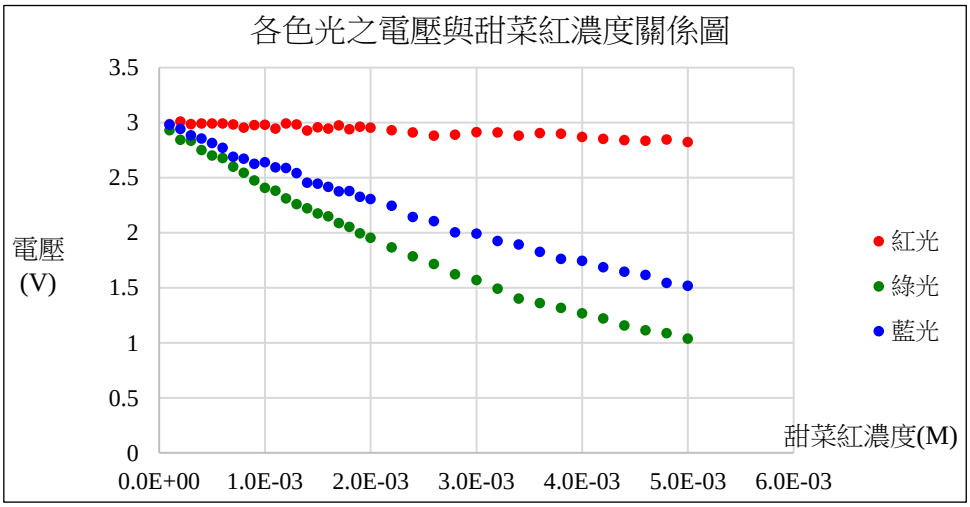


圖 6-5 不同 LED 色光電壓與甜菜紅濃度的關係圖

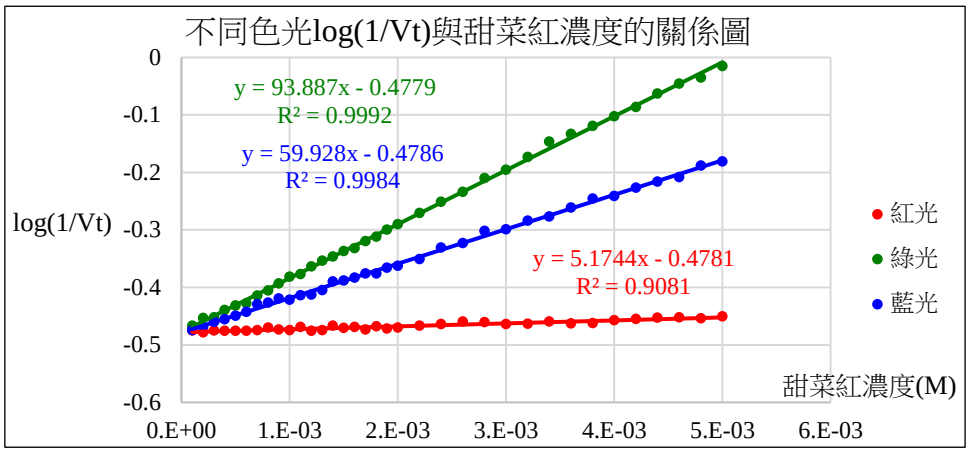


圖 6-6 不同 LED 色光 log(1/Vt)與甜菜紅濃度關係圖

從圖 6-6 中以電壓換成透色光的強度，以 $\log(1/Vt) = k \times c - \log V_0$ (Vt 為透射光輸出電壓，V_0 為入射光輸出電壓)與 $\log(1/It) = k \times c - \log I_0$ 原理一樣，所以用電壓測定甜菜紅也符合比爾定律，結果可看出以綠光的變化最為明顯，因此將綠光對甜菜紅濃度的關係式整理後得到 $[\text{甜菜紅}] = \dfrac{0.4779 - \log Vt}{93.887}$ ，將樣品所測量的電壓帶進去即可得到。

本實驗所用的甜菜紅是利用糊精的提取物，因此要測量本藥品的甜菜紅的含量為多少，從參考文獻中得知甜菜紅對 530nm 波長的吸收係數為 $6.56\times10^{4}(M^{-1}cm^{-1})$，利用資料來分析所用的甜菜紅的含量，所用的甜菜紅為 5×10^{-3}M 對綠光的吸光率為 $A = \log(3/1.0361) = 0.461$ ，換算成甜菜紅真實的濃度為 $[\text{甜菜紅}] = \dfrac{0.461}{65600} = 7.04\times10^{-6} M$ ，再對各濃度所得到的吸光度來做真實濃度與初始濃度的關係圖

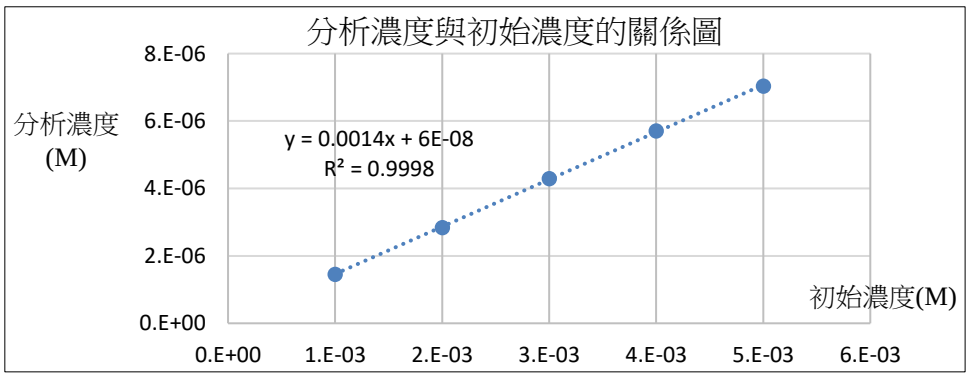


圖 6-7 分析濃度與初始濃度的關係圖

從圖來看此斜率表示為藥品的甜菜紅含量約為 0.14%，將甜菜紅濃度與電壓的關係重新修正為 $[\text{甜菜紅}] = \dfrac{0.4779 - \log Vt}{67062}$ ，因此接下來甜菜紅的表示都是用分析後的甜菜紅濃度。

三、探討不同濃度的銅離子對甜菜紅的反應情形

接下來先探討甜菜紅與銅離子反應，實驗用的甜菜紅濃度固定為 7.04×10^{-6}M，銅離子從 10^{-3}M 到 10^{-7}M 來做為探討，如圖 6-8，並將其溶液利用綠光 LED 來測量透射電壓並作圖。

濃度 (E-04M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Cu^{2+}																			
濃度 (E-06M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Cu^{2+}																			

圖 6-8 甜菜紅 7.04×10^{-6}M 在不同銅離子濃度的變化圖

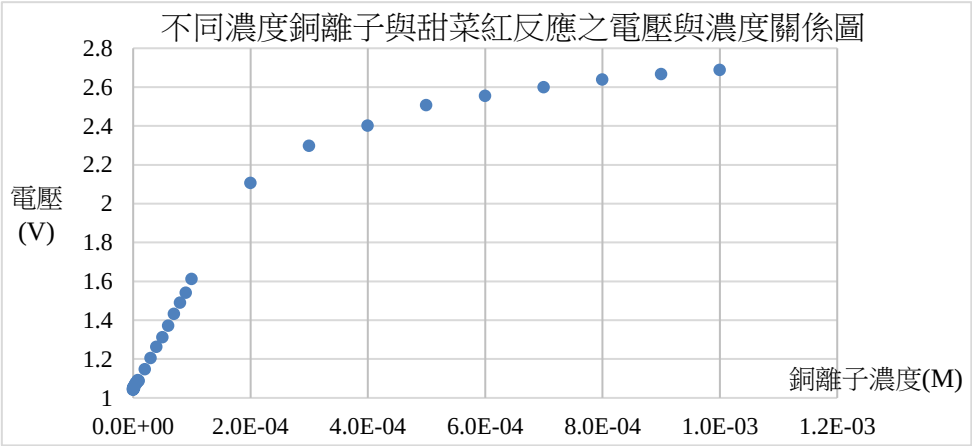


圖 6-9 不同濃度銅離子與甜菜紅反應之電壓與濃度關係圖

從實驗結果發現，當銅離子濃度越高時甜菜紅的顏色變化越多，但超過一定的濃度時，顏色就比較沒有變化，推測銅離子與甜菜紅反應會有一定的比例，因此我們要找出可測量的上下限值，並符合線性關係，根據前面利用電壓可符合比爾定律，所以將電壓取倒數後再取對數，來做不同濃度銅離子電壓的 log(1/Vt)與銅離子濃度的關係圖。

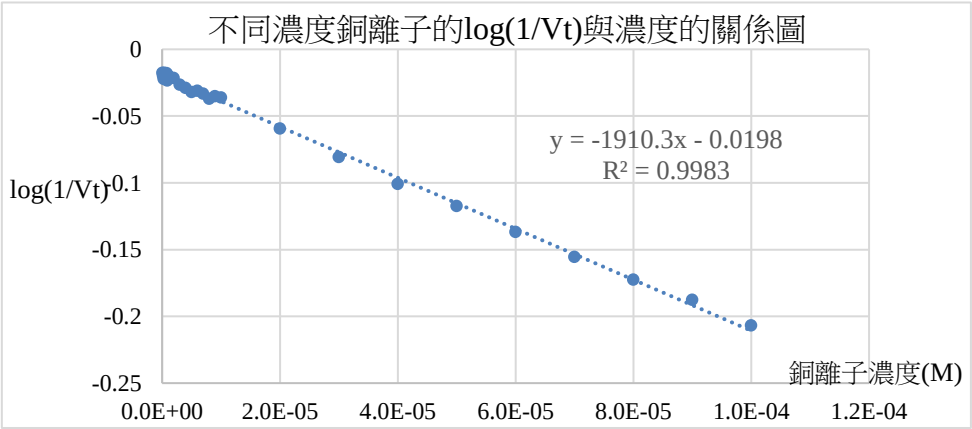


圖 6-10 不同濃度銅離子的 log(1/Vt)與濃度的關係圖

從結果來看，利用比色法測量電壓值算是穩定，且穩定的線性關係符合比爾定律，發現如果銅離子為線性的話，大概在 10^{-4}M 以內，若取待測液加入同體積的甜菜紅測量出電壓，可將電壓代入關係式 $[Cu^{2+}]=\frac{\log V_t-0.0198}{1910.3}$ ，此方法的適用性可測到多少濃度範圍，將範圍縮小為 10^{-5}M~10^{-6}M 來做探討。

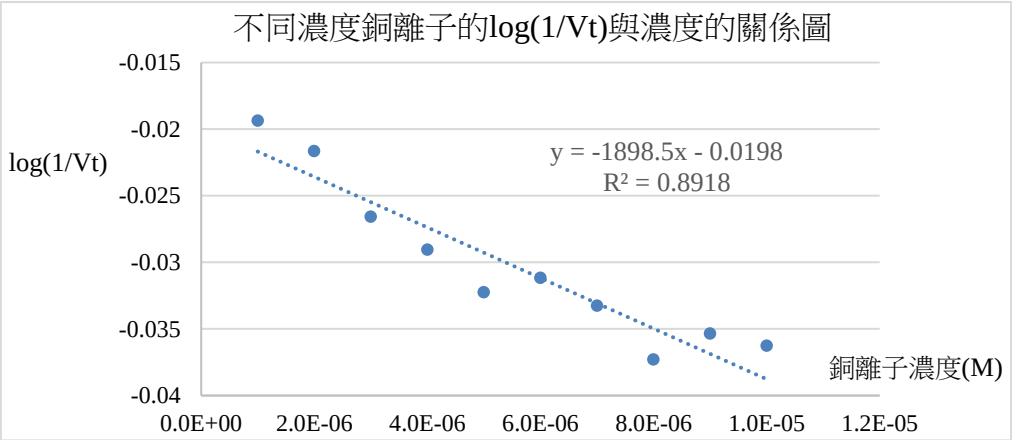


圖 6-11 不同濃度銅離子(10^{-5}M~10^{-6}M)的 log(1/Vt)與濃度的關係圖

在低濃度下測量發現到較不穩定，比較無法偵測到更低的銅離子的濃度，利用 1×10^{-6}M 做 7 個數據，來計算標準差為 1.12×10^{-3}，偵測極限為 $\frac{1.12\times10^{-3}\times3}{1910.3}=1.76\times10^{-6}M$ ，轉換 ppm 的濃度法約為 1.12×10^{-1}ppm，算是可以測量到很低的濃度，算是一種測量銅離子的方法。實驗中發現在不同濃度的反應的顏色有不同的變化，推測應該有產生結構上的改變，利用光譜儀測量不同濃度的吸收光譜，如圖 6-12。

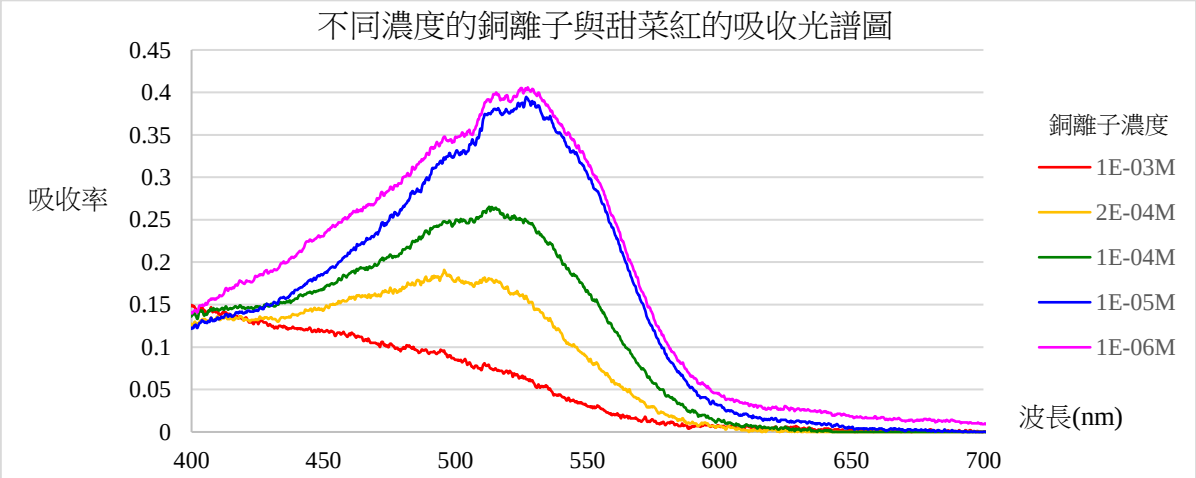


圖 6-12 不同濃度的銅離子與甜菜紅的吸收光譜圖

從不同濃度的銅離子與甜菜紅反應，我們發現銅離子濃度越多時，此時光譜吸收的峰值有偏向低波長的地方，推測在結構上發生改變，使得吸收程度不一樣，從參考文獻中的變化

圖 6-13 可以看到當甜菜紅放出氫及二氧化碳的之後的結構很多種，從目前的結果無法得知是產生哪一種結構，但可以確定的是銅離子會與甜菜紅反應，因此利用不同濃度的甜菜紅來測量與不同濃度的銅離子反應的結果，作出不同濃度甜菜紅與銅離子的 log(1/Vt)與銅離子濃度的關係圖，並測量其 pH 值。

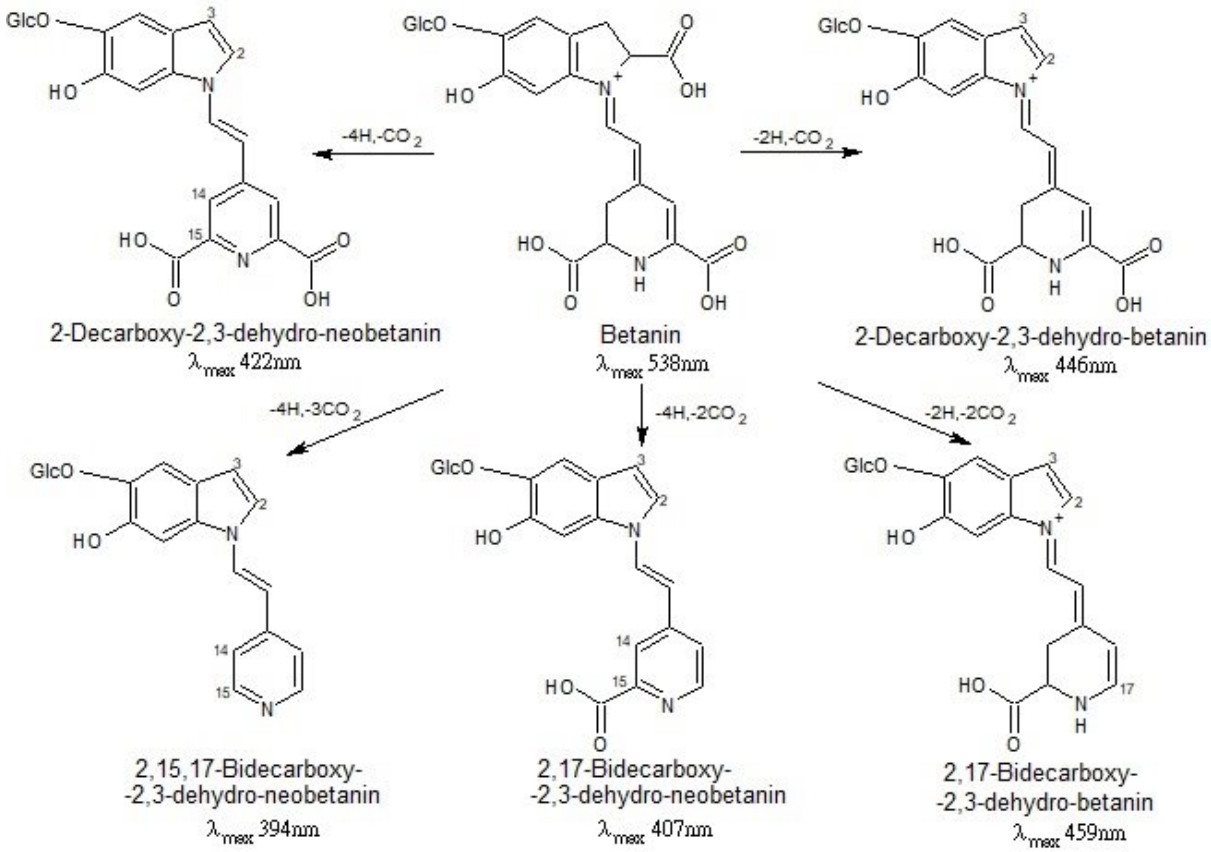


圖 6-13　甜菜紅氧化的甜菜紅脫羧和脫氫衍生物

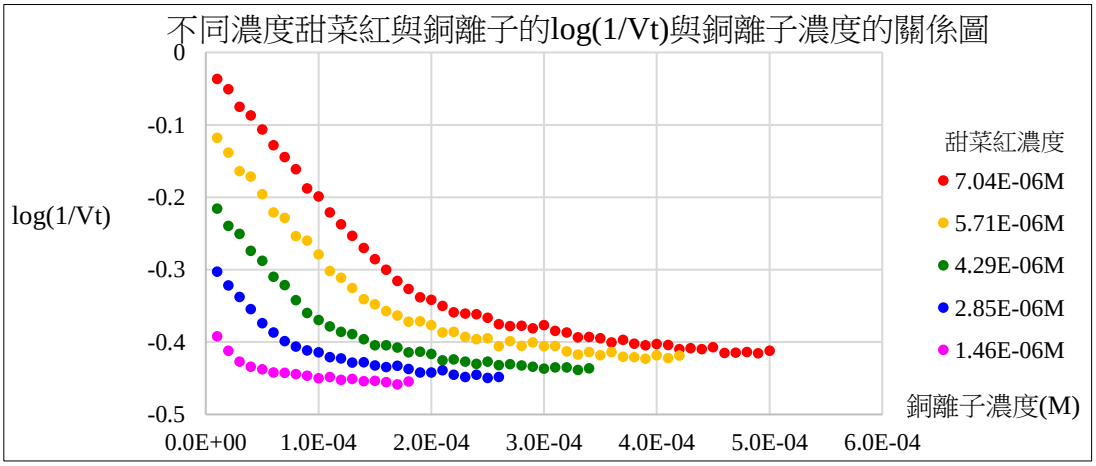


圖 6-14 不同濃度甜菜紅與銅離子的 log(1/Vt)與銅離子濃度的關係圖

從不同濃度的甜菜紅溶液與銅離子的反應結果，可以看到大概會有一個轉折點，表示此時甜菜紅溶液與銅離子造成顏色變化有一定比例，可能反應完成，也有可能只是顏色變化到特定的結構就不改變吸收波長，將銅離子濃度與甜菜紅溶液濃度反應比例作出關係圖。

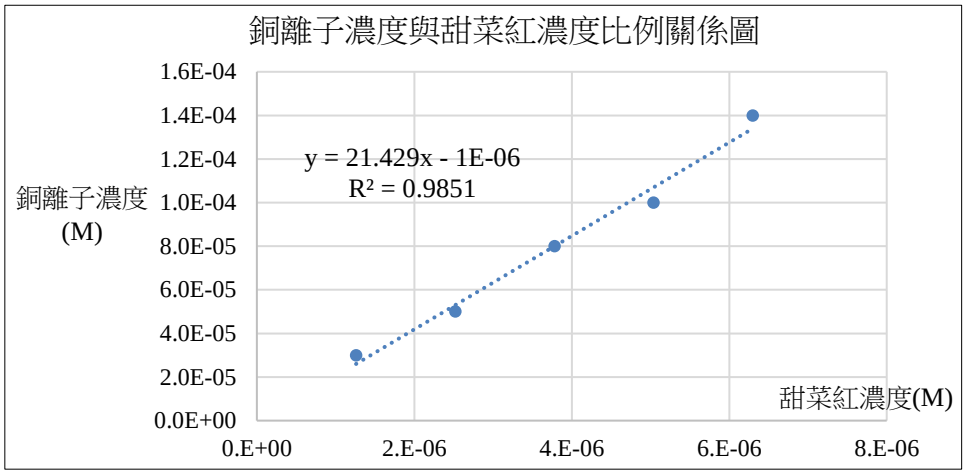


圖 6-15 銅離子濃度與甜菜紅濃度比例關係圖

從結果看到甜菜紅溶液濃度與銅離子濃度比例約為 1 比 21，推測在作用過程中，除了甜菜紅與銅離子反應外，經查資料，溶液中的環糊精會將與金屬離子作用而包覆，使得所需的銅離子濃度比例值相當高。此試驗也測量 pH 值是否會改變，結果如圖 6-16。

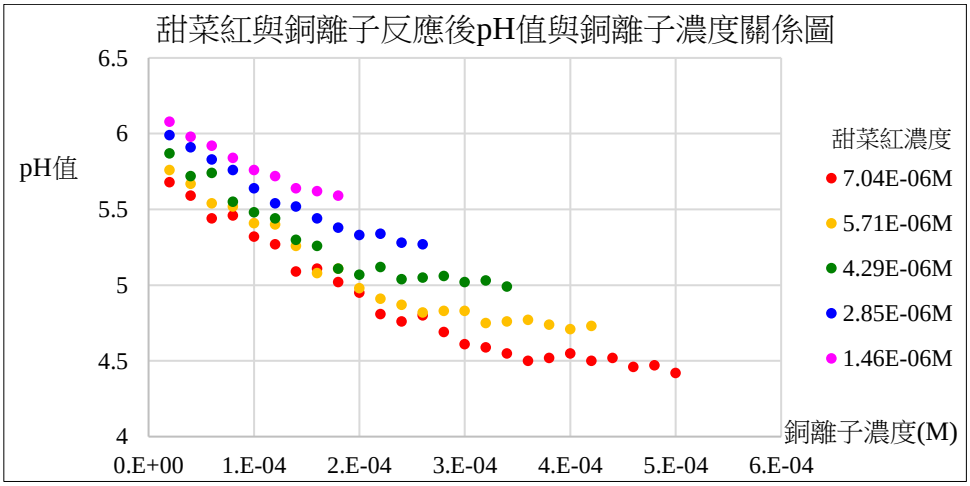


圖 6-16 甜菜紅與銅離子反應後 pH 值與銅離子濃度關係圖

從圖 6-16 可以看出當銅離子越多時，pH 值會越小，表示在反應過程中會產生氫離子使得溶液變酸。說明在反應過程中會放出氫離子，也有放出 CO_2 而形成碳酸，且 pH 值到一定的比例後就不再下降了，反應也終止。此時銅離子對應的比例比顏色變化比例還多一些，推測有可能銅離子會與結構變化後的甜菜紅反應。從結構上來看，銅離子應該會與帶負電的羧酸基相吸附，或與含有孤獨電子對的氮原子配位，與分解後的葡萄糖結合，或是與產生的碳酸根結合。此試驗結果，說明甜菜紅會與銅離子反應，表示使用含有銅離子的農藥去噴灑在火龍果上面，銅離子會與甜菜紅結合，造成銅離子滲入火龍果果皮內，甚至進入殘留在果肉裡面。

四、探討不同濃度的鉛離子對甜菜紅的反應情形

探討甜菜紅與鉛離子反應，本實驗用的甜菜紅濃度為 7.04×10^{-6}M，鉛離子從 10^{-3}M 到 10^{-7}M 來做為探討，如圖 6-17，並將其溶液利用綠光 LED 來測量透射電壓並作圖。

濃度 (E-04M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Pb^{2+}																			
濃度 (E-06M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Pb^{2+}																			

圖 6-17 甜菜紅 2×10^{-3}M 在不同鉛離子濃度的變化圖

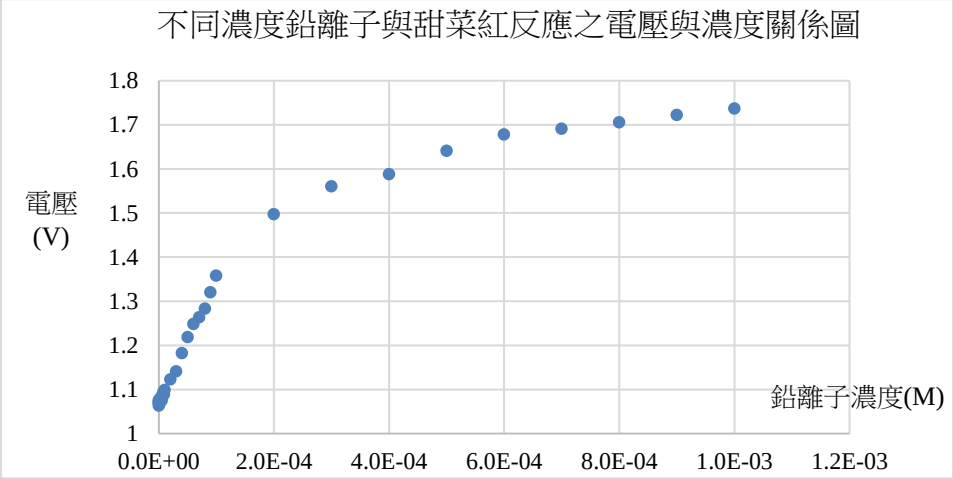


圖 6-18 不同濃度鉛離子與甜菜紅反應之電壓與濃度關係圖

從實驗結果發現，當鉛離子濃度越高時甜菜紅的顏色變化越多，相對銅離子的變化程度較不明顯，超過一定的濃度時，顏色就比較沒有變化，推測鉛離子與甜菜紅反應也會有一定的比例，來做不同濃度鉛離子電壓的 log(1/Vt)與鉛離子濃度的關係圖。

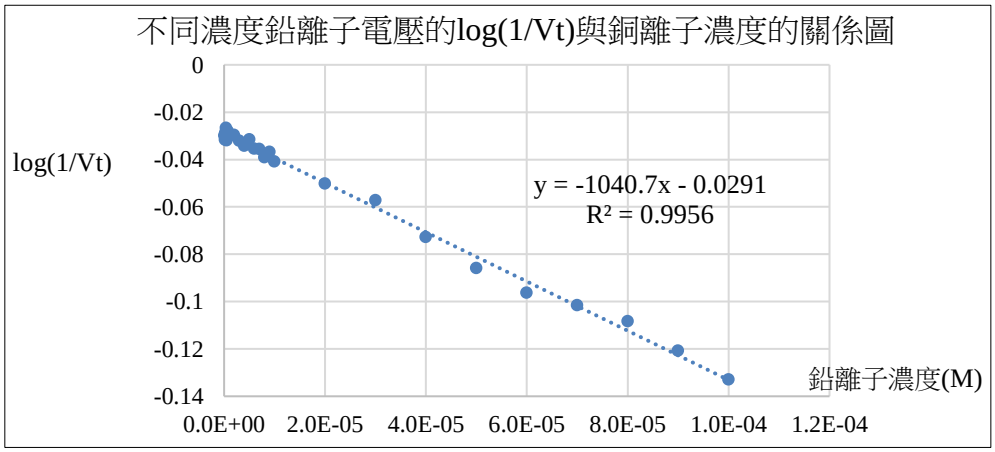


圖 6-19 不同濃度鉛離子電壓的 log(1/Vt)與鉛離子濃度的關係圖

從結果來看鉛離子為線性的話，大概在 10^{-4}M 以內，若取待測液加入同體積 10^{-2}M 的甜菜紅測量出電壓，可將電壓代入關係式 $[Pb^{2+}]=\frac{\log V_t-0.0291}{1040.7}$，此方法的適用性可測到多少濃度範圍，將範圍縮小為 10^{-5}M~10^{-6}M 來做探討。

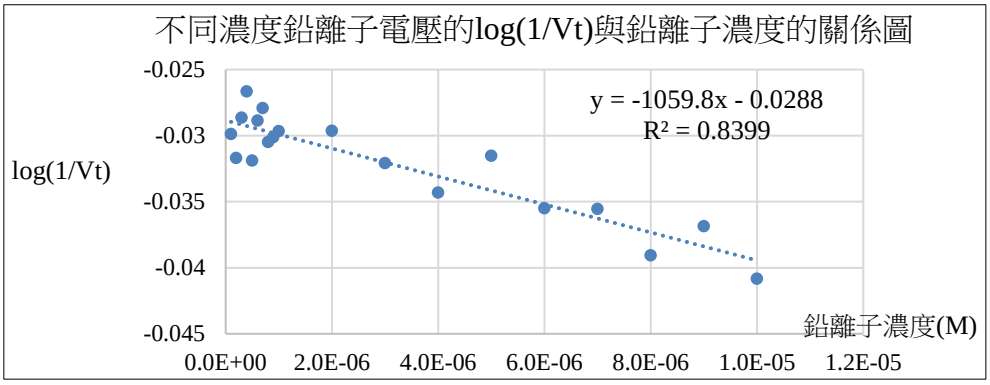


圖 6-20 不同濃度鉛離子(10^{-5}M~10^{-6}M)電壓的 log(1/Vt)與鉛離子濃度的關係圖

在低濃度下測量發現訊號較不穩定，無法偵測到更低的鉛離子的濃度，利用幾個低濃度的數據 1~7×10^{-6}M 來計算標準差為約為 1.33×10^{-6}M，再將標準差乘上 3 倍得到偵測極限約為 4×10^{-6}M，轉換 ppm 的濃度法為 0.8ppm，算是可以測量到很低的濃度，算是一種測量鉛離子的方法。實驗中發現在不同濃度的反應的顏色有不同的變化，推測應該有產生結構上的改變，利用光譜儀測量不同濃度的吸收光譜，如圖 6-21

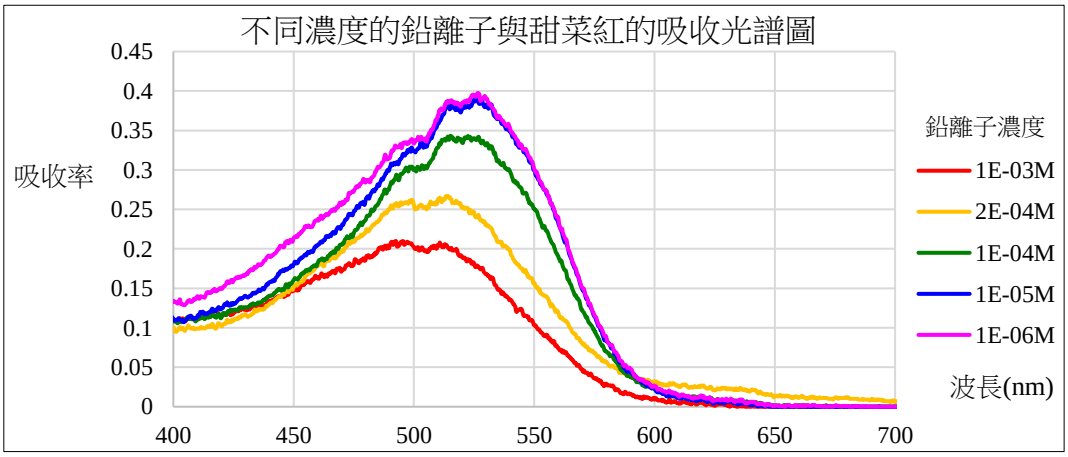


圖 6-21 不同濃度的鉛離子與甜菜紅的吸收光譜圖

從不同濃度的鉛離子與甜菜紅反應，發現鉛離子濃度越高時，光譜吸收的峰值有偏向低波長，表示結構上也可能發生改變，使得吸收程度不一樣，一樣從參考文獻中的變化圖，與甜菜紅放出氫離子及二氧化碳來改變結構，所以鉛離子也會與甜菜紅反應，因此利用不同濃度的甜菜紅來測量與不同鉛離子反應的結果，作出不同濃度甜菜紅與鉛離子的 log(1/Vt)與鉛離子濃度的關係圖，如圖 6-22，並測量其 pH 值。圖 6-23 為鉛離子與甜菜紅濃度比例關係。

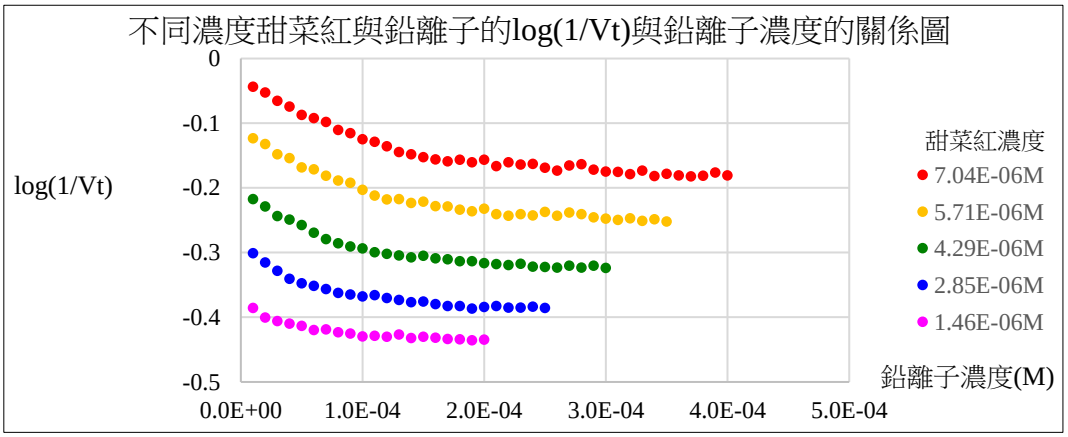


圖 6-22 不同濃度甜菜紅與鉛離子的 log(1/Vt)與鉛離子濃度的關係圖

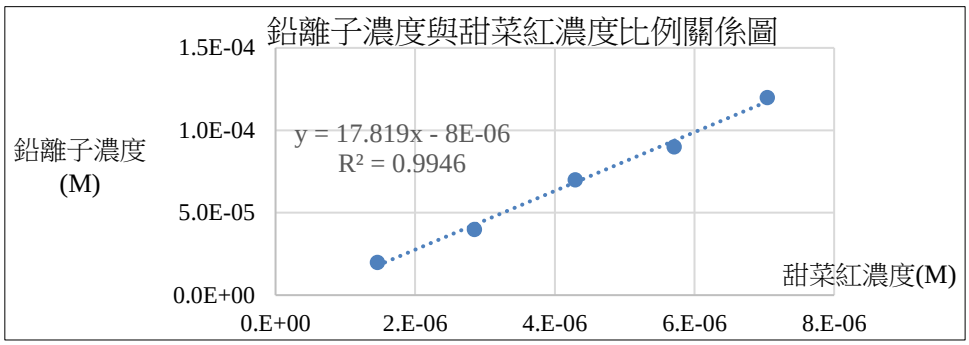


圖 6-23 鉛離子濃度與甜菜紅濃度比例關係圖

從結果看出甜菜紅與鉛離子濃度比例約為 1 比 18，相對銅離子的反應比例較少一些，推測因為鉛離子不會與葡萄糖反應，也不會與氮原子配位，但在過程中應該會使甜菜紅有放出電子或是應該會放出氫離子，因此測量 pH 值來看是否會改變。

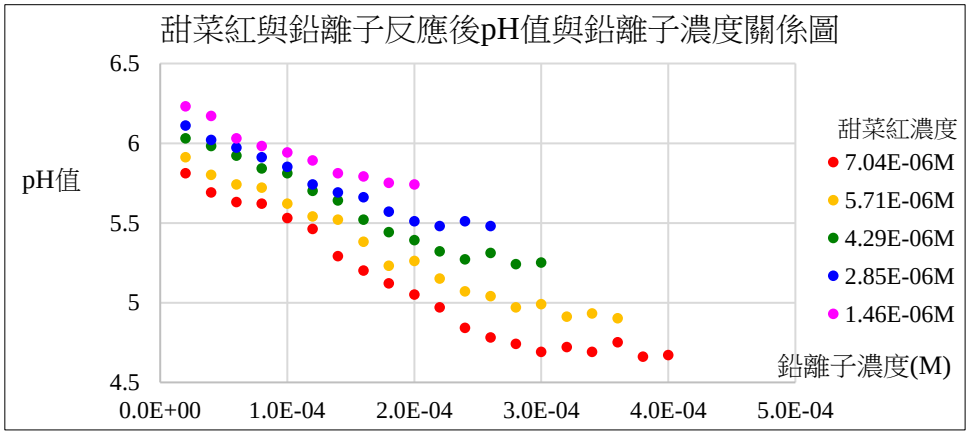


圖 6-24 甜菜紅與鉛離子反應後 pH 值與鉛離子濃度關係圖

從圖 6-24 可以看出當鉛離子越多時，pH 值會越小，說明在反應過程中會放出氫離子，也有放出 CO_2 而形成碳酸，推測此時有可能鉛離子會與結構變化後的甜菜紅反應，從結構上來看鉛離子應該會與羧酸根結合，也會與產生的碳酸根結合，此說明了甜菜紅會與鉛離子反應。因此若種植甜菜的土壤裡有鉛離子的汙染，將可能滲進含有甜菜紅素的甜菜根給吸收，造成食安的疑慮。

五、探討銅與鉛離子對不同酸鹼值的甜菜紅的反應情形

配製不同的 pH 值的甜菜紅為 7.04×10^{-6}M，測量各光譜值，並在對應 pH 值的甜菜紅各別加入 2×10^{-4}M 銅與鉛離子，經過 1 小時後觀察各顏色變化情形，如圖 6-25。

pH 值	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
無金屬離子													
銅離子 E-04M													
鉛離子 E-04M													

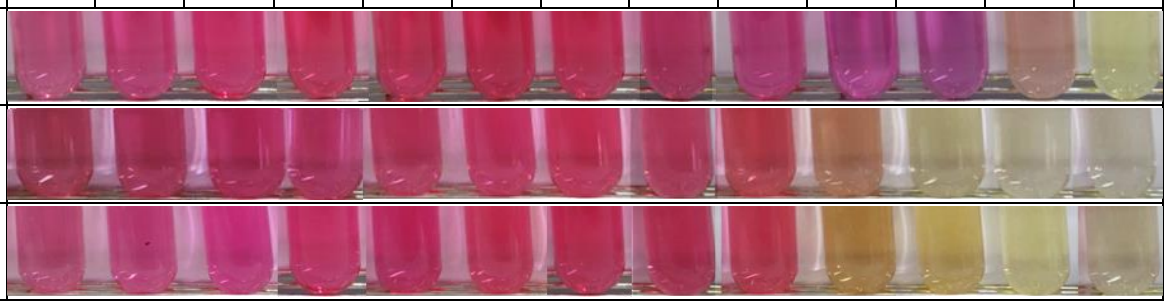


圖 6-25 甜菜紅 7.04×10^{-6}M 各酸鹼值與銅鉛離子反應變化圖

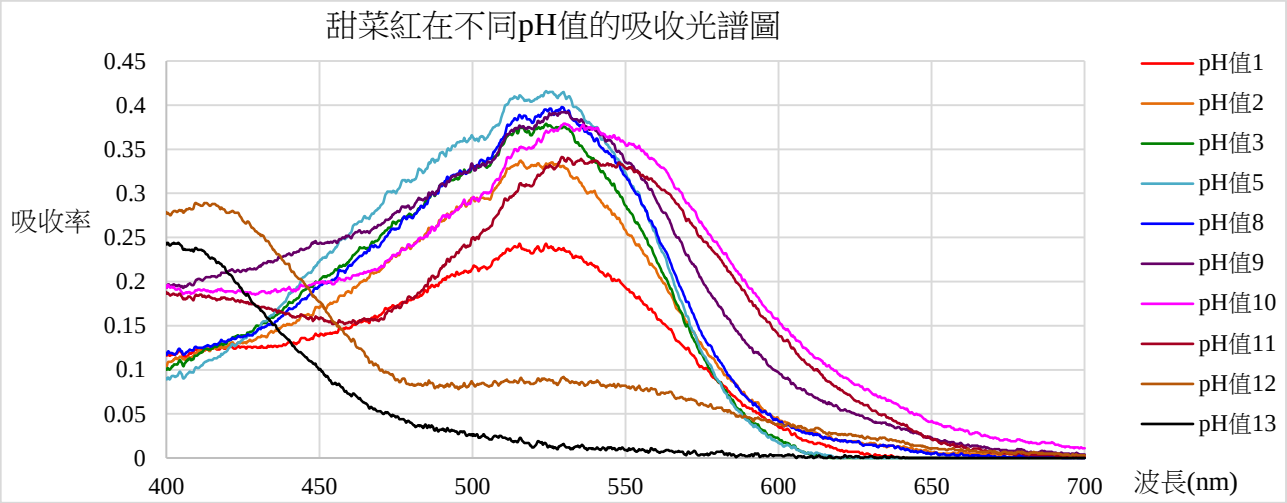


圖 6-26 甜菜紅 7.04×10^{-6}M 各 pH 值吸收光譜圖

甜菜紅在酸性環境下顏色減退，隨著 pH 值越小，所對應的綠光的吸收率也會減少，從參考資料得知 pH 值越小時，解離程度就越差，影響對綠光的吸收程度。在鹼性增強則是趨近於紫紅色然後變成黃色，從圖 6-26 中，pH 值超過 12 之後對藍光的吸收率變多，相對的綠光吸收變少，表示結構上發生改變，從參考資料得知甜菜紅在鹼性下分解成兩個結構，一個結構沒有顏色，另一個結構顏色為黃色，所以可能新的結構跟金屬離子反應也是新的改變。

圖中的銅與鉛離子在一小時左右，pH 值低於 9 不會馬上變色，但超過 9 後就較易有變化，且較為明顯。在 pH12 以上甜菜紅遇到銅離子會從黃色變成無色，若不加入銅離子時間過久也會變成無色，顯示 pH 值太大時，甜菜紅會很不穩定的氧化。若降低甜菜紅的 pH 到 10，就算放久也不容易變色。以下就以 pH 為 10 的甜菜紅來與銅及鉛離子來作反應探討。

六、探討不同濃度的銅離子與鹼性甜菜紅的反應情形

利用 pH 值為 10 的鹼性甜菜紅溶液，與各濃度的銅離子反應，經過 4 小時後來觀察其顏色的變化及現象，如圖 6-27，並將其溶液利用綠光 LED 來測量透射電壓並作圖，如圖 6-28。

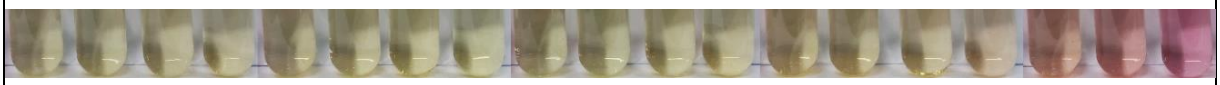
濃度 (E-04M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Cu^{2+}																			
濃度 (E-06M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Cu^{2+}																			

圖 6-27　pH 值 10 的甜菜紅在不同銅離子濃度反應變化圖

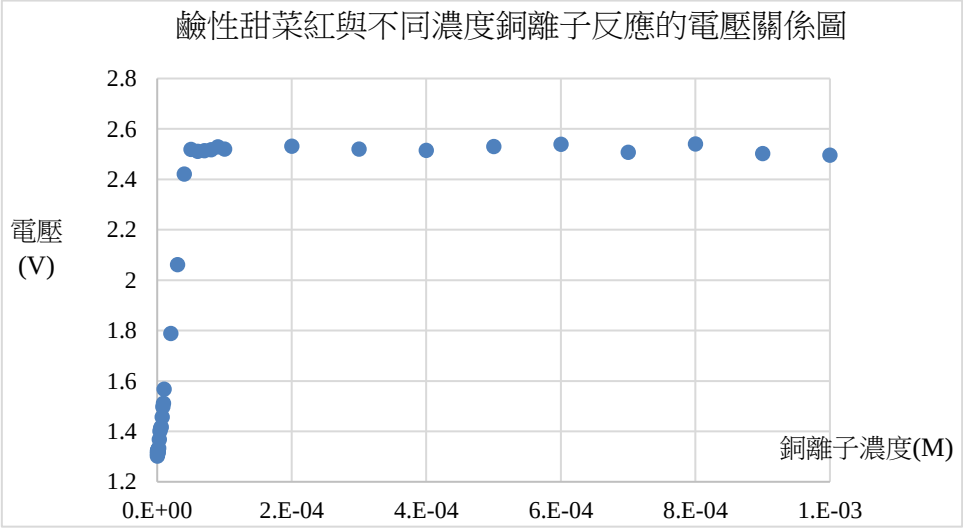


圖 6-28 不同濃度銅離子與 pH 值 10 的甜菜紅反應之電壓與濃度關係圖

從實驗結果發現，大約在 4~5×10^{-5}M 之後顏色就不再改變，所以推測此時的甜菜紅已經與銅離子反應完成，在低濃度下顏色變化較為明顯，根據前面利用電壓可符合比爾定律，來做不同濃度銅離子電壓的 log(1/Vt)與銅離子濃度的關係圖，如圖 6-29。

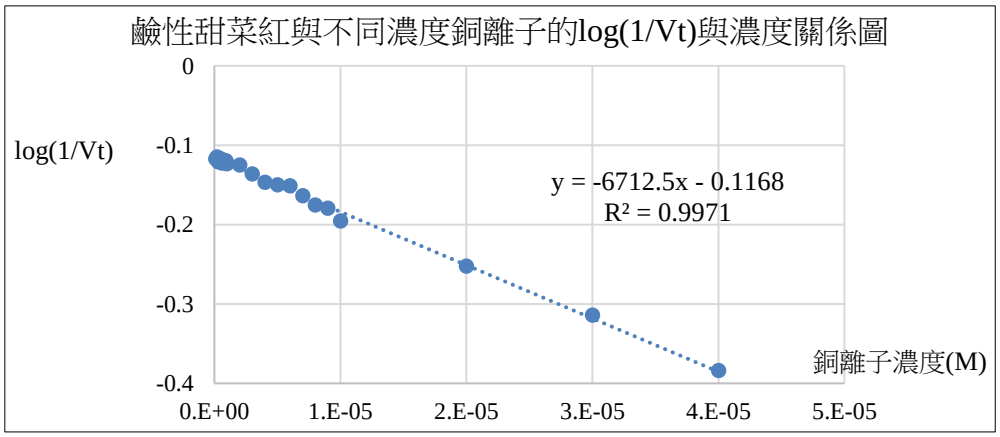


圖 6-29 鹼性甜菜紅與不同濃度銅離子的 log(1/Vt)與濃度關係圖

從結果來看，發現如果銅離子為線性的話，大概在 4×10^{-5}M 以內，若取待測液加入同體積 pH 值為 10 的甜菜紅 10^{-2}M 測量出電壓，可將電壓代入關係式 $[Cu^{2+}]=\frac{\log V_t-0.1168}{6712.5}$，在低濃度下測量發現到較不穩定，比較無法偵測到更低的銅離子的濃度，利用幾個低濃度的數據 $1\sim7\times10^{-6}$M 來計算標準差為約為 4.97×10^{-7}M，再將標準差乘上 3 倍得到偵測極限約為 1.49×10^{-6}M，轉換 ppm 的濃度為 0.095ppm，相對之前的可以測量到更低的濃度，算是一種測量銅離子的方法。實驗中發現在不同濃度的反應的顏色有不同的變化，推測應該有產生結構上的改變，利用光譜儀測量不同濃度的吸收光譜(圖 6-30)。

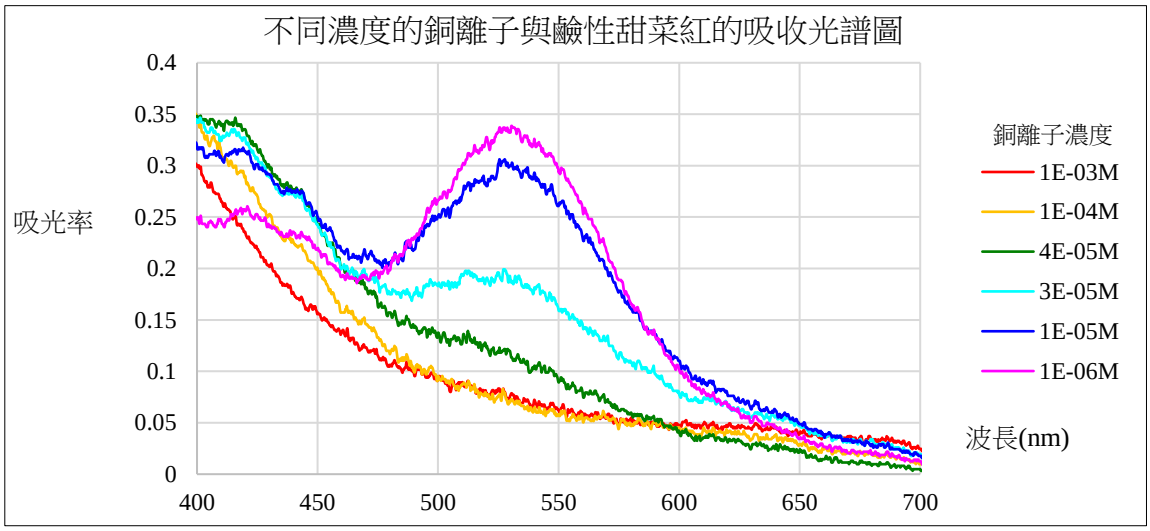


圖 6-30 不同濃度的銅離子與鹼性甜菜紅的吸收光譜圖

從不同濃度的銅離子與鹼性甜菜紅反應，我們發現銅離子濃度越多時，此時光譜吸收的峰值有偏向低波長，且紫光的吸收率有上升，表示此時結構上的改變與原本的甜菜紅有不一樣。因此對銅離子與鹼性甜菜紅反應後的酸鹼性加以測量，觀察期變化。結果如圖 6-31 所示。

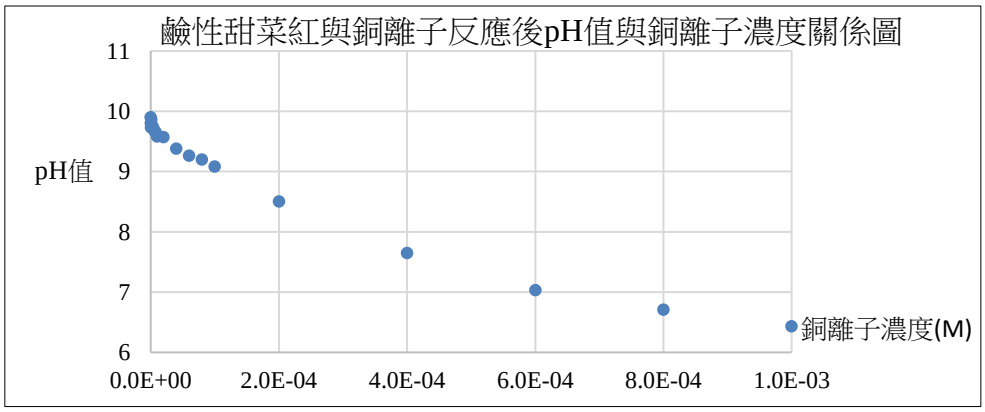


圖 6-31 鹼性甜菜紅與銅離子反應後 pH 值與銅離子濃度關係圖

從 pH 值變化來看，低濃度的銅離子對甜菜紅的酸鹼值影響不太大。當銅離子濃度越高時，pH 值有降低的趨勢，可能是過量未反應的銅離子與氫氧根離子產生反應，降低了 pH 值。在測量低濃度的銅離子時，銅離子主要會與甜菜紅優先反應後，過量的才會與氫氧根反應，所以在弱鹼性下的甜菜紅是可以來測量銅離子的濃度的。從甜菜紅與銅離子反應方面來看，利用不同濃度甜菜紅與銅離子的 log(1/Vt)與銅離子濃度的關係圖(圖 6-32)。

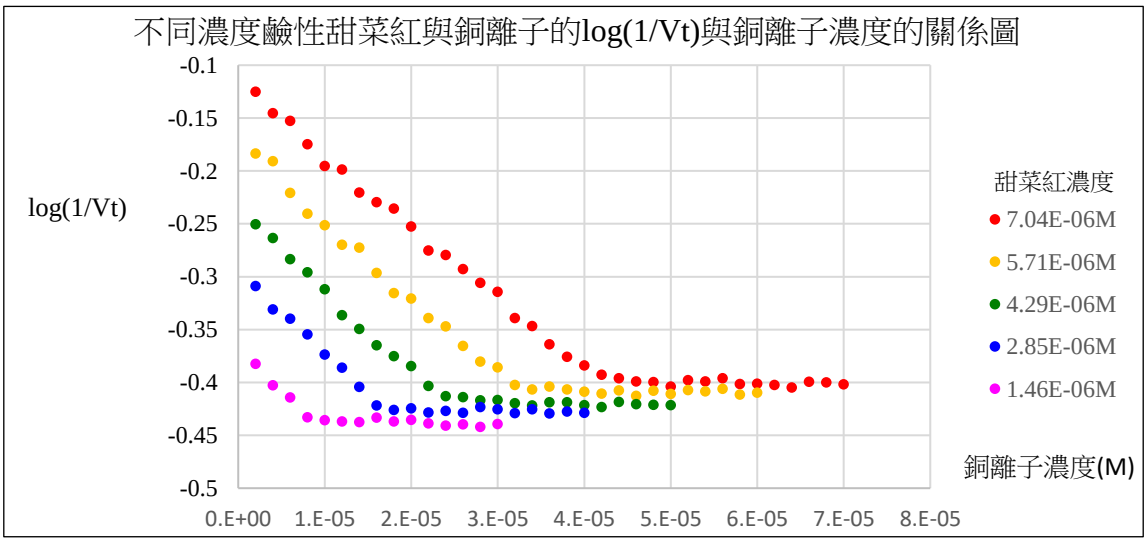


圖 6-32 不同濃度鹼性甜菜紅與銅離子的 log(1/Vt)與銅離子濃度的關係圖

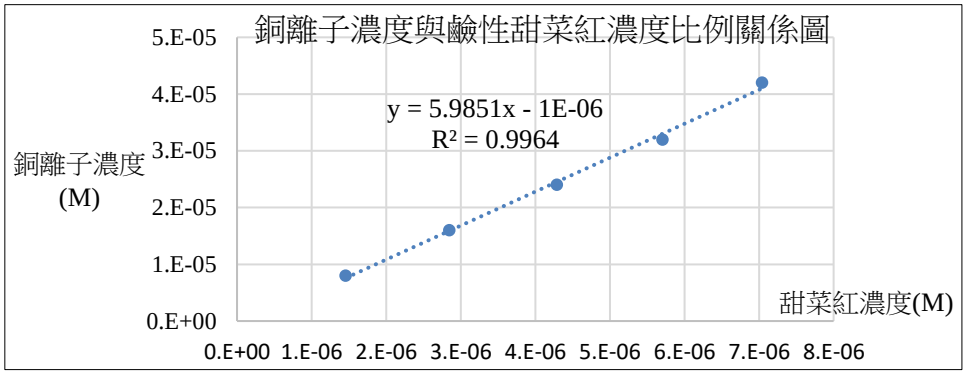


圖 6-33 銅離子濃度與鹼性甜菜紅濃度比例關係圖

圖 6-33 為銅離子與鹼性甜菜紅濃度比例關係圖，從圖看到，只要甜菜紅與銅離子完成反應之後，顏色就不再改變，因此在鹼性下可以利用控制甜菜紅的濃度，去測量出銅離子。甜菜紅濃度與銅離子濃度比例約為 1 比 6，推測在甜菜紅與銅離子的作用，除可能與分解產生的葡萄糖作用外，也會與甜菜紅分解後的產物配位。在此鹼性環境下(pH =10)，環糊精並未包覆著銅離子。

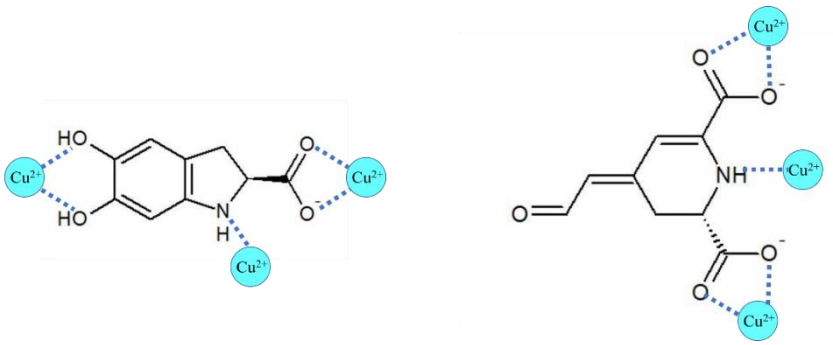


圖 6-34 銅離子與 betalamic acid 及 cyclo-dopa-5-O-glucoside 的配位圖

七、探討不同濃度的鉛離子與鹼性甜菜紅的反應情形

利用 pH 值為 10 的鹼性甜菜紅溶液，與各濃度的鉛離子反應，經過 3 小時後來觀察其顏色的變化及現象，如圖 6-35 所示，並將其溶液利用綠光 LED 來測量透射電壓並作圖(圖 6-36)。

濃度 (E-04M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Pb^{2+}																			
濃度 (E-06M)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Pb^{2+}																			

圖 6-35 pH 值 10 的甜菜紅在不同鉛離子濃度反應變化圖

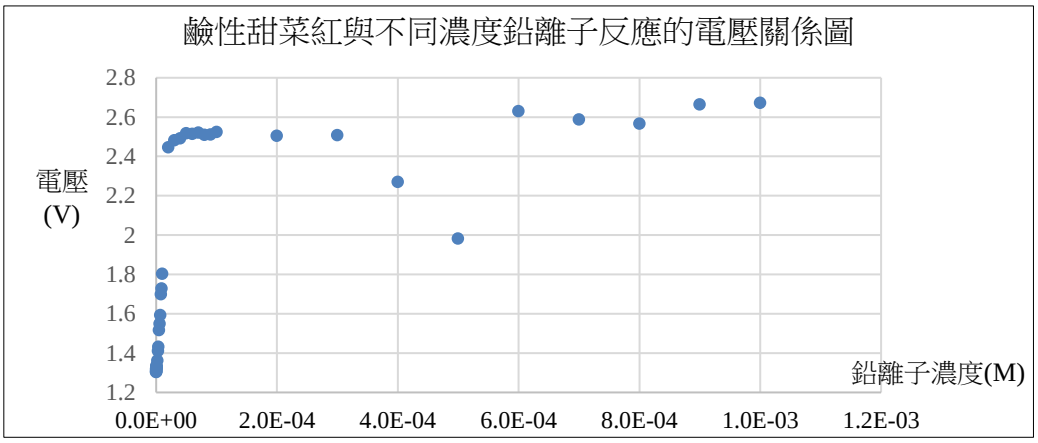


圖 6-36 鹼性甜菜紅與不同濃度鉛離子反應的電壓關係圖

從實驗結果(圖 6-35)發現，大約在 2~3×10^{-5}M 後顏色就不再改變，從電壓圖(圖 6-36)來看，當 4~5×10^{-4}M 電壓突然下掉，表示此時開始有產生較大的物質，使得透光度變差了，以散射光測定來看，也可以看到散射端電壓有變大。鉛離子濃度超過 5×10^{-4}M 之後就完全沉澱，可能是多出來的鉛離子與氫氧根產生反應沉澱。因此只能探討較低濃度的鉛離子，利用電壓訊號的量測，依比爾定律，來做不同濃度鉛離子電壓的 log(1/Vt)與鉛離子濃度的關係圖(圖 6-37)。

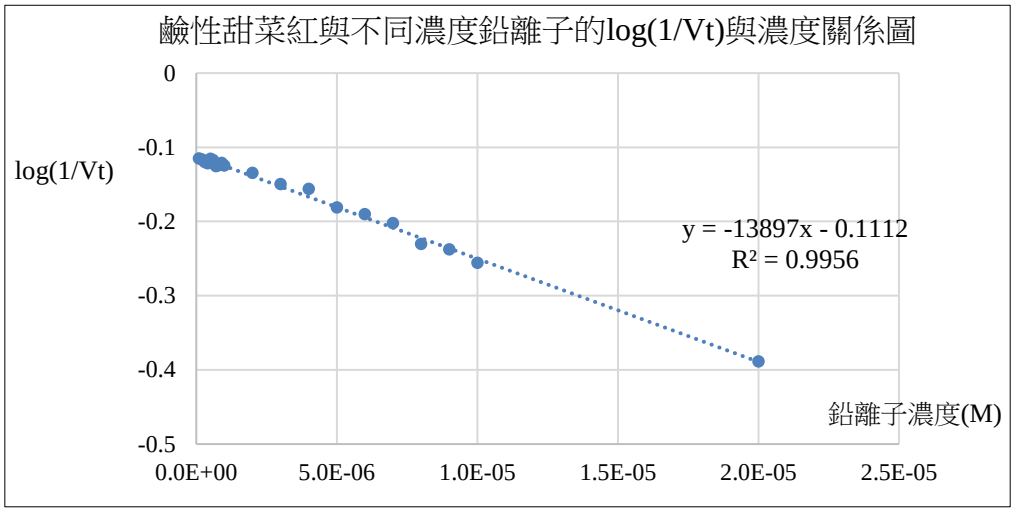


圖 6-37 鹼性甜菜紅與不同濃度鉛離子的 log(1/Vt)與濃度關係圖

從結果(圖 6-37)，可發現鉛離子的線性濃度，大概在 2×10^{-5}M 以內。若取待測液加入同體積 pH 為 10 的甜菜紅 10^{-2}M，測量出電壓，可將電壓代入關係式 $[Pb^{2+}]=\frac{\log V_t-0.1112}{13897}$，利用幾個低濃度的數據 $1\sim7\times10^{-6}$M 來計算標準差約為 4.15×10^{-7}M，再將標準差乘上 3 倍得到偵測極限約為 1.25×10^{-6}M，轉換 ppm 的濃度為 0.25ppm，相對之前的可以測量到更低的濃度，算是一種測量鉛離子的方法。實驗中發現在不同濃度的反應的顏色有不同的變化，推測應該有產生結構上的改變，利用光譜儀測量不同濃度的吸收光譜

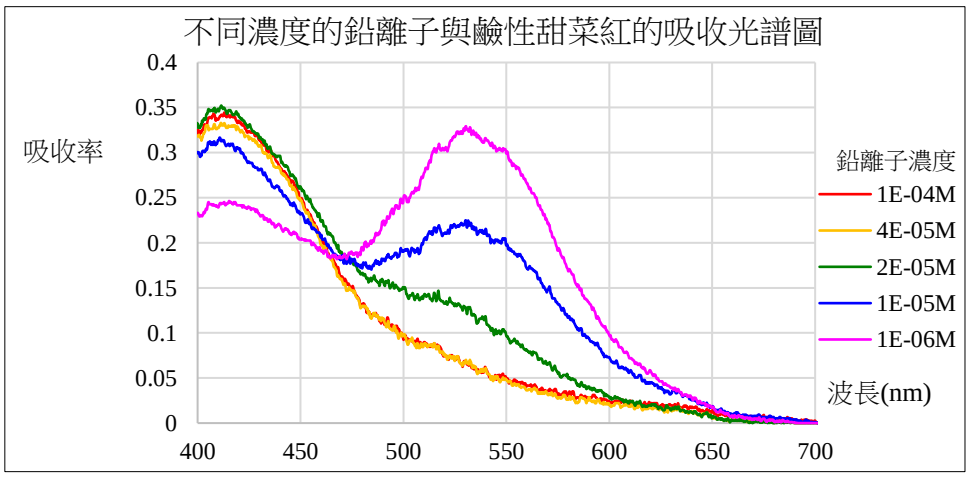


圖 6-38 不同濃度的鉛離子與鹼性甜菜紅的吸收光譜圖

從不同濃度的鉛離子與鹼性甜菜紅反應(圖 6-38)，可以發現鉛離子濃度越多時，此時光譜吸收的峰值有降低，而且紫光的吸收率有上升。超過 4×10^{-5}M 後就不會改變光譜，表示反應已經完成不再變化，在綠光吸收的地方沒有偏移，相對甜菜紅與銅離子反應是有偏移的。所以鉛離子與甜菜紅反應的顏色相較銅離子與甜菜紅反應的顏色略有些不同，表示在結構上還是有些差異，因此對鉛離子與鹼性甜菜紅反應後的酸鹼性測量，觀察是否有改變(圖 6-39)。

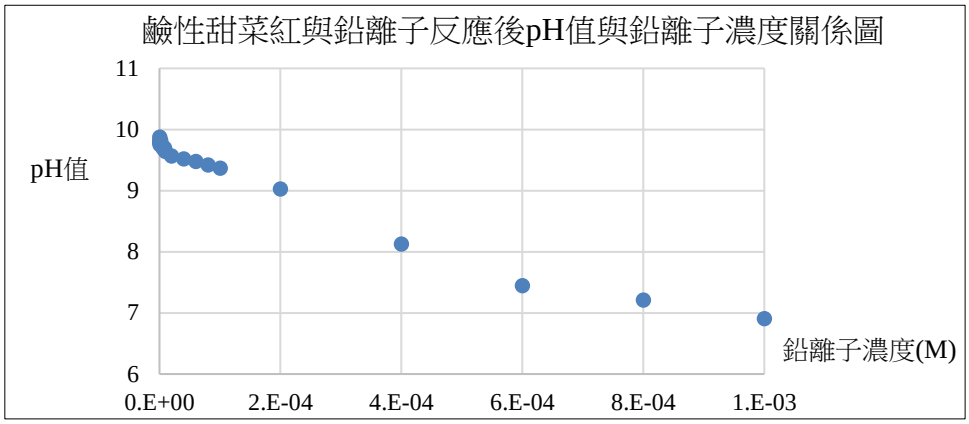


圖 6-39 鹼性甜菜紅與鉛離子反應後 pH 值與鉛離子濃度關係圖

從 pH 值變化(圖 6-39)來看，在低濃度的鉛離子不太會影響甜菜紅的酸鹼值，當濃度越高時 pH 值有變小的趨勢，可能是因為未反應的鉛離子與氫氧根離子產生反應，因此降低 pH 值。在低濃度鉛離子時，鉛離子應該會先與甜菜紅反應後，多餘的鉛離子才會與氫氧根反應。因此在弱鹼性下的甜菜紅是可以用來測量鉛離子的濃度。從甜菜紅與鉛離子反應方面來看，利用不同濃度甜菜紅與鉛離子的 log(1/Vt)與銅離子濃度的關係圖(圖 6-40)。

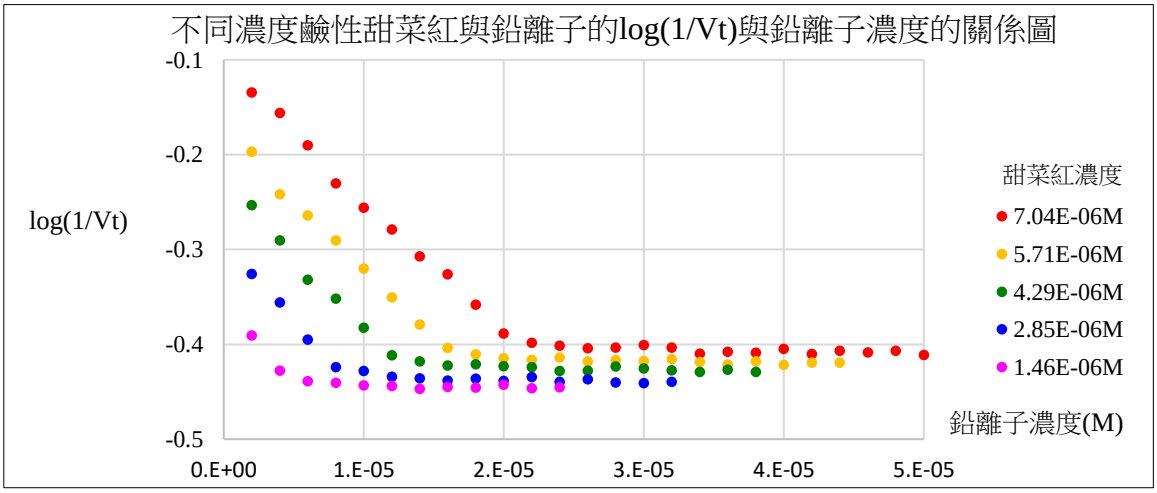


圖 6-40 不同濃度鹼性甜菜紅與鉛離子的 log(1/Vt)與鉛離子濃度的關係圖

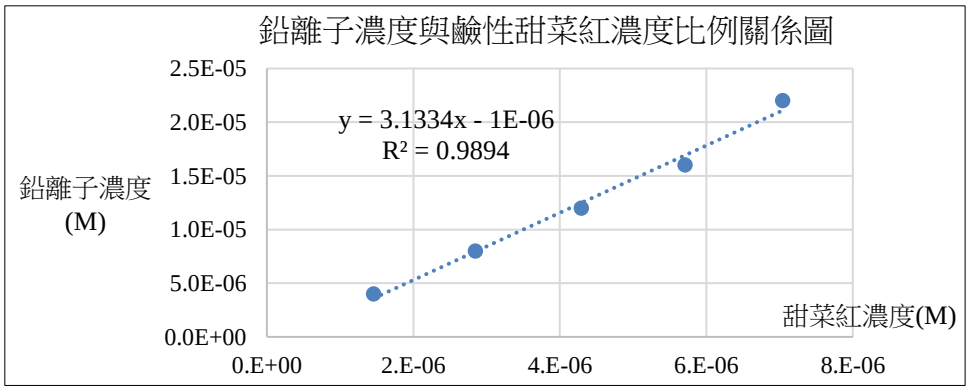


圖 6-41 鉛離子濃度與鹼性甜菜紅濃度比例關係圖

從圖 6-40，可看到只要甜菜紅與鉛離子完成反應後，顏色就不再改變。只要在鹼性下利用控制甜菜紅的濃度，可用於測量鉛離子濃度。從甜菜紅濃度與銅離子濃度比例約為 1 比 3(圖 6-41)，推測鉛離子會與甜菜紅分解後的產物配位結合。根據圖 6-42 鉛離子有可能會配位幾個地方，且能穩定的結合，有潛力用在單一鉛離子的檢測。利用調配 pH 值的甜菜紅溶液與可能有鉛離子的溶液等體積混在一起，靜置一段時間，看是否有變成黃色溶液，可以用自修飾組裝的簡易儀器，檢測到很低濃度的鉛離子。

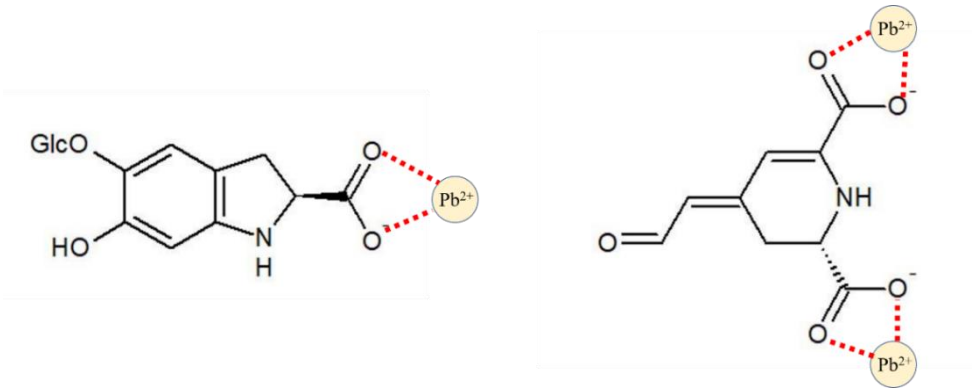


圖 6-42 鉛離子與 betalamic acid 及 cyclo-dopa-5-O-glucoside 的配位圖

柒、結論

本研究首次以自組修飾光學檢測儀器，利用甜菜紅標準藥品，成功地探討甜菜紅銅離子及鉛離子的作用特性，評估含甜菜紅蔬果與銅、鉛離子接觸之食品安全，及應用於銅鉛離子檢測方法的開發。研究發現銅、鉛離子均會消退甜菜紅的光譜強度，因此在銅、鉛離子接觸下，甜菜紅將有食安的疑慮。所以火龍果園的施用含銅的波爾多液，應避免波爾多液與火龍果果實的接觸；甜菜等含有甜菜紅素的蔬果的種植必須選擇未受重金屬汙染的田園，以防止食安的問題。研究也發現在 pH 10 條件下，甜菜紅的分解產物與銅、鉛離子具有穩定的作用關係，有潛力開發為單獨測定銅離子及鉛離子的檢測方法。

捌、參考文獻

一、史家瑩等，2013，國民中學自然與生活科技第三、四、五冊，翰林出版事業股有限公司。

二、施正雄，2014 年 10 月，儀器分析原理與應用，五南圖書出版股份有限公司。

三、張效銘，2017 年 1 月，天然物概論，五南圖書出版股份有限公司。

四、何倚帆、陳穎宣，2014，開發葉綠素檢驗微量重金屬的方法，中華民國第 54 屆中小學科學展覽會國中組化學科，國立臺灣科學教育館。

五、柯逸萱、郭宇晴，2017，新式污水處理複合材料－結合薑黃素與幾丁聚醣清除水中有機物和重金屬離子，中華民國第 57 中小學科學展覽會高中組化學科，國立臺灣科學教育館。

六、詹昀臻、劉若婕，2017，反「薑」一「金」─探討薑黃素對於金屬離子的螯合作用，中華民國第 57 屆中小學科學展覽會高中組化學科，國立臺灣科學教育館。

七、沈維哲，2017，神農菌、嚐百草利用基因轉殖的大腸桿菌偵測中草藥內的重金屬，台灣 2017 年國際科展環境工程科，國立臺灣科學教育館。

八、彭佳悅、彭佳怡，2014，花開花飛花滿天－手機應用軟體色差計探討植物色素對酸鹼與重金屬之色差值可行性，中華民國第 54 屆中小學科學展覽會國中組化學科，國立臺灣科學教育館。

九、楊雲、林冠廷，2018，【非常好色，左右紅圓】---火龍果皮色素萃取之應用，中華民國第 58 屆中小學科學展覽會國中組生活與應用科學(二)科，國立臺灣科學教育館。

十、G.A.F. Hendry、J.D. Houghton，2018，Natural Food Colorants，p.60-p.64

十一、Maria Graça Miguel，2018 年 4 月，Betalains in Some Species of the Amaranthaceae Family: A Review

十二、Sławomir Wybraniec 等，2013 年 4 月，Effects of metal cations on betanin stability in aqueous-organic solutions

十三、Diego dos Santos Baião 等，2017 年 6 月，Nutritional, Bioactive and Physicochemical Characteristics of Different Beetroot Formulations

十四、Rosaria Ciriminna 等，2017 年 11 月，Betanin: A Bioeconomy Insight into a Valued Betacyanin

【評語】030203

利用甜菜紅能夠與銅離子及鉛離子結合的特性，評估以含甜菜紅之蔬果與銅、鉛離子(農藥)接觸之食安疑慮，以及應用上述特性提出檢測銅、鉛離子濃度之檢測方法。能夠以自製光譜儀成功測量甜菜紅之吸收光譜，以及以比爾定律成功的測量銅、鉛濃度，以及估算偵測下限，已能大致體現分析化學之精神。

該作品在實驗設計完善，甜菜紅(分析物)之光譜與吸收特性結果豐富，能夠充分說明該作品之目的性。

作品海報

壹、研究動機

火龍果皮中富含有被允許使用於食品的天然色素甜菜紅素，波爾多液是綠色食品所允許使用的天然農藥，常被推薦施用於火龍果病蟲害的防治，此液體是由硫酸銅與氫氧化鈣配置，藉著銅離子致使病菌死亡，但是銅離子長時間停留在火龍果植株或果實上，是否會滲進果皮或果肉中，與甜菜紅素起作用產生重金屬殘留，而造成食安問題的疑慮，引起我們研究的興趣。甜菜紅素也常從甜菜根萃取，土壤中若有重金屬的汙染，是否也會與甜菜紅素結合，然後進入到食物中，也是我們好奇的議題。本組試著將火龍果皮榨成汁液過濾後加入金屬離子溶液，發現銅鉛離子都能使萃取液顏色從紅色變成無色，因此想探討銅鉛離子與甜菜紅的反應情形，並開發為檢測方法。

貳、文獻探討與研究原理

一、文獻探討

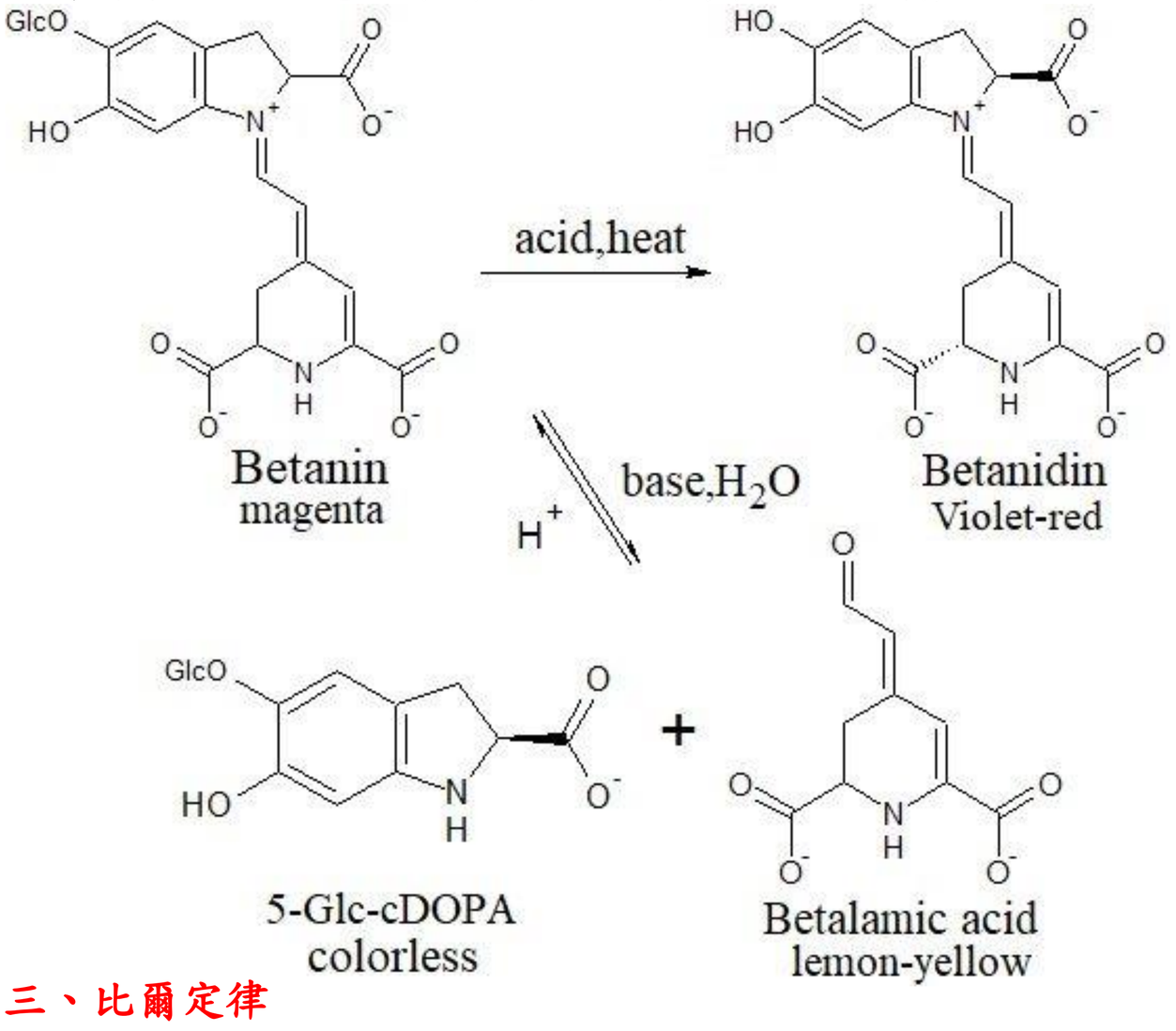
從「新式污水處理複合材料－結合薑黃素與幾丁聚醣清除水中有機物和重金屬離子」及「反薑一金—探討薑黃素對於金屬離子的螯合作用」等作品，都是利用一些有機化合物來螯合或吸附金屬的特性，而「神農菌、嚐百草-利用基因轉殖的大腸桿菌偵測中草藥內的重金屬」與「砷汙染終結者：中藥砷汙染的生物感測器與螯合器」，得知有些中藥、草藥中都會含有重金屬的成份，推測天然植物的成份中有可以與金屬離子結合的結構，若能先知道物質結構特性，藉由此特性來達到檢測金屬離子。

以「開發葉綠素檢驗微量重金屬的方法」，利用菠菜中萃取的葉綠素照光後所產生的螢光測得銅離子濃度，葉綠素本身為天然色素，會與金屬離子結合，原本的鎂離子會被銅離子取代形成更穩定的銅葉綠素，若用酸的氫離子去取代金屬離子會變成褐色，推測天然色素可能會因為酸鹼性或金屬離子的結合而改變顏色。

本研究結合資訊科技課程，以及從科學maker社團的推廣光譜儀來做改良，及參考施正雄教授的儀器分析原理與應用後，來自組光電測定儀的透射光功能，並以甜菜紅對金屬離子的檢測，推廣簡易方法測量出金屬離子含量。

二、甜菜紅

化學式為$C_{24}H_{26}N_2O_{13}$，是一種由酪氨酸組成的吲哚及吡啶衍生物，甜菜醛氨酸為其基本生色團，具糖苷配基，為弱酸性，結構如下圖。甜菜紅的降解還易受光、氧氣、熱等因素影響，甜菜紅在pH值為4.0~5.0時最為穩定，通過水解掉而獲得的葡萄糖分子，是betanidin。甜菜紅隨著pH的增加而顏色變成藍紫色，另外醛亞胺鍵水解，生成betalamic acid和cyclo-dopa-5-O-glucoside，顏色轉為黃棕色。可以將甜菜根以壓榨或擴散技術等類似於果汁生產的方式加工成果汁，然後將果汁離心、殺菌並濃縮，以糊精作為載體，將果汁噴霧乾燥成粉末來取得甜菜紅。這種從甜菜中提取的紅色糖食染料，可作為食品添加劑。

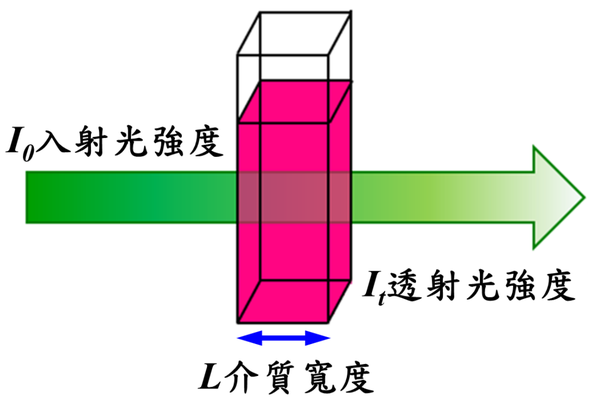


三、比爾定律

比爾定律是用一束平行單色光垂直照射在待測液，通過一定長度的待測液後，會被吸收掉一部分的光能，使透光強度減弱。且需在溶液均勻、澄清、低濃度且不會與入射光產生反應等條件下才會符合。吸光度與光穿過溶液的長度及溶液濃度間之關係式為：

$$A=\log\frac{I_0}{I_t}=\log\frac{1}{T}=\alpha\times l\times c$$

A：溶液的吸光度；α：吸收係數
I_0：入射光的強度；c：溶液的濃度
I_t：透射光的強度；T：透光度
l：光穿過溶液長度



四、偵測極限

試劑水中添加待測物配製成7個待測樣品，並將測得之結果依檢測方法規定之計算方法求得濃度。計算7次測定值之標準差 $S=\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(X_i-\overline{X})^2/n-1}$ ，其偵測極限為三倍標準差。

X_i：待測樣品測定值；　X：待測樣品平均值；　n：測定次數

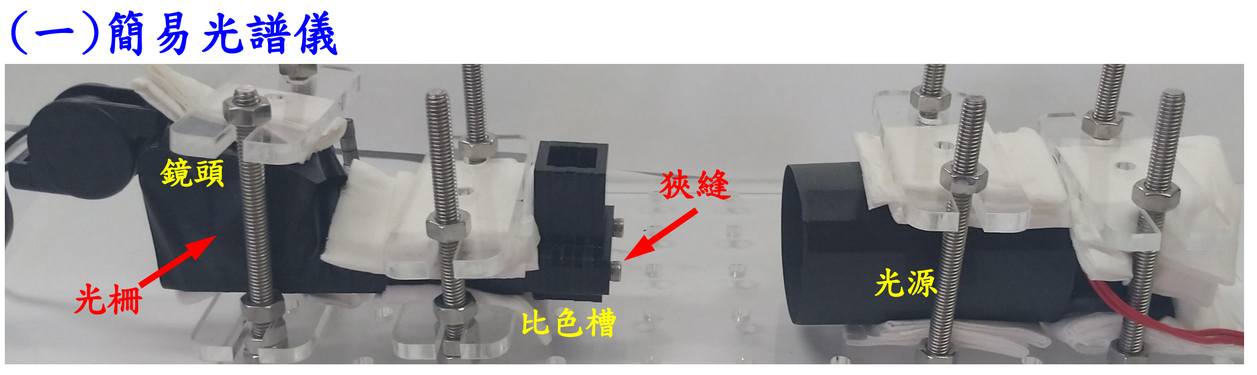
參、研究目的

一、自組實驗儀器並偵測穩定度
二、探討不同濃度甜菜紅的光譜及在各色光透射電壓
三、探討甜菜紅對不同濃度的銅鉛離子的變化情形
四、探討銅鉛離子對不同酸鹼值的甜菜紅的變化情形
五、探討鹼性甜菜紅對不同濃度的銅鉛離子變化情形

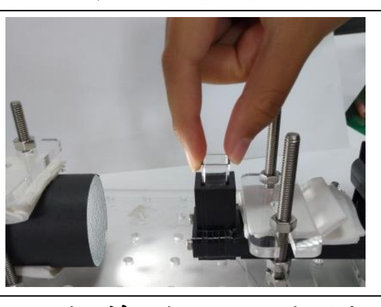
肆、研究過程

一、組裝研究儀器

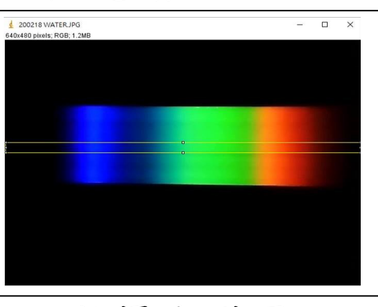
(一)簡易光譜儀



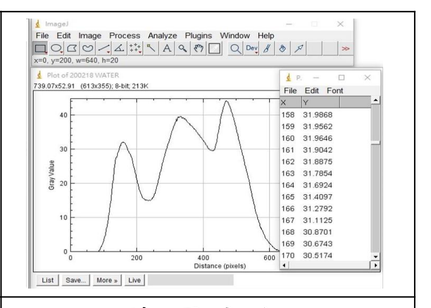
將比色管放入比色槽中，利用光源經由光柵產生連續光譜，來測定待測液的吸收光譜。



比色管放入比色槽

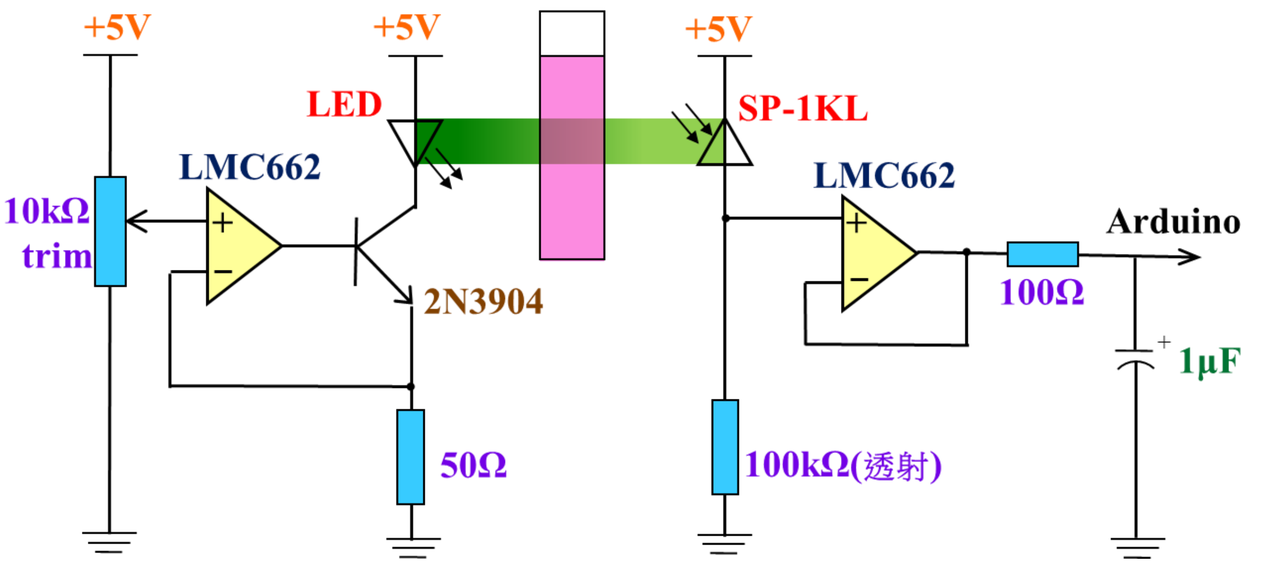


拍攝光譜圖



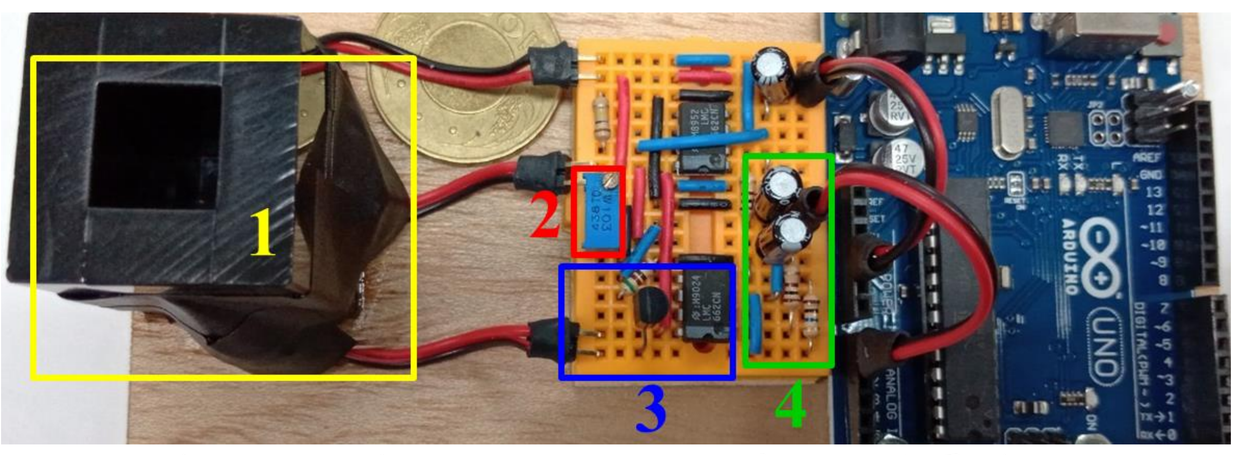
作圖分析

(二)光電測定儀電路圖



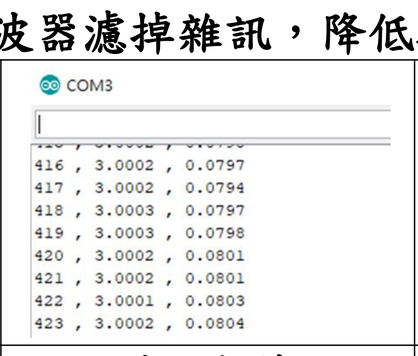
利用可變電阻來控制LED的亮度，經過比色管及待測液，藉由光電二極體轉為輸出電壓，並利用分壓放大電路，將訊號放大並傳送到Arduino送到電腦來做記錄。

(三)光電測定儀模組

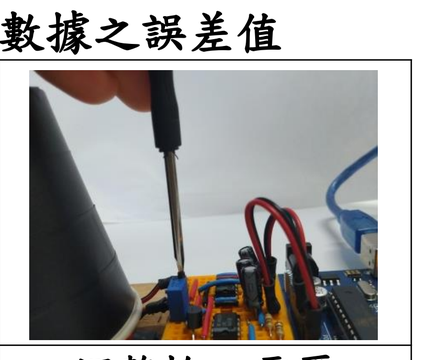


功能：1.有散射和透射兩接收端，同時記錄電壓變化
2.供應電壓5V，利用可變電阻改變輸入電壓控制光源
3.定電流驅動電路，使發光二極體光源穩定
4.利用低通濾波器濾掉雜訊，降低數據之誤差值

執行程式



讀取數據



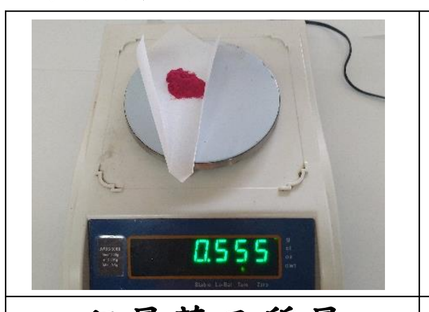
調整輸入電壓

(四)恆溫水浴槽

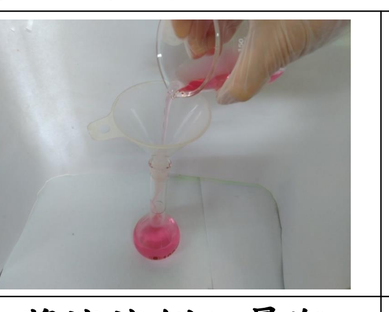
將插頭插上插座來提供電源，讓電湯匙可以加熱溶液，並用功率調節器控制。設定加熱的啟動溫度和停止溫度，並將模組放置在能保溫的容器，控制所要的水溫。

二、調配不同濃度甜菜紅溶液及金屬離子溶液

利用量瓶配置相對應濃度的溶液，再利用電子秤取代量筒來稀釋，並調配出其他濃度。



秤量藥品質量



將溶液倒入量瓶

用電子秤取代量筒

伍、研究結果與討論

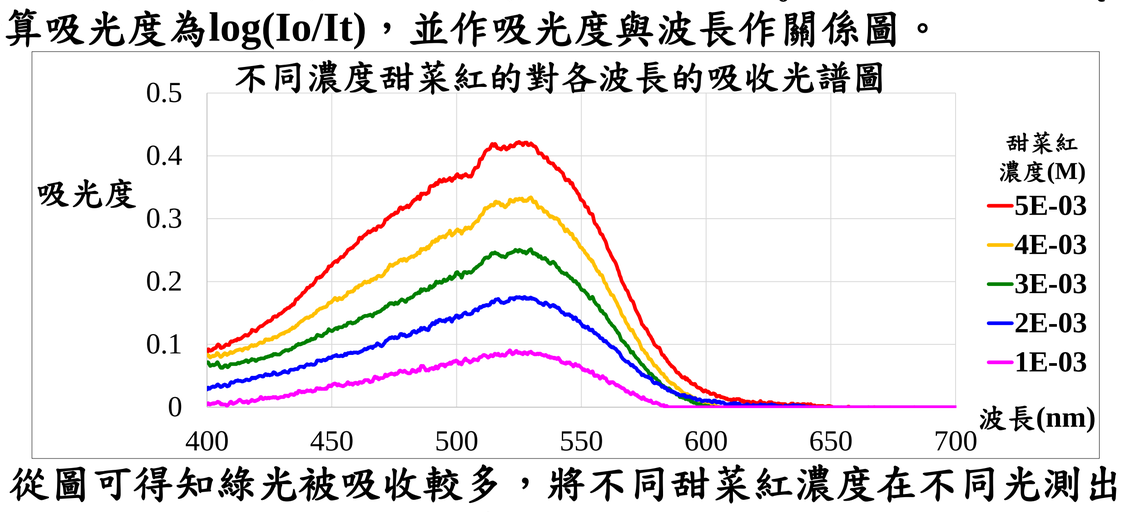
一、自組實驗儀器並偵測穩定度

1. 光譜儀搭配YouCam拍攝光譜，再利用ImageJ進行光譜吸光度分析，可以簡單分析出物質的吸收波長關係。
2. 光電測定儀特色有價格便宜、光源穩定、暖機快、體積小，並內建數據平均的功能，時間解析度為1ms、並利用低通濾波電路消除雜訊，具有同時測定透射及散射的功能，可調整放大倍率，增加靈敏度，並可調整電壓最佳範圍，顯示時間與電壓的關係，為多功能的光學儀器。
3. 自製恆溫裝置價格便宜，可穩定的控制水的溫度範圍。

二、探討不同濃度甜菜紅的光譜及在各色光透射電壓

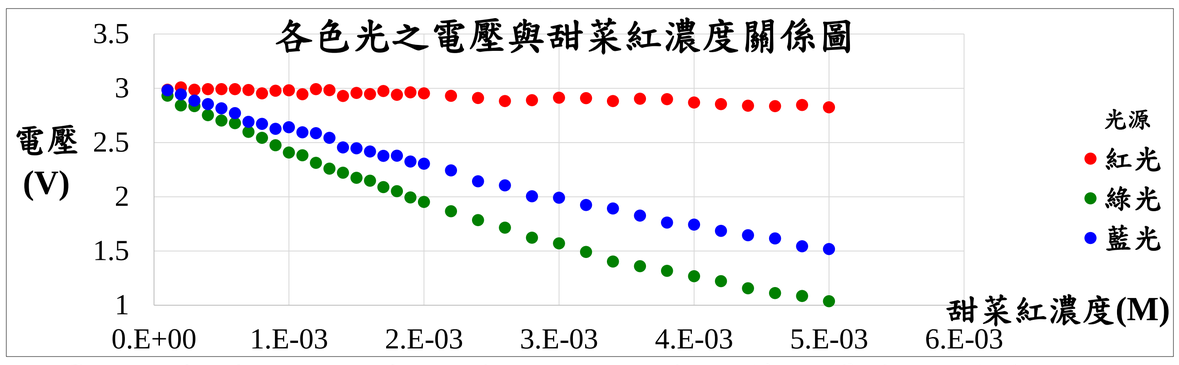
1.配製不同濃度甜菜紅溶液測量其光譜

測量蒸餾水與甜菜紅光譜圖(蒸餾水光強度I_0，甜菜紅光強度I_t)，經計算吸光度為log(Io/It)，並作吸光度與波長作關係圖。

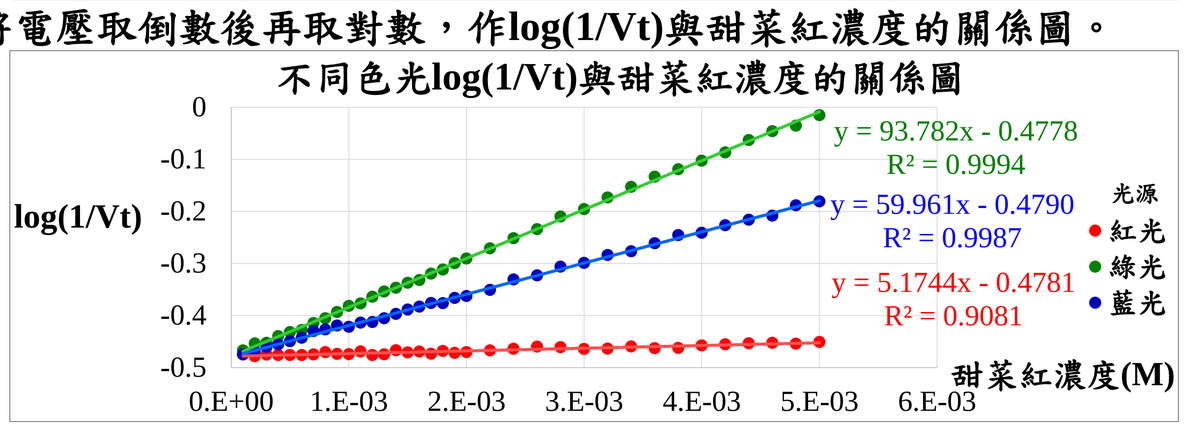


從圖可得知綠光被吸收較多，將不同甜菜紅濃度在不同光測出電壓，並將電壓取倒數取對數與濃度作成關係圖。

2.利用不同色光測量不同濃度甜菜紅的電壓，測量其關係。

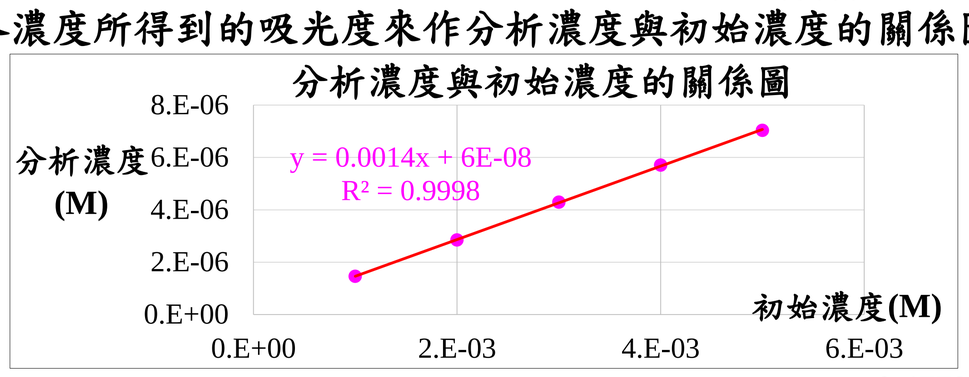


將電壓取倒數後再取對數，作log(1/Vt)與甜菜紅濃度的關係圖。



以電壓換成光強度，得到 $\log(1/V_t)=\alpha\times l\times c-\log V_0$ (Vt為透射電壓，V_0為入射電壓)，圖中綠光吸收程度最好與吸收光譜符合，將綠光對甜菜紅濃度整理得到 $[\text{甜菜紅}]=\dfrac{0.4778-\log Vt}{93.782}$ 。

本實驗所用的甜菜紅以糊精作為載體，從文獻中得知甜菜紅對530nm波長的吸收係數為$6.56\times10^{4}(M^{-1}cm^{-1})$，以甜菜紅為$5\times10^{-3}$M對綠光的吸光度為$=\log(3/1.0361)=0.461$，換算甜菜紅分析濃度 $=\dfrac{0.461}{65600}=7.04\times10^{-6}M$，再對各濃度所得到的吸光度來作分析濃度與初始濃度的關係圖。

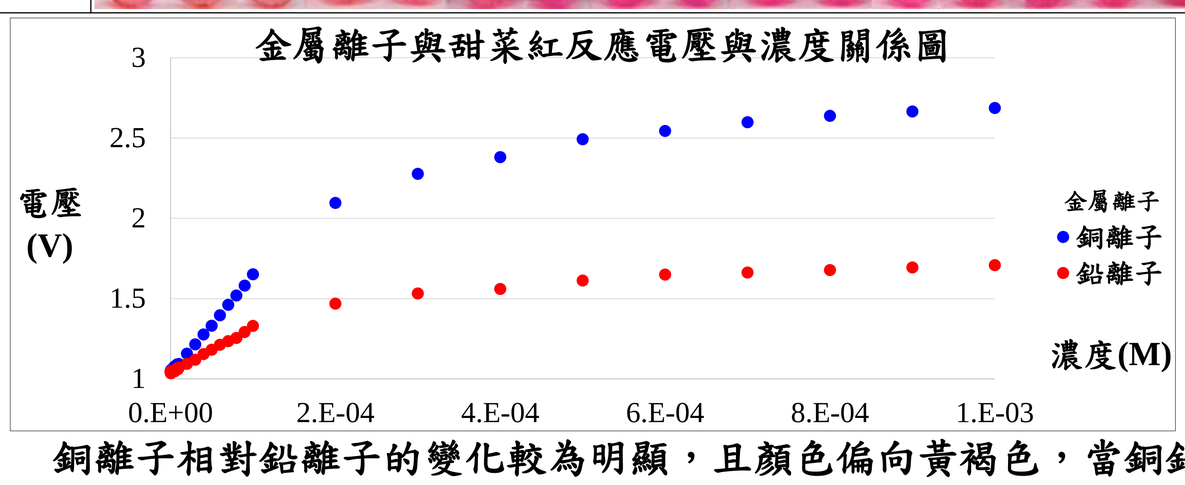


試藥的甜菜紅含量約0.14%，將濃度重新修正為 $[\text{甜菜紅}]=\dfrac{0.4778-\log Vt}{67062}$

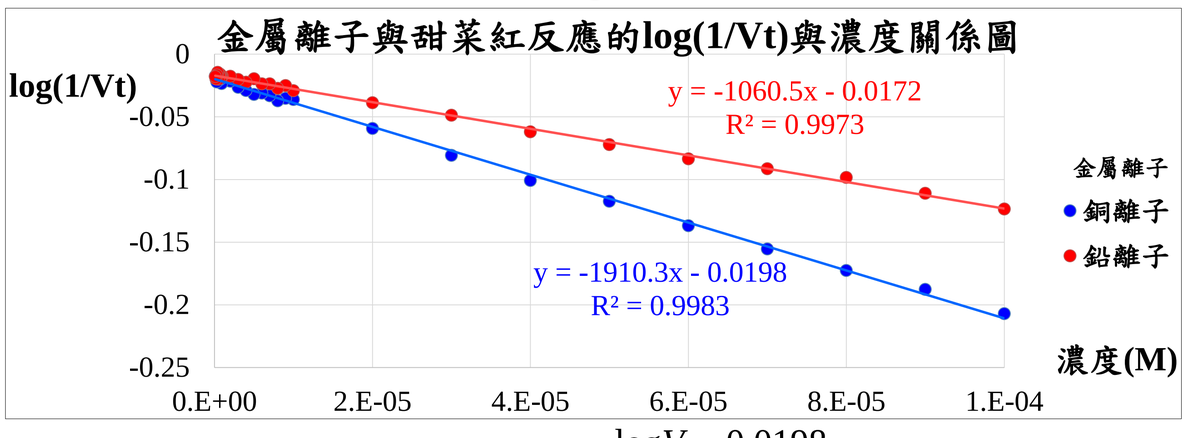
三、探討甜菜紅對不同濃度的銅鉛離子的變化情形

1.甜菜紅為7.04×10^{-6}M，將不同濃度銅鉛離子反應，並以綠光來檢測。

濃度($\times10^{-5}$M)	100	80	60	40	20	10	8	6	4	2	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1
Cu^{2+}																
Pb^{2+}																

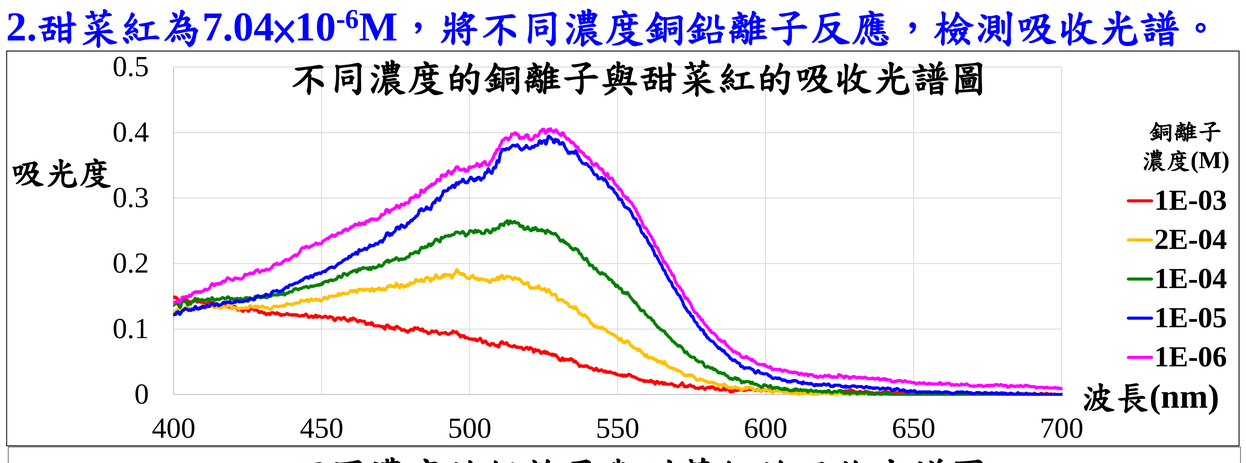


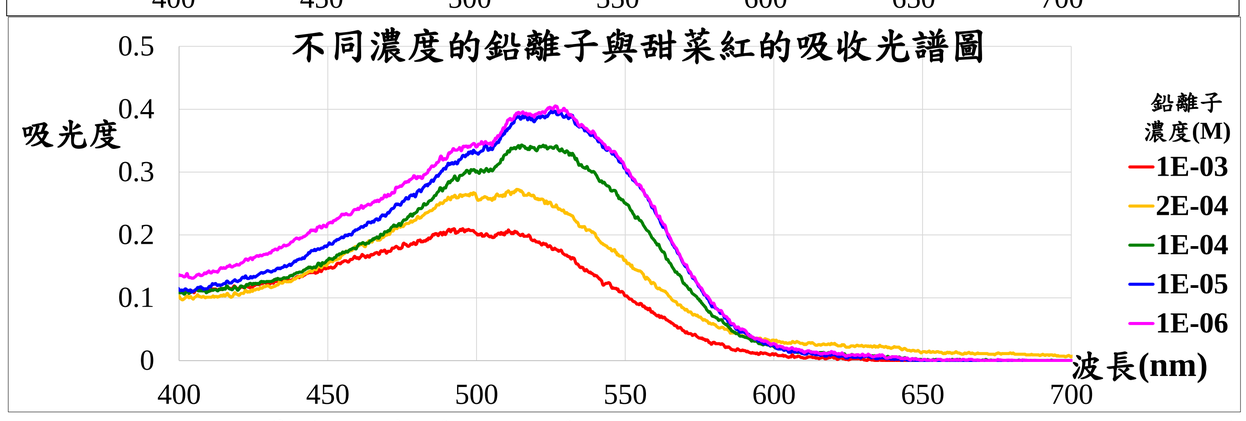
銅離子相對鉛離子的變化較為明顯，且顏色偏向黃褐色，當銅鉛離子濃度越高時顏色變化越多，但超過一定的濃度時，顏色比較沒有變化，推測反應會有一定的比例，因此找出可測量上下限值，並符合線性關係，作不同濃度金屬離子log(1/Vt)與金屬離子濃度的關係圖。



將電壓換算銅離子濃度 $[Cu^{2+}]=\dfrac{\log V_t-0.0198}{1910.3}$ ，測量10^{-6}M七次電壓標準差為1.12×10^{-3}，偵測極限為 $\dfrac{1.44\times10^{-3}\times3}{1910.3}=1.76\times10^{-6}M$，相當為$1.12\times10^{-1}$ppm，另外將電壓換算鉛離子濃度 $[Pb^{2+}]=\dfrac{\log V_t-0.0172}{1060.5}$ ，測量10^{-6}M七次電壓標準差為1.24×10^{-3}，偵測極限為 $\dfrac{1.24\times10^{-3}\times3}{1060.5}=3.51\times10^{-6}M$，相當為$7.26\times10^{-1}$ppm，反應顏色有不同變化，利用光譜儀測量光譜。

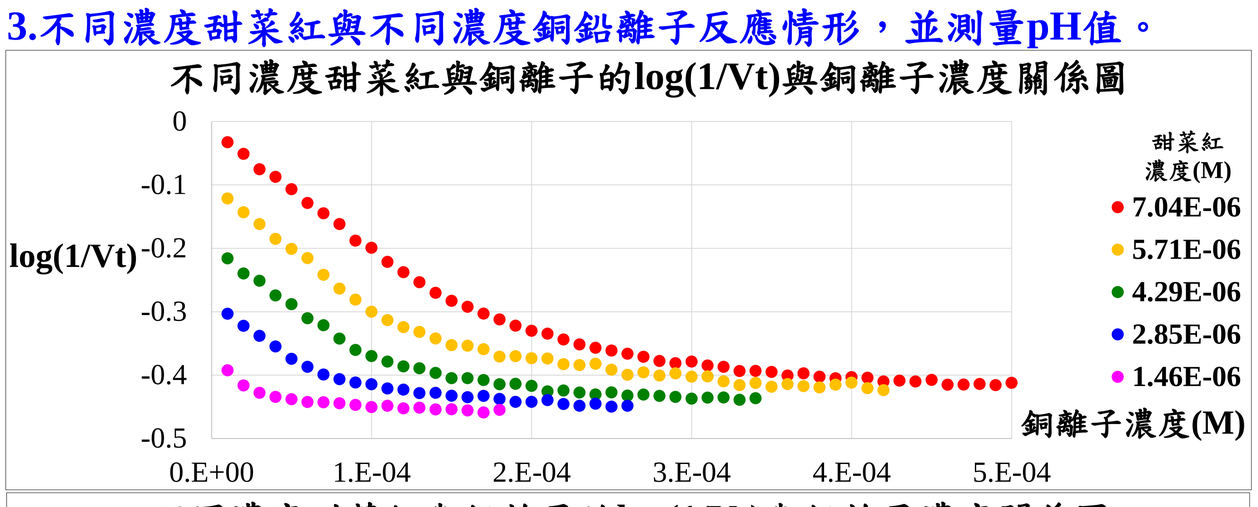
2.甜菜紅為7.04×10^{-6}M，將不同濃度銅鉛離子反應，檢測吸收光譜。

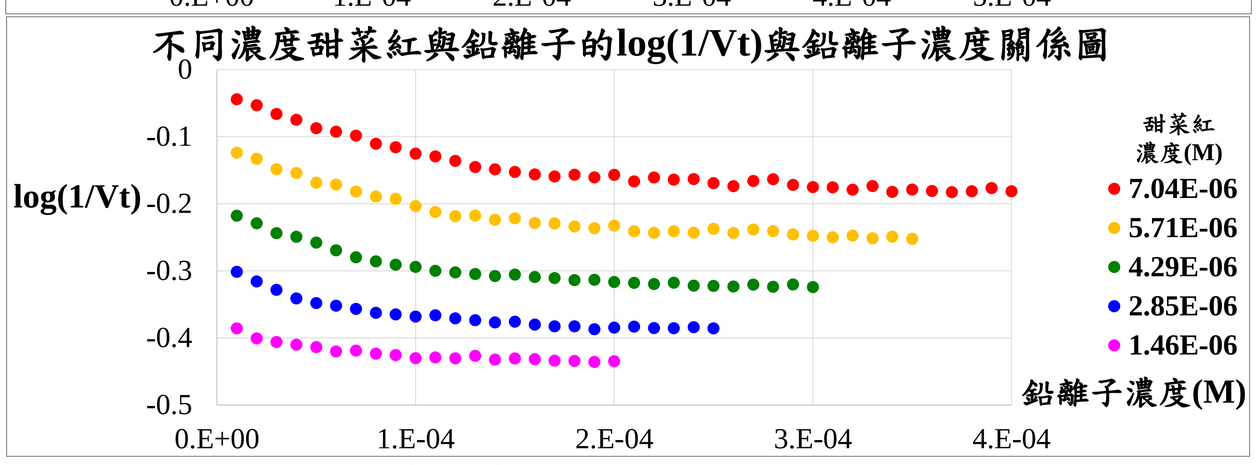




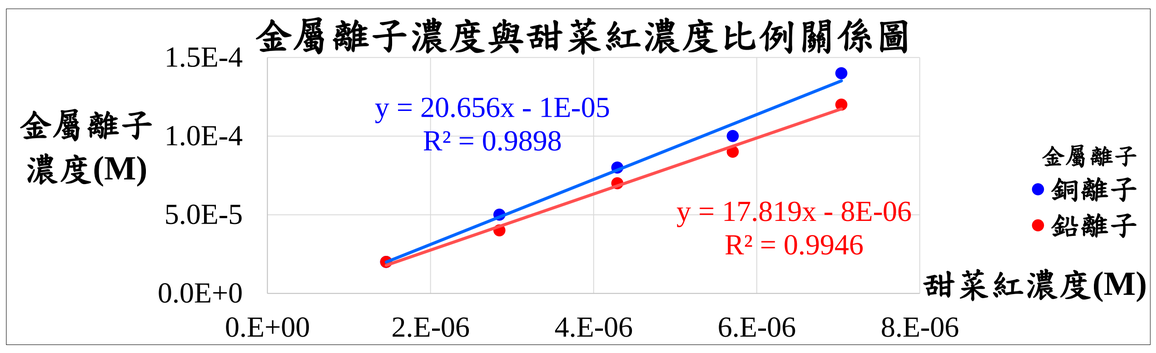
銅鉛離子濃度越多時，此時對綠光的吸收度下降，且銅離子的變化較為明顯，且光譜吸收的峰值有偏向低波長的地方移動，推測在結構上發生改變，使得吸收程度不一樣，。

3.不同濃度甜菜紅與不同濃度銅鉛離子反應情形，並測量pH值。

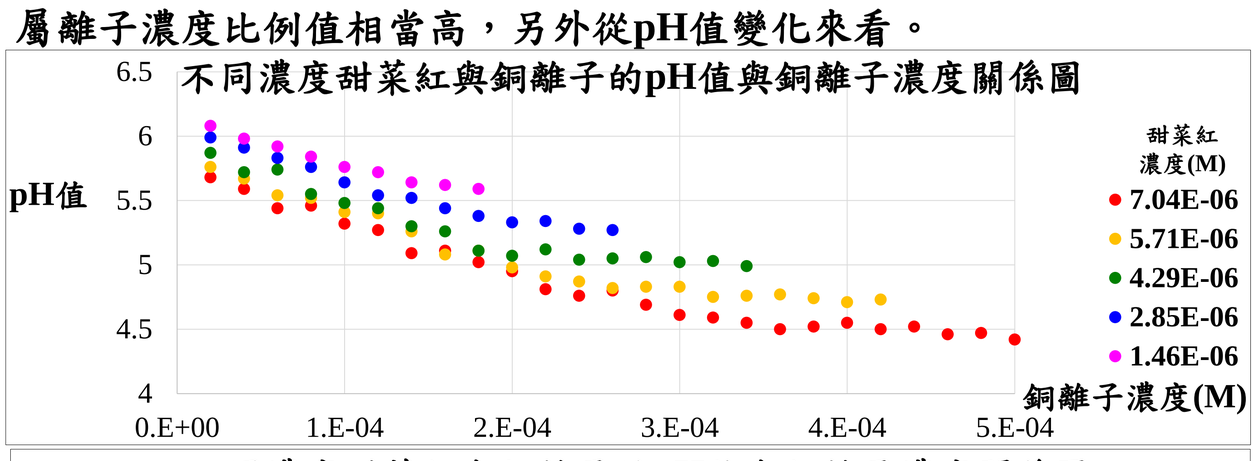


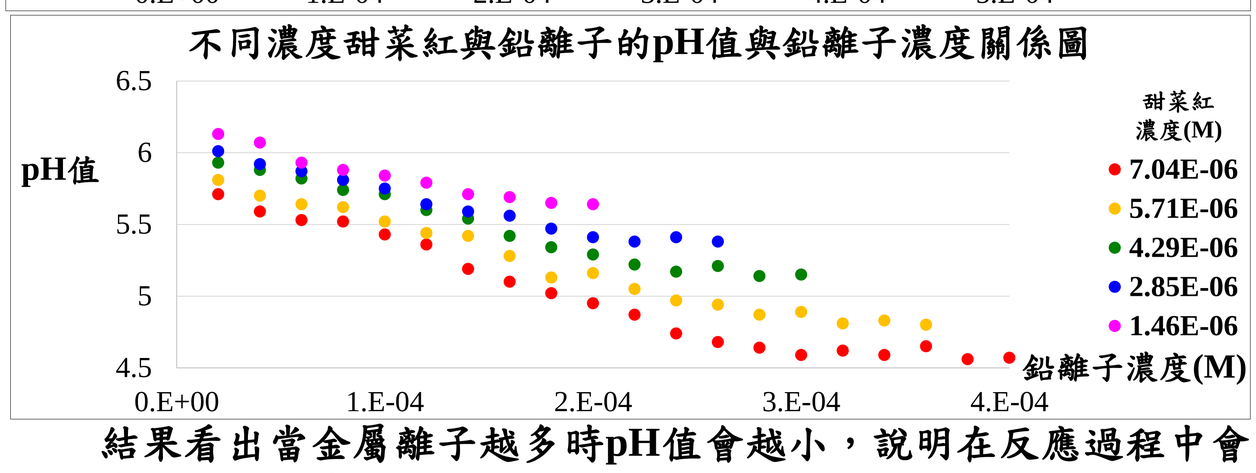


結果得知不同甜菜紅濃度與銅鉛離子反應有一定比例，也有可能只是顏色變化到特定的結構就不改變，銅離子對甜菜紅變化比鉛離子來的明顯，並作金屬離子濃度與甜菜紅濃度比例關係圖。



結果看到甜菜紅濃度與銅離子濃度比例約為1比21，甜菜紅濃度與鉛離子濃度比例約為1比18，推測在反應過程中，除了甜菜紅與銅鉛離子反應外，溶液中糊精可能會與金屬離子作用，使得所需的金屬離子濃度比例值相當高，另外從pH值變化來看。

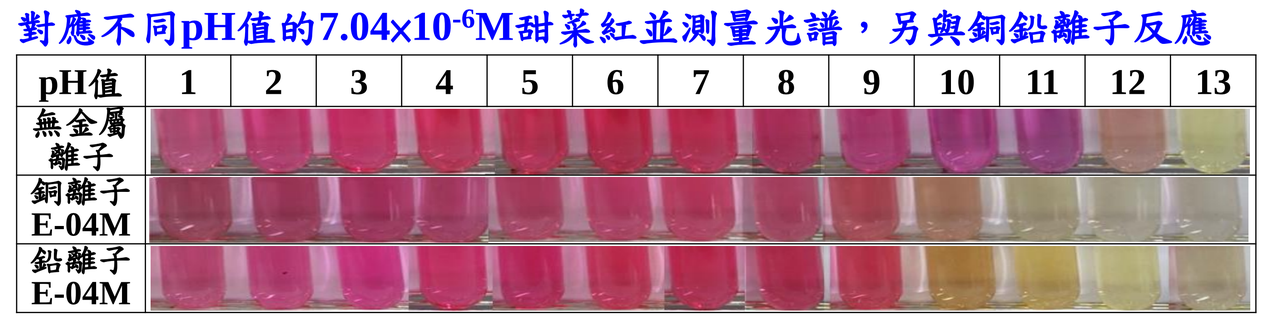


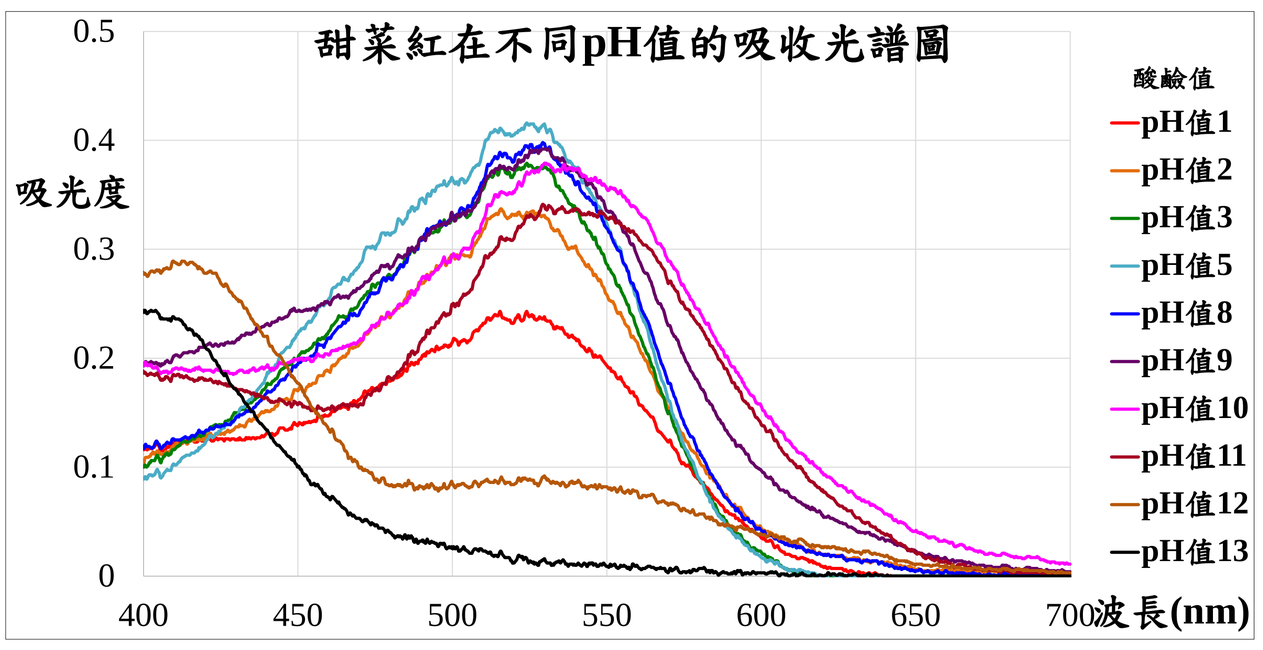


結果看出當金屬離子越多時pH值會越小，說明在反應過程中會放出氫離子，也有放出CO_2而形成碳酸，且pH值到一定的比例後就不再改變，推測有可能銅鉛離子會與結構變化後的甜菜紅反應，銅鉛離子應該會與羧酸基結合，或與產生的碳酸根結合；而銅離子與含有孤獨電子對的氮原子配位，或與分解後的葡萄糖結合。從實驗結果可得知甜菜紅與銅鉛離子反應結合，造成食安的疑慮。

四、探討銅與鉛離子對不同酸鹼值的甜菜紅的變化情形

對應不同pH值的7.04×10^{-6}M甜菜紅並測量光譜，另與銅鉛離子反應

pH值	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
無金屬離子													
銅離子 E-04M													
鉛離子 E-04M													



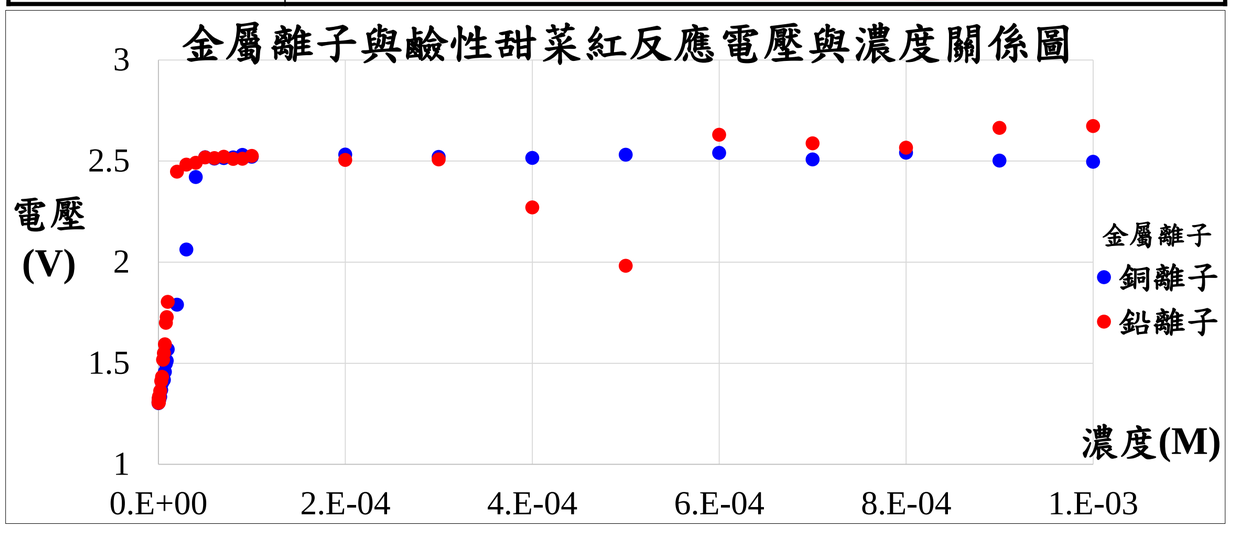
甜菜紅在酸性環境下顏色減退，在鹼性增加則是趨近於紫紅色然後變成黃色，pH值超過12之後對藍光的吸光度變多，相對的綠光吸收變少，表示結構上發生改變。

甜菜紅與銅鉛離子在一小時左右，pH值超過9後就較有變化，顯示pH值太大時，甜菜紅會很不穩定的氧化。若降低甜菜紅的pH到10，就算放久也不容易變色，以下就以pH為10的甜菜紅來與銅及鉛離子來作反應探討。

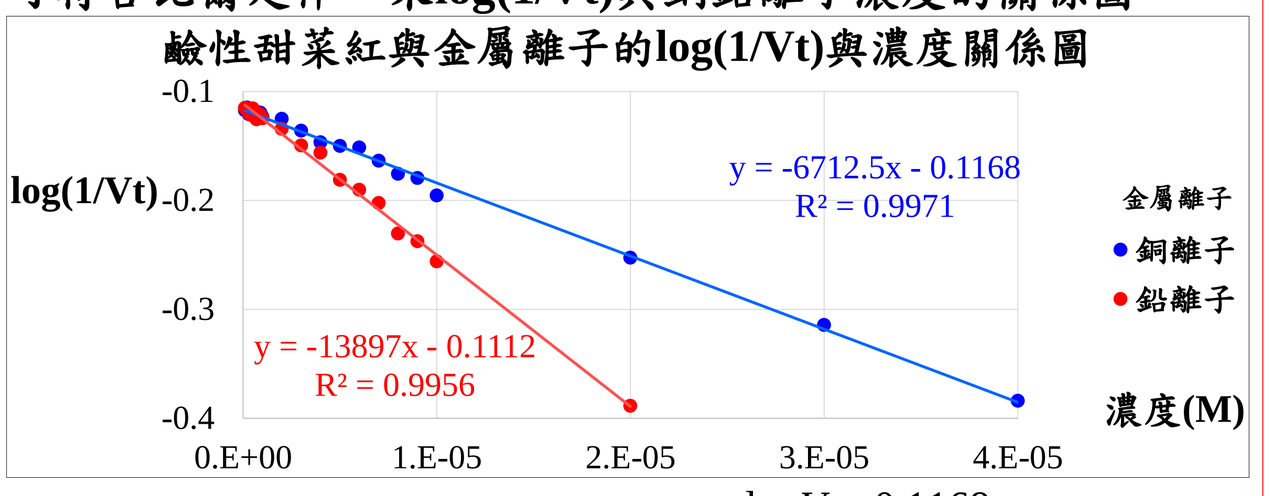
五、探討鹼性甜菜紅對不同濃度的銅鉛離子變化情形

1.利用pH值10的7.04x10^{-6}M甜菜紅與各濃度的銅鉛離子反應

濃度(xE-04M)	10	8	6	4	2	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1
Cu^{2+}											
濃度(xE-06M)	10	8	6	4	2	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1
Cu^{2+}											
濃度(xE-04M)	10	8	6	4	2	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1
Pb^{2+}											
濃度(xE-06M)	10	8	6	4	2	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1
Pb^{2+}											

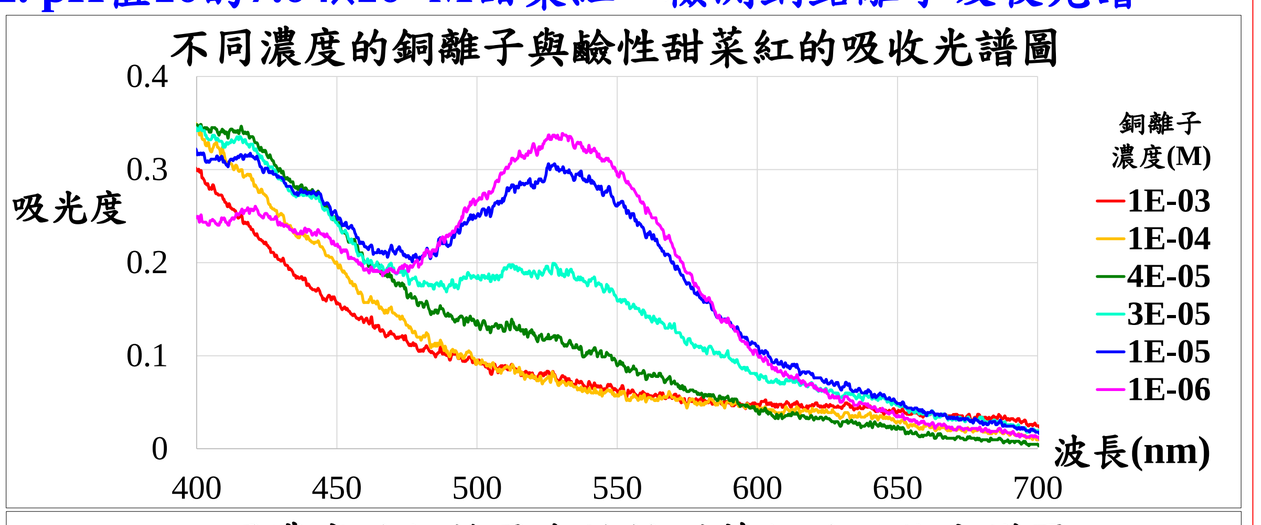


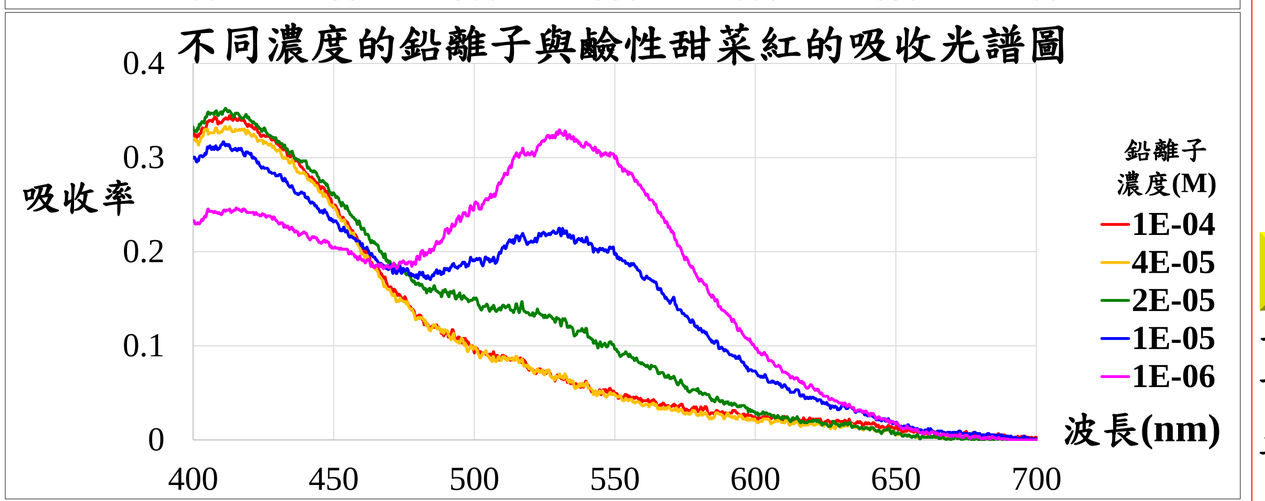
銅離子約在4~5x10^{-5}M、鉛離子約在2~3x10^{-5}M之後顏色就不再改變，推測甜菜紅已與銅鉛離子反應完成，利用電壓可符合比爾定律，來log(1/Vt)與銅鉛離子濃度的關係圖。



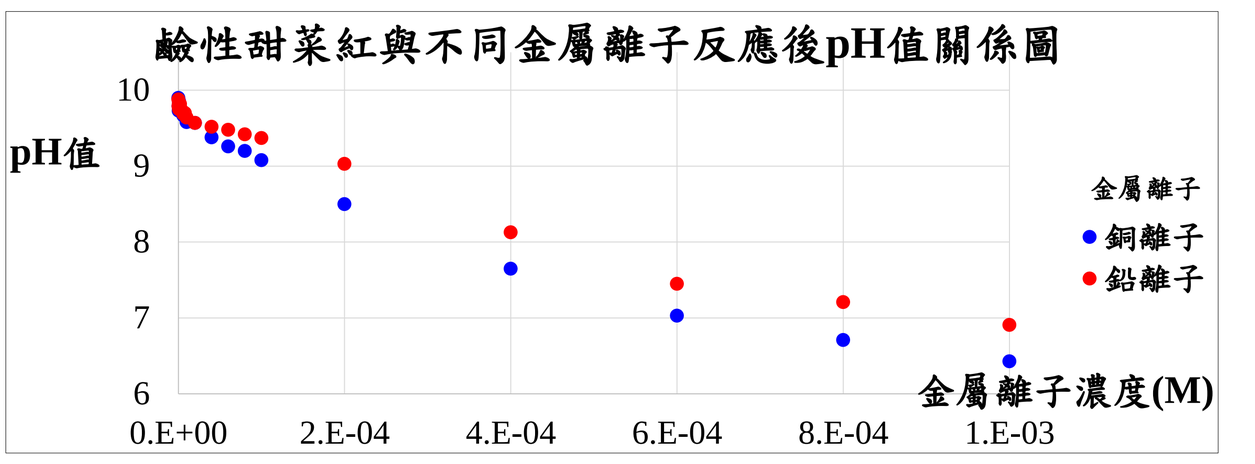
將電壓換算銅離子濃度 $[Cu^{2+}]=\frac{\log V_t-0.1168}{6712.5}$，測量10^{-6}M標準差為1.19x10^{-3}，偵測極限為 $\frac{1.19\times10^{-3}\times3}{6712.5}=5.32\times10^{-7}M$，相當為3.38x10^{-2}ppm，將電壓換算鉛離子濃度 $[Pb^{2+}]=\frac{\log V_t-0.1112}{13897}$，測量10^{-6}M標準差為1.26x10^{-3}，偵測極限為 $\frac{1.26\times10^{-3}\times3}{13897}=2.72\times10^{-7}M$，相當為5.63x10^{-2}ppm，鹼性下的甜菜紅相對原甜菜紅的檢測極限可再測量到更低濃度，且在顏色變化有所不同，利用光譜儀測量吸收光譜。

2. pH值10的7.04x10^{-6}M甜菜紅，檢測銅鉛離子吸收光譜。



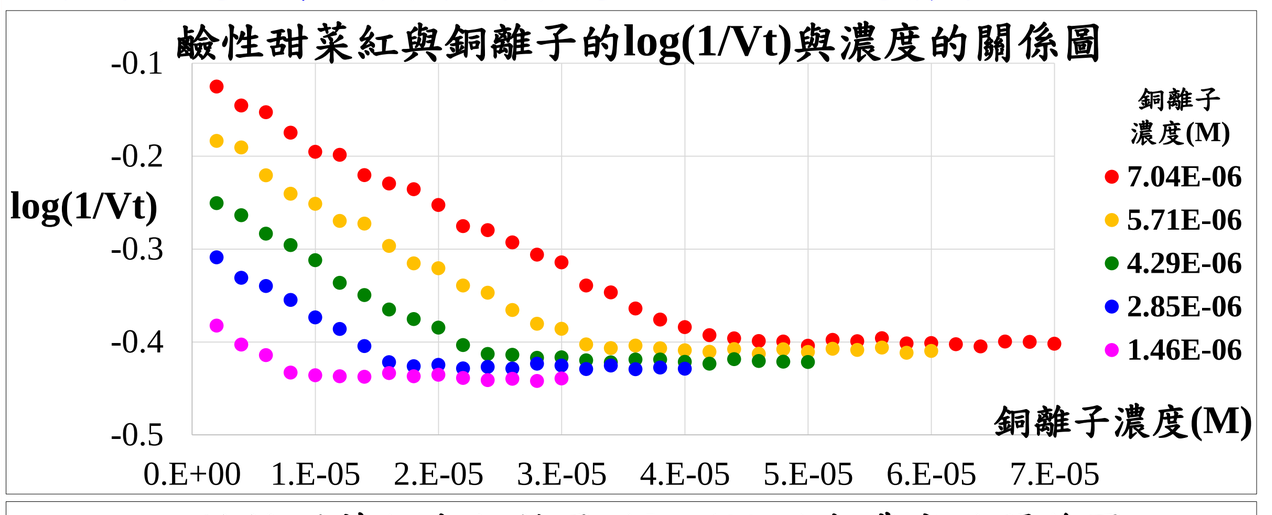


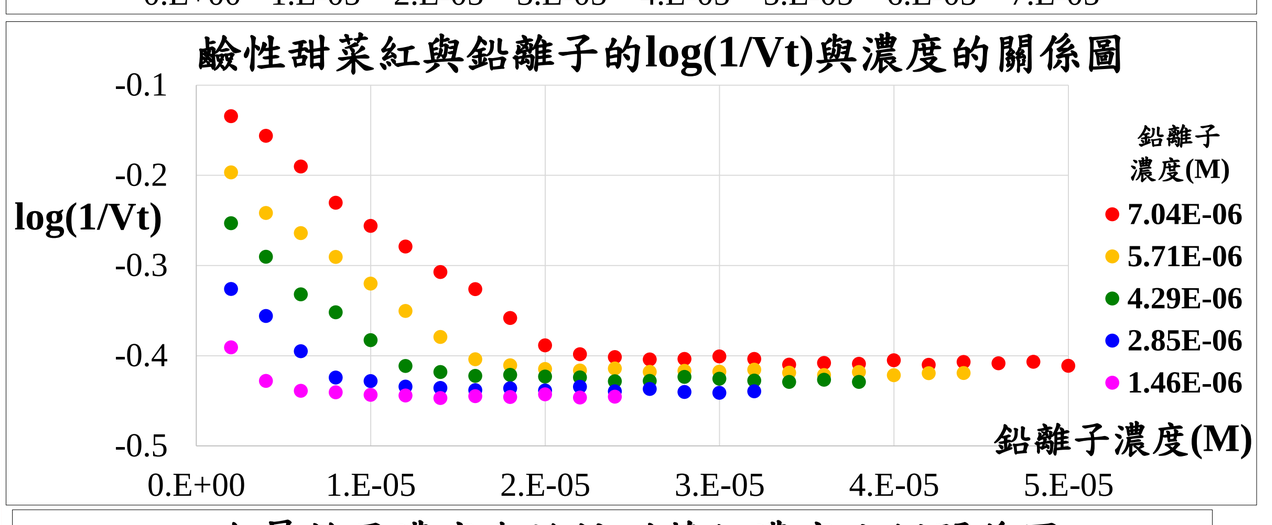
從不同濃度的金屬離子與鹼性甜菜紅反應，得知金屬離子濃度越多時，都對綠光吸收度降低，但兩者在顏色變化會有所不同，主要分別是銅離子的吸收峰可能在400nm以下，而鉛離子吸收峰在400nm~415nm的地方，表示反應情形不同，另外再從酸鹼值及反應比例來看。

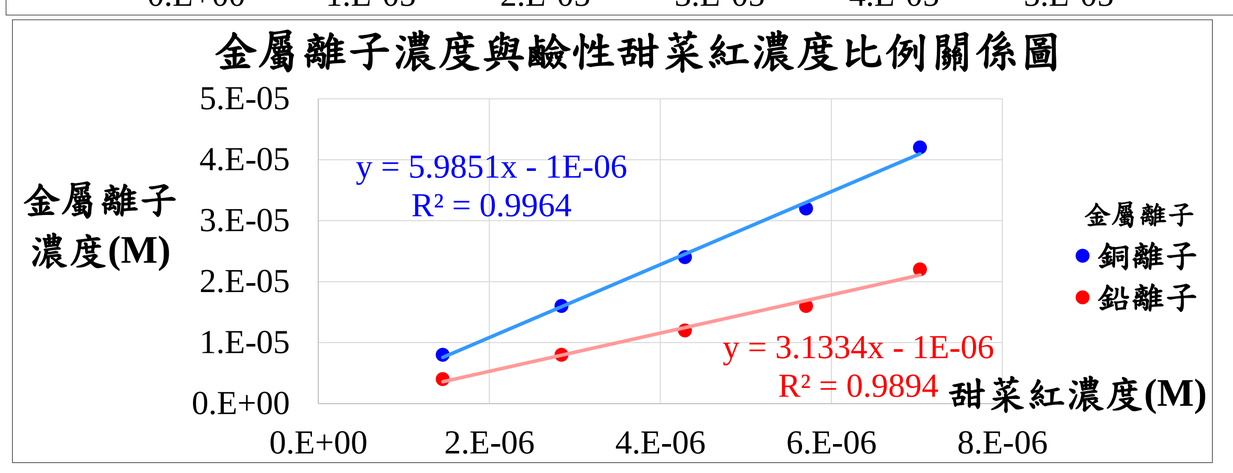


從pH值變化來看，低濃度的金屬離子對甜菜紅的酸鹼值影響不太大，多出的金屬離子可能與氫氧根反應。

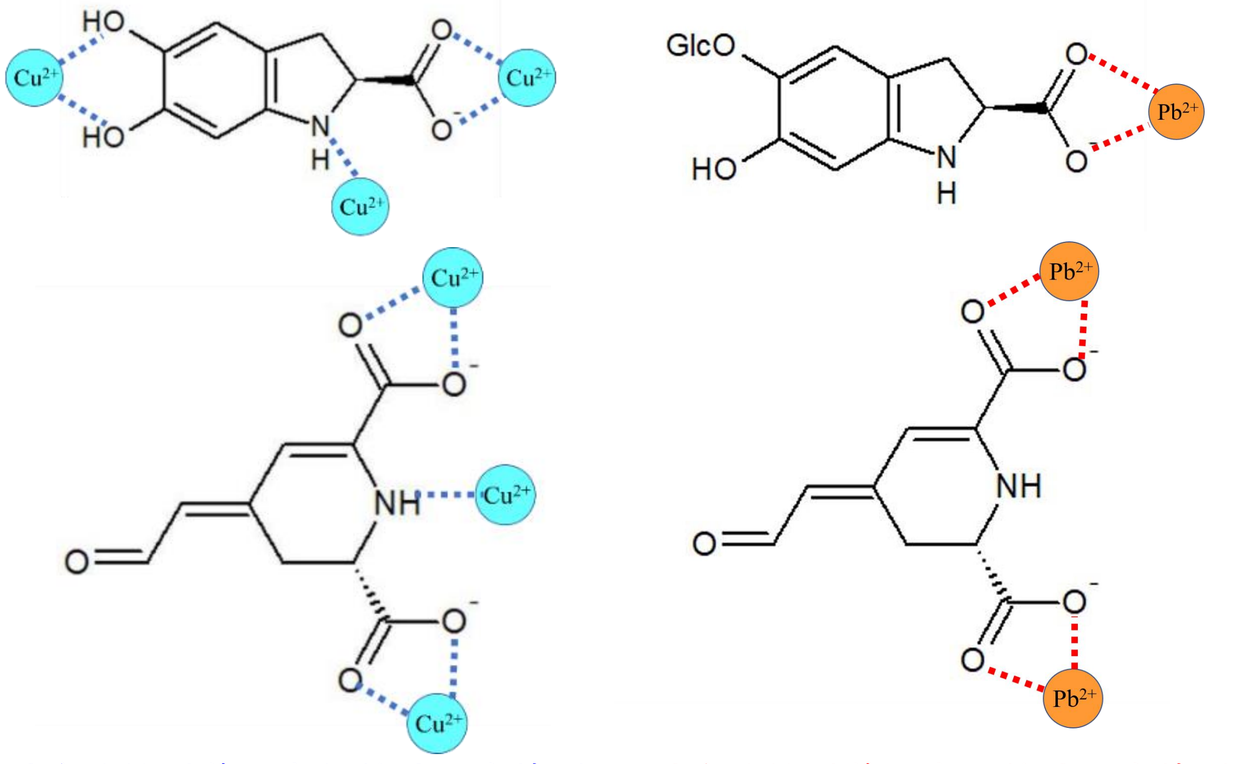
3.不同濃度甜菜紅與不同濃度銅鉛離子反應情形







甜菜紅與銅鉛離子完成反應之後，顏色就不再改變，因此在鹼性下可以利用甜菜紅去測量出金屬離子。得到甜菜紅濃度與銅離子濃度比例約為1比6，甜菜紅濃度與鉛離子濃度比例約為1比3，推測在金屬離子與甜菜紅分解後的產物會產生配位，而銅離子還會與苯酚配位以外，如下圖，也可能與甜菜紅分解後產生的葡萄糖作用。



圖為鹼性甜菜紅與銅離子反應情形　　圖為鹼性甜菜紅與鉛離子反應情形

銅鉛離子會與甜菜紅結合，有潛力用在單一金屬離子的檢測，利用調配pH值的甜菜紅溶液與可能有銅或鉛離子的溶液等體積混合在一起，觀察是否有顏色變化，可以用自組修飾的簡易光學儀器，檢測到很低濃度的金屬離子。

陸、結論

本研究首次以自組修飾光學檢測儀器，利用甜菜紅標準藥品，成功地探討甜菜紅與銅鉛離子的作用特性，研究發現銅鉛離子均會改變甜菜紅的光譜，因此在銅鉛離子接觸下，將有食安的疑慮。所以火龍果園使用含銅離子的波爾多液，應避免與火龍果果實的接觸；甜菜等含有甜菜紅素的蔬果的種植必須選擇未受重金屬汙染的田園，以防止食安的問題。研究也發現在pH值10條件下，甜菜紅的分解產物會與銅鉛離子具有穩定的作用關係，有潛力開發為單一測定銅離子及鉛離子的檢測方法，並推廣至中小學彈性課程的實驗研究，應用在水質的檢測。

柒、參考文獻

一、施正雄，2014年10月，儀器分析原理與應用，五南圖書出版股份有限公司。
二、何倚帆、陳穎宣，2014，開發葉綠素檢驗微量重金屬的方法，中華民國第54屆中小學科學展覽會國中組化學科，國立臺灣科學教育館。
三、沈維哲，2017，神農菌、嚐百草利用基因轉殖的大腸桿菌偵測中草藥內的重金屬，台灣2017年國際科展環境工程科，國立臺灣科學教育館。
四、彭佳悅、彭佳怡，2014，花開花飛花滿天一手機應用軟體色差計探討植物色素對酸鹼與重金屬之色差值可行性，中華民國第54屆中小學科學展覽會國中組化學科，國立臺灣科學教育館。
五、G.A.F. Hendry、J.D. Houghton，2018，Natural Food Colorants，p.60-p.64
六、Maria Graça Miguel，2018年4月，Betalains in Some Species of the Amaranthaceae Family: A Review
七、Sławomir Wybraniec等，2013年4月，Effects of metal cations on betanin stability in aqueous-organic solutions
八、Rosaria Ciriminna等，2017年11月，Betanin: A Bioeconomy Insight into a Valued Betacyanin