

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國中組 生物科

探究精神獎

030320

「澱」「光」石火—葉片澱粉半定量分析法的設計與實測

學校名稱：新北市立永和國民中學

作者： 國二 楊書桓 國二 劉智翔 國二 黃郁宸	指導老師： 黃仲玉 黃正龍
---	-----------------------------

關鍵詞：澱粉、半定量、葉片

摘要

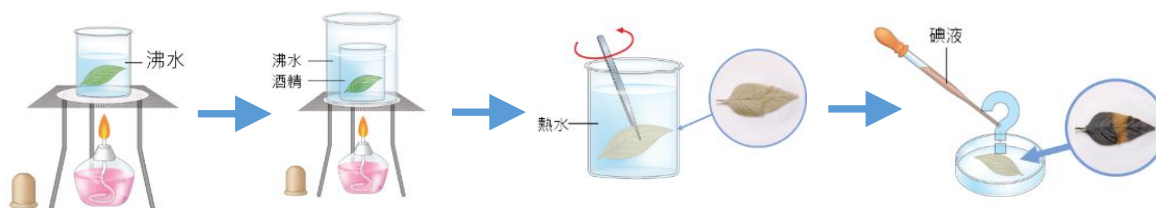
為延伸國中教材中測定植物葉片澱粉有無的方法，使具有比較澱粉多寡之功能。我們設計出能將澱粉半定量分析的簡易方法—米字檢測法：利用「澱粉與碘液產生的深色錯合物，會因澱粉濃度不同而對米字圖形產生不同遮蔽率」之原理，製作「澱粉濃度—米字遮蔽率常模」。應用上，我們建立了米字檢測法標準操作程序，對照常模後即可快速比較葉片中澱粉含量；相較分光光度計吸光值或沉澱法，米字檢測法具有便宜、器材簡單、操作簡便等優點。我們並從校園植物篩選出日日春(*Catharanthus roseus*)與芳香萬壽菊(*Tagetes lemmonii*)，以米字檢測法進行葉片澱粉代謝實測；發現不同植物在不同季節及光照變化下，葉片中澱粉含量變化也不同。驗證米字檢測法於探究植物澱粉代謝上具有應用價值。

壹、研究動機

在七年級生物課程中，有一項光合作用的實驗相當有趣。老師讓我們自行選取校園植物，將葉片局部遮光幾天後，摘下進行以下的標準光合作用實驗流程：首先將葉片煮沸以軟化組織，接著以酒精隔水加熱去除葉綠素，熱水漂洗後滴加碘液，以檢測葉片之澱粉反應，如圖(一)。實驗結果發現，有些植物照光數小時就有明顯的澱粉反應，有些卻需要好幾天；有些植物在上午實驗時葉片澱粉反應明顯，但當午後天氣轉陰幾個小時，葉片中澱粉立刻消耗殆盡。這讓我們相當好奇，校園中有哪些植物適合用來進行光合作用實驗？有沒有簡便的方法可以檢測葉片中的澱粉含量？不同植物葉片澱粉的累積與消耗速率為何？

碘液中碘離子能夠與澱粉分子反應形成錯合物，與直鏈澱粉反應的結果呈藍黑色，與支鏈澱粉反應的結果呈紅紫色(王等，2007)，此方法可測定葉片中有無澱粉，但無法進行定量。於是我們搜尋相關的文獻，在前人對澱粉定量的研究中(周等，2008)，需以分光光度計或沉澱法檢測無雜質之澱粉液的定量方法，能檢測的澱粉液濃度範圍相當有限，若欲用上述方法實測葉片內澱粉含量，則難以操作。

我們嘗試發展出能在國中實驗室中，即可進行之葉片澱粉半定量分析法，並建立此檢測方法之標準操作程序。接著找出校園中適合實驗的植物，以我們發展出的澱粉半定量分析法，進行植物葉片澱粉代謝效率的實測，以驗證其可用性。

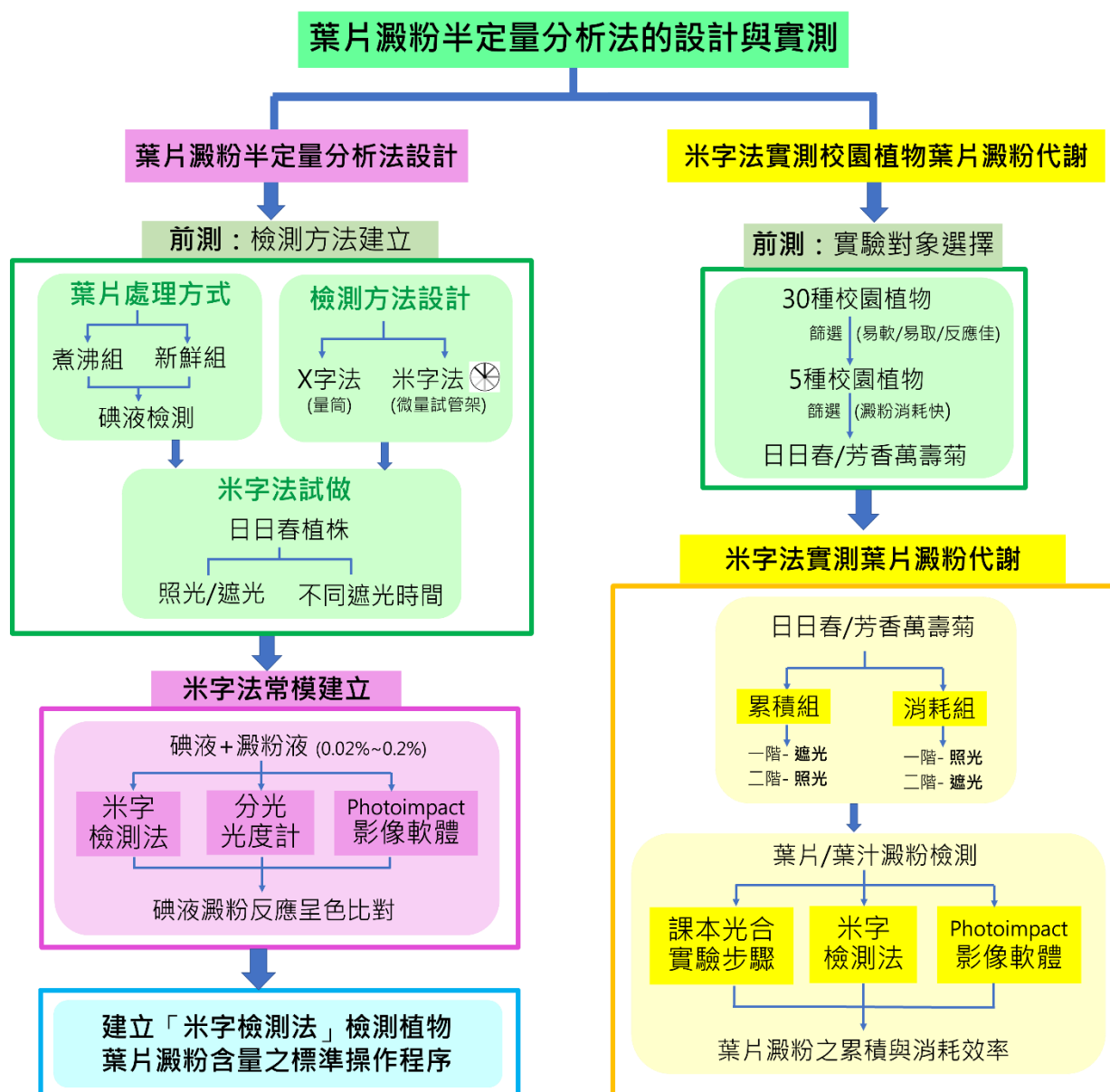


圖(一)、光合作用實驗流程(引用自國中生物課本)

貳、研究目的

- 一、找出能將植物葉片中澱粉進行半定量分析的方法
- 二、建立「米字檢測法」檢測植物葉片澱粉含量之標準操作程序
- 三、以米字檢測法實測校園植物葉片澱粉的代謝

研究架構



參、研究設備及器材

日日春 (*Catharanthus roseus*)、芳香萬壽菊 (*Tagetes lemmonii*)、LED 植物燈、加熱器、水、微量滴管、研鉢與杵、鋁箔紙、剪刀、隔板、碘液(0.1N)、花盆、量筒、燒杯、試管、玻棒、培養皿、微量試管架、投影片、解剖刀、鑷子、膠帶、紙箱、酒精、角鋼、米字檢測器材、手機、微量研磨器、分光光度計(型號 Metertek SP-830)。

肆、研究過程或方法

一、找出能將植物葉片中澱粉進行半定量分析的方法：

(一)前測：

1. 葉片處理方式：

首先我們想測試能否磨碎葉片後，直接滴加碘液測試葉肉細胞中所含的澱粉量，因此分為以下兩組實驗方式：

(1)將兩片新鮮的彩葉草葉片進行秤重，分為煮沸組與新鮮組。

(2)煮沸組葉片進行標準光合作用實驗程序，先煮沸軟化、酒精溶出葉綠素，加入與葉片等重的清水後，以研鉢搗碎備用；新鮮組葉片不經處理直接加入與葉片等重的清水後以研鉢搗碎。

(3)抽取兩組之搗碎葉片汁液，分為原液、5 倍稀釋、25 倍稀釋後，滴在玻片上以碘液檢測澱粉反應。

2. 檢測方法設計：

(1)X 字檢測法—量筒檢測：

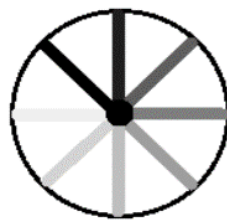
- ①將日日春葉片進行煮沸軟化、酒精溶出葉綠素等標準光合作用實驗流程後，將葉片加入不同比例之清水以研鉢搗碎，製備出 25 倍稀釋、125 倍稀釋的葉汁。
- ②在一張白紙上畫上由兩條不同粗細線條組成之 X，將量筒置於 X 上，如圖(二)。
- ③在量筒中加入定量之碘液後，逐量加入不同稀釋程度的葉汁，觀察 X 被遮住所需之葉汁量，以推測葉汁所含的澱粉量。

(2)米字檢測法—米字圖加微量試管架：

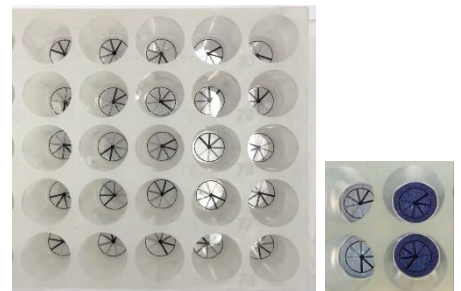
- ①在投影片上印上由八條深淺不同的線條組成的米字，如圖(三)。
- ②剪下米字圖形，放入微量滴管架孔洞底部，製作「米字檢測裝置」，如圖(四)。
- ③在米字檢測裝置加入適量的葉汁與碘液，觀察米字被遮住的情形以檢測澱粉含量，如圖(四)。



圖(二)、X 字檢測法



圖(三)、米字圖形之不同深淺線條



圖(四)、米字檢測裝置(左)，與澱粉檢測結果(右)

④我們以「遮蔽率」定義米字被遮住的情形，遮蔽率越高，表示葉汁中的澱粉含量越高，如表(一)。

表(一)

米字圖形被遮蔽之情形與遮蔽率

米字遮蔽情形									
遮蔽率	0	1	2	3	4	5	6	7	8

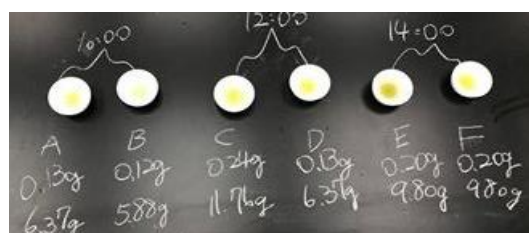
3. 米字檢測法試做：

(1) 檢測遮光與照光之日日春葉片：

- ① 取健康日日春植株，將部分葉片以鋁箔包住遮光三天；其餘葉片正常照光。
- ② 摘取遮光、照光葉片各兩片，分別進行煮沸軟化、酒精溶出葉綠素等標準光合作用實驗流程。
- ③ 加入葉片重 49 倍之清水，並以研鉢搗碎葉片，製成 50 倍稀釋的葉汁。
- ④ 使用米字檢測法，於微量試管架孔洞中加入不同量的稀釋 50 倍葉汁，再分別加入 $30\ \mu\text{l}$ 與 $60\ \mu\text{l}$ 之碘液，檢測日日春葉片照光組與遮光組的澱粉含量差異。

(2) 檢測不同遮光時間之日日春葉片：

- ① 將充足照光之日日春植株改置於陰暗環境中，每隔兩小時摘取兩片葉片進行檢測。
- ② 將葉片分別進行煮沸軟化、酒精溶出葉綠素等標準光合作用實驗流程。
- ③ 加入葉片重 49 倍之清水，並以研鉢搗碎，製成 50 倍稀釋的葉汁，如圖(五)。
- ④ 以米字檢測法，進行葉片之澱粉含量檢測。



圖(五)、製備不同遮光時間葉片之葉汁

(二) 建立「澱粉濃度—米字遮蔽率常模」：

1. 製備不同濃度之澱粉液：

- (1) 參考文獻中國立嘉義大學農學研究所之方法（周等，2008），製備 0.5N 的氫氧化鈉水溶液，與 95% 酒精以 9：1 的比例配置溶解澱粉之溶劑。
- (2) 於上述溶劑中加入不同量的澱粉，加熱攪拌 10 分鐘待澱粉溶解後以醋酸中和，補水至設定值，製備 0.02%~0.2% 等不同濃度的澱粉水溶液，各 100ml 備用。

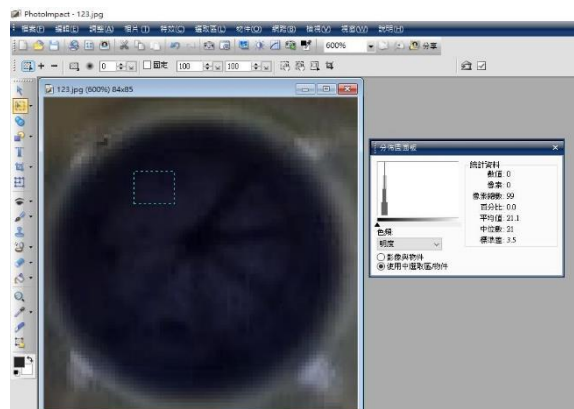
2. 「澱粉濃度—米字遮蔽率常模」建立：

- (1) 取不同濃度的澱粉液 $100\ \mu\text{l}$ ，裝入米字檢測裝置中，補水後加入 $40\ \mu\text{l}$ 碘液，使總反應體積為 $400\ \mu\text{l}$ ，重複實驗三次；檢測各濃度澱粉液的米字遮蔽率，並照相。

(2)將米字遮蔽率比對澱粉液濃度，建立「澱粉濃度—米字遮蔽率常模」。

3. 影像軟體分析：

- (1)將「澱粉濃度—米字遮蔽率常模」照片，每圖取五區，用 photoimpact 軟體讀取明度值。
- (2)將明度值換算為「明暗度」，並統計數據。(我們定義「明暗度」：明度值上限 255，減去明度值)



圖(六)、photoimpact 分析澱粉碘液反應明度

4. 分光光度計：

- (1)取不同濃度澱粉液各 2.5 ml，加 1 ml 碘液及 6.5 ml 水，放進分光光度計的比色皿。
- (2)以分光光度計讀取澱粉液於波長 610 nm 之吸光值；每種濃度重複測量五次。

二、建立檢測植物葉片澱粉含量之米字檢測標準操作程序 (SOP)：

1. 重複試做以「米字檢測法」檢測植物葉片澱粉含量的過程，討論並篩選出最必要、最適用之器材，並將之列出。
2. 以篩選出之器材為基礎，針對米字檢測法的步驟，逐項確認其最簡便操作方法、定出最理想的先後流程順序。
3. 以精簡易懂文字，寫出標準操作程序的初稿。
4. 再次實作確認其便利性，並依據發現狀況進行討論。
5. 依據討論結果修正初稿，完成檢測植物葉片澱粉含量之米字檢測標準操作程序。

三、以米字檢測法實測校園植物葉片澱粉的代謝：

(一)前測：

1. 校園植物之光合實驗廣測：

- (1)於日照良好的晴天下午，採集各種校園植物的新鮮葉片。
- (2)依照課本標準光合作用實驗流程，經煮沸軟化、酒精溶出葉綠素，熱水漂洗後，以碘液測定葉片中澱粉。
- (3)記錄並分析不同植物葉片之光合作用實驗結果。

2. 五種校園植物之光合作用實驗測試：

本實驗根據前項校園植物光合作用實驗廣測之結果，選出五種易摘取、易軟化、光合作用效果明顯之植物進行進一步測試。將五種植物之部分葉片遮光處理，觀察數小時內葉片澱粉的消耗情形，期能選出澱粉代謝迅速的植物進行後續實驗。

- (1) 在晴天的早上 7 點，選擇五種植物的健康植株，以鋁箔包覆多片葉片，進行遮光。
- (2) 每隔 2 小時，各植物分別摘一片遮光葉片、一片照光葉片。摘取葉片時，盡量選擇成熟度、生長部位、葉片大小皆相近的葉片，以減少實驗誤差。
- (3) 將摘取之葉片進行光合作用實驗，滴加碘液檢測澱粉。

(二)以米字檢測法實測日日春與芳香萬壽菊澱粉含量的變化

我們想了解米字檢測法是否適用於檢測不同種植物之葉片澱粉含量變化，設計將前測所選出的日日春與芳香萬壽菊置於人為控制之光照環境中，並以米字檢測法觀察葉片中澱粉含量。實驗設計中，我們將植株分為澱粉消耗組與澱粉累積組，並比較日日春與芳香萬壽菊於實驗過程中葉片澱粉含量的差異。

1. 澱粉消耗組：

- (1) 第一階段(照光)：取兩盆植株消耗組置於 LED 植物燈管下持續照光，使葉片累積澱粉，如圖(七)。每天摘取生長狀況相近的葉片四片，進行葉片澱粉檢測與米字法檢測，至葉片中累積大量澱粉為止。
- (2) 第二階段(遮光)：將已累積大量澱粉的植株移至暗箱中進行澱粉消耗，如圖(八)。每天摘取生長狀況相近的葉片四片，進行葉片澱粉檢測與米字法檢測，至葉片中澱粉消耗完全為止。

2. 澱粉累積組：

- (1) 第一階段(遮光)：取兩盆植株消耗組置於暗箱中進行澱粉消耗，每天摘取生長狀況相近的葉片，進行澱粉檢測與米字法檢測，至葉片中澱粉完全消耗殆盡為止。
- (2) 第二階段(照光)：將澱粉消耗完全的植株移至 LED 植物燈管下照光，進行澱粉累積，每天摘取摘取生長狀況相近的葉片，進行澱粉檢測與米字法檢測。



圖(七)、日日春照光



圖(八)、日日春遮光

3. 葉片澱粉檢測與米字檢測：

每次摘取的四片葉片，其中兩片以標準光合作用實驗流程處理，進行整片葉片澱粉檢測；另外兩片則以下列方式製備葉汁進行米字法檢測與影像軟體分析。

- (1) 將欲檢測之葉片秤重後，經煮沸軟化、去葉綠素等流程後，置入微量研磨器(如圖(九))中。
- (2) 加入葉片 9 倍重的水研磨，製作 10 倍稀釋的葉汁。
- (3) 取部分 10 倍稀釋葉汁，加水配置出 50 倍稀釋葉汁。
- (4) 取上述兩種稀釋濃度之葉汁 $100\ \mu\text{l}$ 加入裝有米字檢測裝置中，補水後加入 $40\ \mu\text{l}$ 碘液，使總反應體積為 $400\ \mu\text{l}$ 。
- (5) 每組重複實驗三次，觀察溶液對米字片的遮蔽率，並照相記錄。
- (6) 將上述結果照片，每張取三區以 photoimpact 軟體檢測明度值並統計分析。



圖(九)、微量研磨器

伍、研究結果與討論

一、找出能將植物葉片中澱粉進行半定量分析的方法：













(一) 前測：

1. 能否直接搗碎葉片進行澱粉含量觀察：

- (1) 實驗結果表(二)，新鮮組未經煮沸即磨碎的葉片，無法直接滴加碘液檢測葉肉細胞中的澱粉含量。
- (2) 煮沸組葉片經煮沸、去除葉綠素等標準光合作用實驗流程之葉片，磨碎後滴加碘液可呈現明顯的澱粉反應；葉汁越濃，澱粉碘液反應越明顯。
- (3) 根據此前測結果，往後葉片澱粉之檢測實驗，皆需將葉片經光合作用標準實驗流程處理後，再磨碎滴加碘液以測定澱粉。

表(二)

新鮮葉片與煮沸處理葉片之碘液測試澱粉結果

葉汁稀釋倍率	新鮮組			煮沸組		
	1 倍	5 倍	25 倍	1 倍	5 倍	25 倍
未加碘液						
加碘液後						

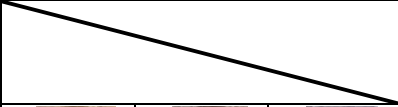










2. 檢測方法設計：

(1) X 字檢測法—量筒檢測：

- ① 實驗結果如表(三)，以 125 倍稀釋葉汁進行反應，即使葉汁量達 $300 \mu\text{l}$ ，加入碘液後之澱粉反應，皆無法遮住量筒底部 X 字。
- ② 以 25 倍稀釋葉汁進行反應，葉汁量 $100 \mu\text{l}$ 時，X 字清晰可見；當葉汁量 $300 \mu\text{l}$ 時，X 字幾乎被遮蔽；可知此方法可用於檢測葉汁中的澱粉含量。
- ③ 由於量筒底面積大且葉汁量小，葉汁易積在周圍，難以觀察，所以決定改用管徑小且底部平坦的微量試管架進行實驗，也就是我們發展出的「米字檢測裝置」。

表(三)、

以 X 字檢測法進行葉汁之澱粉碘液反應

葉汁稀釋倍數	25 倍稀釋葉汁			125 倍稀釋葉汁	
	100	200	300	300	
碘液量(μl)	10				
	20				
	50				
	100				

3. 米字檢測法試做：

(1) 檢測遮光與照光之日日春葉片：

- ① 實驗結果如表(四)，當遮光組葉汁量為 $100\ \mu\text{l}$ ~ $300\ \mu\text{l}$ 間，加入碘液後，米字均明顯可見，遮蔽率為 0。
- ② 照光組葉汁加入碘液後，因葉汁中含有光合作用產生之澱粉，隨著葉汁量逐漸增加，米字圖形的遮蔽率也逐漸提升；可知米字檢測法可對葉汁中澱粉進行簡單的量化推估。

表(四)
照光與遮光葉片之葉汁澱粉碘液反應比較

碘液量	遮光組				照光組			
	$30\ \mu\text{l}$		$60\ \mu\text{l}$		$30\ \mu\text{l}$		$60\ \mu\text{l}$	
$100\ \mu\text{l}$ 葉汁								
$150\ \mu\text{l}$ 葉汁								
$200\ \mu\text{l}$ 葉汁								
$250\ \mu\text{l}$ 葉汁								
$300\ \mu\text{l}$ 葉汁								

- ③ 在遮光組與照光組，葉汁在加入 $30\ \mu\text{l}$ 碘液與 $60\ \mu\text{l}$ 碘液時，皆呈現相似的遮蔽率。可知只要給予足夠反應之碘液量，更多的碘液不會增加米字遮蔽率。根據上述結果，往後的葉汁澱粉米字檢測，皆取占總反應容積十分之一的碘液進行反應。

(2) 檢測不同遮光時間之日日春葉片：

- ① 實驗結果如表(五)，隨著加入的葉汁量逐漸增加，米字檢測的遮蔽率也逐漸增加。
- ② 隨著遮光處理的時間越長，葉汁經米字檢測之遮蔽率也越低。可知葉片置於陰暗處時，日日春葉片中澱粉逐漸被消耗，且可用米字檢測法驗證。

表(五)
不同陰暗處理時間之日日春葉片之米字檢測澱粉反應

遮光時間	2 小時		4 小時		6 小時	
$100\ \mu\text{l}$ 葉汁						
$150\ \mu\text{l}$ 葉汁						
$200\ \mu\text{l}$ 葉汁						
$250\ \mu\text{l}$ 葉汁						
$300\ \mu\text{l}$ 葉汁						

(二) 建立「澱粉濃度—米字遮蔽率常模」：

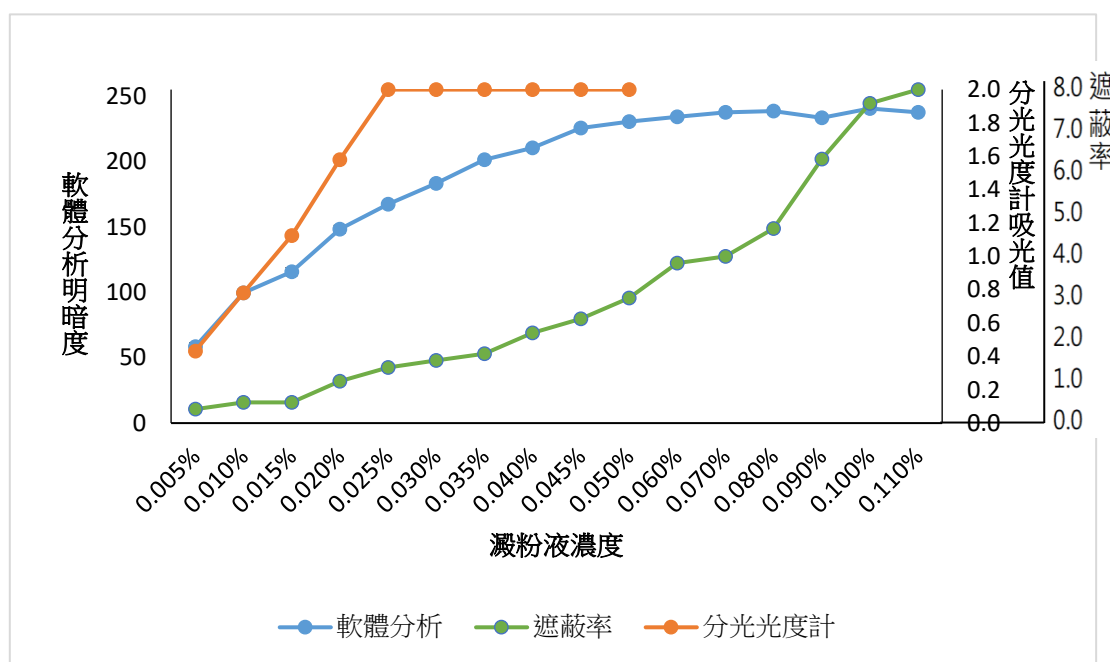
1. 各濃度澱粉液加入碘液反應後，以米字法、photoimpact 軟體分析、分光光度計所呈現的檢測結果，整理於表(六)，並將上述數據整合結果如圖(十)。
2. 三種澱粉檢測結果比較：
 - (1) 分光光度計：可檢測澱粉液濃度區間為 0 % ~ 0.025 %，高於此濃度則無法檢測。
 - (2) 軟體明暗度分析：此方法可檢測澱粉液濃度的較佳區間為 0 % ~ 0.06 %，稍優於分光光度計，如圖(十)藍折線。
 - (3) 米字檢測法：此方法可檢測的澱粉液濃度區間為 0 % ~ 0.11 %，為三種檢測法中可測區間最廣者。隨著澱粉液濃度增加，米字遮蔽率呈現上升趨勢，如圖(十)綠折線。
 - (4) 綜合上述分析，米字檢測法相當適合用於進行澱粉液濃度之半定量分析。

表(六)

米字法、軟體分析、分光光度計比較不同濃度澱粉液之碘液反應：

溶液中澱粉濃度(%)	0.005	0.01	0.015	0.02	0.025	0.03	0.035	0.04	0.045	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10	0.11
米字圖																
遮蔽率	0.33 ±0.17	0.50 ±0.00	0.50 ±0.00	1.00 ±0.00	1.33 ±0.17	1.50 ±0.00	1.67 ±0.17	2.17 ±0.33	2.50 ±0.29	3.00 ±0.00	3.83 ±0.17	4.00 ±0.00	4.67 ±0.17	6.33 ±0.33	7.67 ±0.33	8.00 ±0.00
軟體分析米字明暗度	58.33 ±2.94	99.5 ±2.09	115.76 ±3.08	148.33 ±2.83	167.26 ±1.68	183.13 ±1.78	201.26 ±1.64	210.43 ±0.58	225.66 ±1.07	230.56 ±1.41	234.23 ±1.07	237.56 ±0.32	238.63 ±0.30	233.46 ±0.60	240.53 ±0.70	237.53 ±0.33
分光光度計吸光值	0.432± 0.002	0.780± 0.006	1.125± 0.006	1.580± 0.002	2.00± 0.00	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得	無法 測得

(說明：表中框線內為該方法檢測效果較佳之澱粉液濃度區間)



圖(十)、各濃度澱粉液之米字、軟體、分光光度計檢測結果比較

討論：

1. 三種澱粉檢測方法比較：

- (1) 分光光度計：分光光度計能精確檢測澱粉液之吸光值，數據適用於統計分析，但於我們檢測之澱粉濃度區間為三種方法中最窄，且此儀器非一般中學實驗室常備儀器，使用門檻高。
- (2) 軟體明暗度分析：此方法可產生精確數據，適用於統計分析；但操作上需先照相，再輔以電腦軟體操作，使用上較為不便。此外，樣本需先照相才能分析，而不同廠牌手機設定或相機自動白平衡效果，都會影響明度值判讀。
- (3) 米字檢測法：此方法所需器材簡便成本低、操作快速，肉眼即可判讀數據；非常適合運用於一般中學實驗室。

2. 綜合上述分析，在進行澱粉液濃度之半定量分析時，米字法無論就成本、操作便利性、澱粉液濃度鑑別範圍而言，都優於分光光度計或軟體分析。

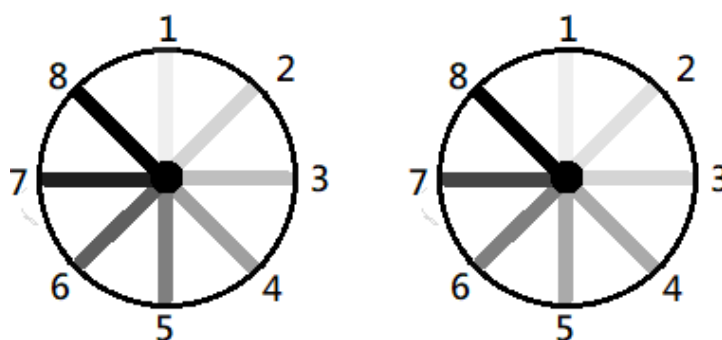
3. 米字圖的改良：

- (1) 由圖(十)的各濃度澱粉液對照米字遮蔽率圖，我們發現兩者間未呈現直接的線性關係，如下表(七)之第一代米字圖數據。
- (2) 為了讓使用者在操作與換算時更為便利，我們參照各濃度澱粉液與碘液錯合物之色澤，將第一代米字圖各線段深淺略做調整，製作第二代米字圖，使米字遮蔽率能對照到特定澱粉液濃度，如圖(十一)。

表(七)

第一代與第二代米字圖所對應之澱粉液濃度常模

遮蔽率	1	2	3	4	5	6	7	8
第一代米字圖	0.02%	0.035~0.040%	0.05%	0.07%	0.08~0.09%		0.09~0.10%	>0.11%
第二代米字圖	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.06%	0.08%	0.10%	>0.11%



圖(十一)、第一代米字圖(左)，以及第二代米字圖(右)

二、建立檢測植物葉片澱粉含量之米字檢測標準操作程序 (SOP) 如下：

根據澱粉液米字常模，建立出下列檢測植物葉片澱粉含量之標準操作程序。

1. 器材：電子秤、微量離心管架、米字圖、研鉢或微量研磨器、水、碘液、微量滴管。
2. 「米字檢測 SOP」：

- (1) 將欲檢測之葉片秤重後，進行沸水軟化、酒精隔水加熱、熱水漂洗等標準程序。
- (2) 將葉片裝入微量離心管中，逐量加入 9 倍葉重之清水，並以微量研磨器研充分研磨，製備 10 倍稀釋葉汁。
- (3) 取部分 10 倍稀釋葉汁，加水配置出 50 倍稀釋葉汁。
- (4) 取稀釋後之葉汁 100 μ l 加入裝有米字片的微量試管架中，補水後加入 40 μ l 碘液，使總反應體積為 400 μ l。
- (5) 將米字檢測裝置由下方投以固定亮度，觀察米字片之遮蔽率。對照表(八)之葉片澱粉含量米字對照常模，即可得知葉片中的澱粉含量。

表(八)
葉片澱粉含量米字對照常模 (使用第二代米字圖)

米字圖 遮蔽情形										
遮蔽率		0	1	2	3	4	5	6	7	8
葉片中 澱粉含量	10 倍 稀釋	< 0.8 %	0.8 %	1.2 %	1.6 %	2.0 %	2.4 %	3.2 %	4.0 %	> 4.0 %
	50 倍 稀釋	< 4 %	4.0 %	6.0 %	8.0 %	10 %	12 %	16 %	20 %	> 20 %

討論：

1. 以米字檢測 SOP 進行葉片澱粉量檢測，器材簡便操作快速，仍有部分限制條件：
 - (1) 因需精準量測反應溶液體積，需使用微量滴管，此非國中常見實驗器材。
 - (2) 葉片在研磨後，偶有纖維影響溶液透明度，會干擾米字遮蔽率；建議將葉汁充分稀釋研磨後，可先以雙層紗布過濾，再進行米字遮蔽率觀察。
2. 米字檢測 SOP 的設計，適用於檢測重量 0.03 克以上的葉片。若葉片過輕過小，除了在秤重與稀釋過程中容易造成誤差，所得到的葉汁量也可能不足。
3. 對照文獻提過的各種澱粉半定量分析法（周等，2008）：分光光度計檢測、錯合物沉澱法，檢測溶液樣本皆須數毫升以上；米字檢測 SOP 應該是能以最微量的樣本，進行澱粉半定量分析的方法。
4. 根據我們後續實驗的實測結果，一般照光情況下之葉片澱粉含量檢測，使用 10 倍稀釋葉汁即可以米字遮蔽率推估葉片中澱粉含量。

三、以米字檢測法實測校園植物葉片澱粉的代謝

(一) 前測：實驗對象選擇

1. 選取 30 種校園植物，進行光合作用實驗流程，觀察碘液澱粉反應情形 (附錄一)。
2. 挑選出易摘取、易操作、光合反應佳的五種植物，分別為：日日春、芳香萬壽菊、甜菊、荷蘭薄荷、野小毛蕨，進行光合作用實驗。
3. 比對五種植物之澱粉消耗實驗測試結果 (附錄二)，發現日日春與芳香萬壽菊在照光數小時內，即可快速累積葉片中澱粉。
4. 我們決定以日日春與芳香萬壽菊，作為米字檢測法實測對象。

(二) 以米字檢測法實測日日春與芳香萬壽菊澱粉含量的變化

1. 澱粉累積組：實驗結果照片如表(九)，並將統計數據製成圖(十二)。

表(九)

澱粉累積組之米字法實測結果 (每組均重複 2~3 次，僅展示一組照片)

實驗階段		第一階段(遮光)						第二階段(照光)					
實驗時間(hr)		0	24	48	72	96	120(0)	24	48	72	96	120	144
日日春	課本光合實驗步驟												
	10 倍稀釋米字												
	50 倍稀釋米字												
芳香萬壽菊	課本光合實驗步驟												
	10 倍稀釋米字												
	50 倍稀釋米字												

(1) 日日春：

- ① 第一階段遮光處理：以課本光合步驟、10 倍米字稀釋，均可發現植株葉片中澱粉在 24 小時內即消耗完畢，如表(九)綠箭頭處。
- ② 第二階段照光處理：以米字法觀察 10 倍稀釋葉汁遮蔽率，可發現葉片中澱粉量隨照光時間而上升，如圖(十二)(a)之綠折線。
- ③ 日日春在第二階照光超過 72 小時後，10 倍葉汁米字遮蔽率高於最大值 8；此時以米字法檢測 50 倍稀釋葉汁，即可分辨出在照光 24、48、72、96、120 小時各組均呈現不同之遮蔽率，如附錄(三)之綠折線。

(2) 芳香萬壽菊：

- ① 第一階段遮光處理：以課本光合步驟、10 倍米字稀釋，均可發現植株葉片中澱粉在第 24 小時已明顯降低，如表(九)橘箭頭處。
- ② 第二階段照光處理：以米字法觀察 10 倍稀釋葉汁遮蔽率，可發現葉片中澱粉量於照光 48 小時達到最高，若繼續照光則會略為下降，如圖(十二)(a)之橘折線。

2. 澱粉消耗組：實驗結果照片如表(十)，並將統計數據製成圖(十三)。

表(十) 澱粉消耗組之米字法實測結果 (每組均重複 2~3 次，僅展示一組照片)

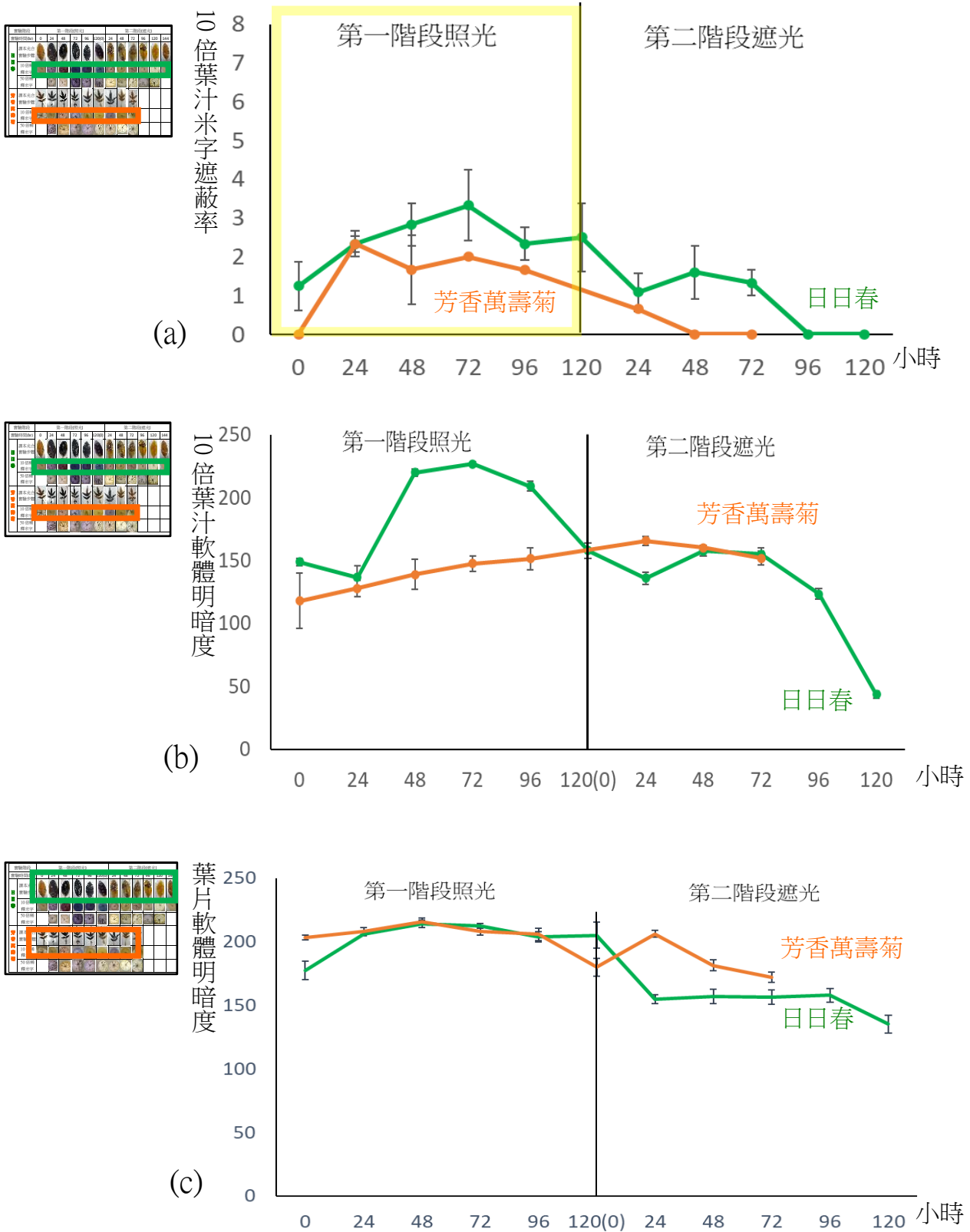
實驗階段		第一階段(照光)						第二階段(遮光)					
實驗時間(hr)		0	24	48	72	96	120(0)	24	48	72	96	120	144
日日春	課本光合實驗步驟												
	10 倍稀釋米字												
	50 倍稀釋米字												
芳香萬壽菊	課本光合實驗步驟												
	10 倍稀釋米字												
	50 倍稀釋米字												

(1) 日日春：

- ① 第一階段照光處理：課本光合步驟檢測，發現照光 24~96 小時均整葉呈黑褐色，無法區別各組澱粉量，如表(十)綠框。以 10 倍米字稀釋法，則可區別照光 0~72 小時，米字遮蔽率逐漸增加，第 72 小時遮蔽率 3.3 達最高，如圖(十三)(a)綠折線。
- ② 第二階段遮光處理：由 10 倍米字稀釋檢測發現在遮光 24~72 小時，遮蔽率降為 1.08~1.6 之間，第 96 小時之遮蔽率為 0，如圖(十三)(a)之綠折線。

(2) 芳香萬壽菊：

- ① 第一階段照光處理：課本光合步驟法檢測，葉片在照光 24 小時後均整葉呈黑褐色，無法區別各組澱粉量多寡，如表(十)橘框處；在 10 倍米字稀釋法，在照光 24、48、72 小時遮蔽率為 1.6~2.3 之間，如圖(十三)(a)橘折線。
- ② 第二階段遮光處理：以課本光合步驟法、10 倍米字稀釋法，可發現植株葉片中澱粉在遮光 24 小時尚有澱粉殘留，遮光 48 小時內澱粉即消耗完畢。



圖(十三)、消耗組之澱粉碘液反應：(a)葉汁米字遮蔽率，(b)葉汁明暗度，(c)葉片明暗度
(左上為表(十)縮圖，顯示數據來源)

討論：

1. 檢測法比較：

- (1) 課本光合實驗步驟法：可快速檢測葉片是否含有澱粉，但無法估計澱粉含量。如表(九)、表(十)綠框處，日日春照光後各組均整葉呈黑色，無法區別各組澱粉量多寡，亦無法根據碘液反應呈色辨別澱粉形式。
- (2) 軟體分析葉片明暗度：將課本光合實驗步驟之葉片照片以 photoimpact 檢測明暗度，此方法雖能取得數據進行統計分析，但鑑別效果有限。如圖(十二)(c)，第二階段照光處理時，甚至無法區別日日春與芳香萬壽菊之葉片澱粉含量。
- (3) 10 倍稀釋葉汁米字檢測法：直接觀察葉汁之米字遮蔽率，即可取得簡單數據進行分析，且鑑別葉片澱粉含量效果良好，如圖(十二)(a)、圖(十三)(a)。觀察過程中亦可根據碘液反應呈色，判斷澱粉為直鏈或支鏈澱粉。
- (4) 軟體分析 10 倍稀釋葉汁：若將米字檢測照片以軟體分析明暗度，亦可鑑別葉汁中澱粉含量不同，如圖(十二)(b)、圖(十三)(b)。此判別結果與米字遮蔽率差異不大，且操作過程需照相並使用電腦分析，除了程序繁複，照相時相機內建的白平衡亦會影響數據結果，相較於直接觀察米字遮蔽率，無疑是多此一舉。

(5) 其他操作內容：

- ① 當葉片中澱粉含量極低時，若以課本中整片葉片滴加碘液的檢測法無法測出澱粉，但以米字檢測法卻可測得澱粉存在。推測課本之葉片檢測法，會因為葉片本身組織緊密影響碘液穿透；而米字檢測法充分破壞葉肉組織，更能測得細胞中的澱粉。
- ② 相較於日日春，芳香萬壽菊葉汁有較多無法磨碎的纖維殘渣，會影響米字檢測的遮蔽率；若將葉汁稀釋研磨後先以雙層紗布過濾，再進行米字遮蔽率觀察可改善此問題。惟本實驗採取單片葉片一一檢測，每片葉片僅 0.5~1.0 克，研磨後葉汁量有限，過濾後葉汁量可能不足，故並未過濾處理。

2. 日日春與芳香萬壽菊之澱粉累積與消耗比較：

(1) 不同物種的影響：

- ① 由圖(十二)(a)與圖(十三)(a)之黃框處，兩種植物開始持續照光，日日春葉片中累積澱粉的速度較芳香萬壽菊為快，且澱粉量明顯較多。
- ② 葉片中澱粉含量並不能直接反映植物光合作用的效果，需考慮植物將光合產物以不同形式儲存到莖或根中，或呼吸作用等代謝作用也會影響葉片澱粉含量。我們進一步以葉錠實驗檢測兩種植物的光合作用效率，發現日日春的光合作用效率較芳香萬壽菊為高(附錄四)。此葉錠檢測結果顯示，日日春與芳香萬壽菊葉片的光合作用效

率，與葉片中澱粉含量呈正相關。

③圖(十二)(a)之黃框處，日日春葉片澱粉含量隨照光時間而累積，照光超過 72 小時仍維持葉片中高度澱粉含量；芳香萬壽菊若照光超過 48 小時，葉片中澱粉量反而開始下降。根據文獻顯示兩種植物皆適合生長在日光充足的環境(附錄五)，但缺乏日夜週期的連續光照，也許會干擾葉片儲存澱粉的過程，且此干擾對芳香萬壽菊的影響較大。

(2) 缺光逆境的影響：

①同樣是持續 24 小時照光，日日春在累積組第二階段的澱粉累積情況，遠高於消耗組第一階段，如圖(十二)(a)與圖(十三)(a)之黃框處。其中日日春累積組先經第一階段長期遮光，再開始持續照光環境；而消耗組的一階實驗是讓日日春由自然光源進入持續照光環境。比較兩者實驗歷程，植株似乎需先經過長期缺光的「飢餓」過程，隨後照光過程才會更積極的「製造與儲存」，這令我們感到好奇，也有待進一步探討

(3) 氣溫因子的影響：

①我們於寒假初次進行澱粉累積消耗實驗，當時發現芳香萬壽菊的澱粉消耗與累積速率均較日日春快(附錄六)；但此次於五月重做實驗，發現芳香萬壽菊不但澱粉累積速度較日日春慢，澱粉累積量也遠不如日日春。

②探討兩次實驗過程的差異：植株皆購自相同店家，植株大小、生長狀態相近、摘取實驗葉片的方式與處理步驟也相同。由於實驗過程是將盆栽在實驗室中，人為控制 led 植物燈決定光照時間，排除上述各影響因子，我們推論「氣溫」是造成兩次實驗結果差異的主，且此干擾現象在芳香萬壽菊較日日春明顯。

(4) 根據此次校園植物的澱粉代謝實驗，日日春具有便宜、易栽種、繁殖迅速的特點，且照光 24 小時後即可累積大量澱粉，遮光 24 小時內也可消耗大量澱粉，相當適合作為課本光合作用活動的實驗材料。

3. 葉片中澱粉形式的改變：

(1) 以米字法檢測遮蔽率的同時，我們也發現了一個有趣的現象。日日春與芳香萬壽菊在持續照光 48 小時，葉汁碘液反應多呈現紫紅色，而照光達 72 小時的葉汁碘液反應轉為藍黑色，如表(九)、表(十)的紅色箭頭所指處；推測植株在連續照光 48~72 小時後，葉片中澱粉由支鏈澱粉轉變為直鏈澱粉，這現象的原理亦值得往後進一步探究。

陸、結論

- 一、有鑑於課本光合實驗無法對葉片澱粉進行定量，我們設計出「米字檢測法」，以國中實驗室基本設備即可進行澱粉半定量分析。
- 二、以「米字檢測 SOP」可實測葉片澱粉含量，並具有便宜簡便、檢測濃度範圍大、可鑑別澱粉形式等優點。
- 三、以米字檢測法實測日日春與芳香萬壽菊葉片澱粉的代謝，我們確認此法可以應用於探測植物澱粉含量的變化。
- 四、依據米字檢測法實測日日春與芳香萬壽菊葉片澱粉代謝的數據，我們發現許多值得進一步探究的現象：
 - (一) 照光時葉片中澱粉累積效率：日日春優於芳香萬壽菊。
 - (二) 「氣溫」會干擾葉片澱粉的累積效率，且此現象在芳香萬壽菊較日日春明顯。
 - (三) 先經長期「缺光逆境」過程的植株，於進入持續照光環境後其葉片的澱粉累積速率，會較從自然環境進入持續照光的植株迅速。
- 五、日日春光合效率佳、葉片累積澱粉迅速且易栽種，為校園植物中極佳的生物課光合作用實驗對象。
















柒、展望

- 一、增進米字檢測法的可信度及應用廣度：
 - (一) 以更多樣的澱粉濃度溶液進行檢測，增加米字檢測法常模的精密度。
 - (二) 嘗試將澱粉分類進行測試，建立不同類群澱粉濃度—米字遮蔽率之常模；對照不同植物澱粉類群的資料，使米字檢測法在探究上的運用範圍更廣更深入。
- 二、針對實測的初步結果所延伸出的值得探究的問題，提出假說及驗證實驗計畫：
 - (一) 照光時葉片中澱粉累積效率：日日春優於芳香萬壽菊，其生存策略上的機制為何？
 - (二) 「氣溫」對植株葉片澱粉累積效率的詳細干擾情形如何？在不同類群植物發生的狀況有何不同？對植物的生存有哪些影響？干擾的機制為何？
 - (三) 先經長期「缺光逆境」過程，植株於照光後會加速葉片的澱粉累積效率。
- 三、提供資料給國中光合作用實驗課程設計，在簡便有效率的檢測方法下，讓老師引導學生獲得更多自主探究與實作的學習機會—例如自行設計實驗驗證、解決實驗中遇到的問題……等。

捌、參考資料及其他

- 一、姜佳同、林志騰、莊智皓(2017)。精彩·好驚『彩』! ---有趣的彩葉草澱粉反應研究
https://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/57/pdf/030307.pdf?fbclid=IwAR3s9VCW9B4950PUhg59EaAbl7hmbCOI1M96QN9_VgSWxhYGDDKvNRoR3Fw
- 二、周芳瑜、江庭瑩、卜嘉榕、何毓倫(2008)。碘液調色盤--直鏈澱粉定量方法之改良
<https://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/48/technical/091101.pdf>
- 三、劉祥霖(2009)。水稻種子發芽及幼苗期胚中澱粉累積及蔗糖轉運之研究
<http://www.airtilibrary.com/Publication/alDetailedMesh1?DocID=U0001-1708200918175700>
- 四、張秉茜、顏韶緯(2010)。交錯的深淺色彩—遮光對光合作用產物儲存位置之影響
<https://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/50/pdf/030310.pdf?fbclid=IwAR0Tnf0BN9fZf62HrHrgBWoxJU08xNTqQe8sis4EMr8gUtfmdK0VbRYMfQM>
- 五、王暉崙、邱耀慶、郭主歆（2007）解開「澱粉~碘」的藍色密碼
<https://www.ntsec.edu.tw/Science-Content.aspx?a=6821&fld=&key=&isd=1&icop=10&p=1&sid=2250>
- 六、阿簡生物筆記（2011）。用浮沈葉錠測量光合作用和呼吸作用
http://a-chien.blogspot.com/2011/10/blog-post_6314.html

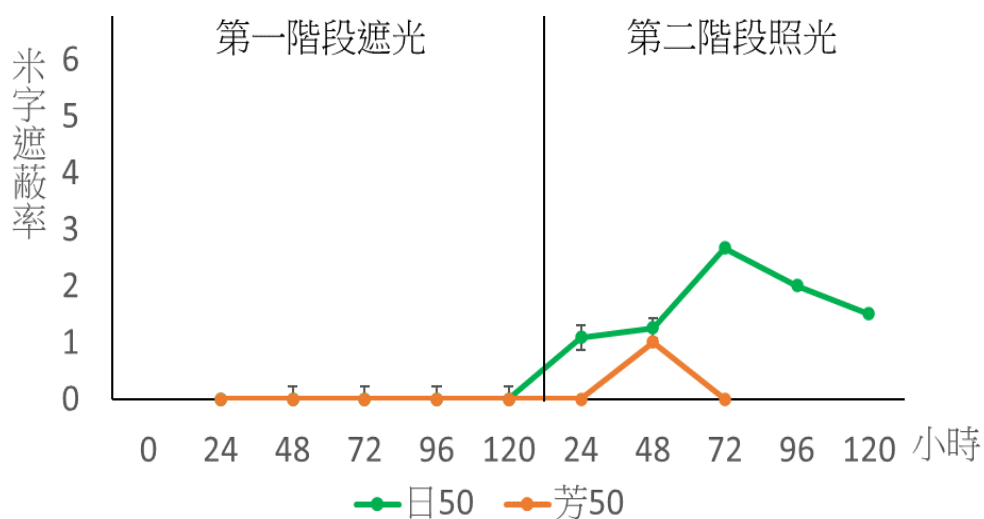
附錄一：校園植物光合作用實驗結果

名稱	長×寬 (cm)	軟化程度 (高分:易軟化)	碘液反應面積	實驗前	實驗後	反應情況
日日春	7×5	3	100%			光合反應佳、易摘
芳香萬壽菊	2.5×1	3	100%			光合反應佳、易摘
彩葉草	8.5×3~5	4	100%			校園中數量較少
金露花		3	25%			
山櫻花	12×6	1	5%			校園中較少，較高
九重葛		3	80%			
鹽膚木	13.5×6	1	10%			葉片太大不易實驗
杜虹	10×5.5	2	50%			葉片較大
竹柏	3.5×1	2	10%			葉片太硬
扶桑	15×5.5	1	90%			葉片太大不易實驗
荷蘭薄荷	2.5×1.5	4	100%			光合反應佳，較軟
波羅蜜	11.5×3.5	2	70%			葉片太大不易實驗
兩耳草	12.5×7	3	100%			葉片較長，不易遮光
馬拉巴栗	8×1.5	1	75%			葉片較大
咖啡	11×5.5	2	0%			葉片顏色太深，無法測澱粉反應
楓香	5.5×7	3	80%			較高不易取得
陰地蕨	5.5×6.5	3	50%			光合反應不明顯
羅勒	2×1.5	3	90%			葉片太軟
黃金榕	7×3	2	0%			光合反應差
枇杷	10.5×4	3	75%			較硬，光合不佳
土人蔘	5.5×3	4	100%			校園中數量少
月菊	2×1	4	90%			太小片，難遮光
台灣欒樹	5×2	2	100%			較高不易取得
野小毛蕨		3	100%			光合反應佳
雙花螞蟥菊	4×2	3	50%			光合反應不佳
甜菊	3×1.5	4	70%			光合反應尚佳
塊根蘆荊草	13×1	2	70%			葉形較長，難遮光
梅		3	90%			反應佳，不易摘

附錄二：五種校園植物之澱粉消耗實驗測試

遮光時間	日日春		芳香萬壽菊		甜菊		荷蘭薄荷		野小毛蕨	
	實驗組	對照組	實驗組	對照組	實驗組	對照組	實驗組	對照組	實驗組	對照組
7:00~ 9:00 (2HR)										
7:00~ 11:00 (4HR)										
7:00~ 13:00 (6HR)										
7:00~ 15:00 (8HR)										
7:00~ 17:00 (10HR)										

附錄三：累積組之 50 倍稀釋葉汁米字遮蔽率



實驗組別	第一階段 (遮光)					第二階段 (照光)				
	0	24	48	72	96	24	48	72	96	120
日日春										
芳香萬壽菊										
甜菊										
荷蘭薄荷										
野小毛蕨										

附錄四：葉錠實驗檢測光合作用與呼吸作用效率

日 1=日日春 1(共 20 錠)，日 2=日日春 2(共 20 錠)

芳 1=芳香萬壽菊 1(共 18 錠)，芳 2=芳香萬壽菊 2(共 19 錠)

(一) 照光組葉錠浮起數

時間	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
日 1	0	0	0	3	5	9	11	14	17	17	17	17	18
日 2	0	4	7	10	15	17	18	19	19	20	20	20	20
芳 1	0	0	0	1	2	4	4	4	4	4	4	4	7
芳 2	0	0	0	0	0	0	2	3	3	7	7	9	9
時間(分)	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	44	46	48
日 1	19	19	19	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
日 2	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
芳 1	8	8	8	8	8	8	10	11	13	13	14	14	14
芳 2	9	9	9	11	11	12	13	13	14	15	15	16	16
時間(分)	50	52	54	56	58	60	62	64	66	68	70	70	72
日 1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
日 2	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
芳 1	14	14	14	14	14	14	15	16	16	16	16	16	16
芳 2	16	16	16	16	16	16	17	17	17	18	18	18	18
時間(分)	74	76	78	80	82	84	86	88	90	92	94	94	96
日 1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
日 2	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
芳 1	17	17	7	7	9	11	12	13	14	15	15	15	15
芳 2	18	18	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
時間(分)	98	100	102	104	106	108	110	112	114	116	118	118	120
日 1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
日 2	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
芳 1	15	15	16	16	16	16	16	17	17	17	17	17	17
芳 2	19	19	19	19	19	19	19	19	19	18	18	18	18

半數葉錠浮起的時間 $ET_{50light}$ ，光合作用的效率取其倒數 $1/ET_{50light}$ ：

日日春 $ET_{50light} = 8.5 \text{ min}$ ，日日春 $1/ET_{50light} = 1/8.5 \text{ min} = 0.117 \text{ min}^{-1}$

芳香萬壽菊 $ET_{50light} = 33 \text{ min}$ ，芳香萬壽菊 $1/ET_{50light} = 1/33 \text{ min} = 0.03 \text{ min}^{-1}$

光合作用效率：日日春 > 芳香萬壽菊

(二).遮光組葉錠下沉數

時間	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
日 1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	4
日 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
芳 1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
芳 2	2	2	3	3	3	3	3	4	5	6	6	6	6
時間(分)	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	46	48	
日 1		4	4	4	4	5	5	6	6	7	7	8	9
日 2		1	1	1	1	1	1	3	3	4	4	6	6
芳 1		2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3
芳 2		6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7
時間(分)	50	52	54	56	58	60	62	64	66	68	70	72	
日 1		9	9	10	10	10	10	13	13				13
日 2		8	9	9	9	9	9	9	11				11
芳 1		3	4	4	4	4	4	5	6				6
芳 2		7	7	7	7	7	7	7	7				10
時間(分)	74	76	78	80	82	84	86	88	90	92	94	96	
日 1					13				14				14
日 2					11				11				11
芳 1					6				6				6
芳 2					14				15				16
時間(分)	98	100	102	104	106	108	110	112	114	116	118	120	
日 1					16				16				17
日 2					11				12				12
芳 1					6				7				7
芳 2					17				17				17

黑暗時半數葉錠下沉的時間為 ET_{50resp} ，呼吸作用的速率取其倒數 $1/ET_{50rep}$ ：

日日春 $ET_{50rep} = 57.5 \text{ min}$ ，日日春 $1/ET_{50rep} = 0.017 \text{ min}^{-1}$

芳香萬壽菊 $ET_{50rep} = 95 \text{ min}$ ，日日春 $1/ET_{50rep} = 0.0105 \text{ min}^{-1}$

呼吸作用效率：日日春 > 芳香萬壽菊

光照時，光合作用和呼吸作用會同時發生，所以光合作用總效率 $1/ET_{50ps}$ ：

$$1/ET_{50ps} = 1/ET_{50light} + 1/ET_{50resp}$$

日日春光合作用總效率 = $0.117 \text{ min}^{-1} + 0.017 \text{ min}^{-1} = 0.134 \text{ min}^{-1}$

芳香萬壽菊光合作用總效率 = $0.03 \text{ min}^{-1} + 0.0105 \text{ min}^{-1} = 0.0405 \text{ min}^{-1}$

光合作用總效率：日日春 > 芳香萬壽菊

實驗方法參考《阿簡生物筆記》

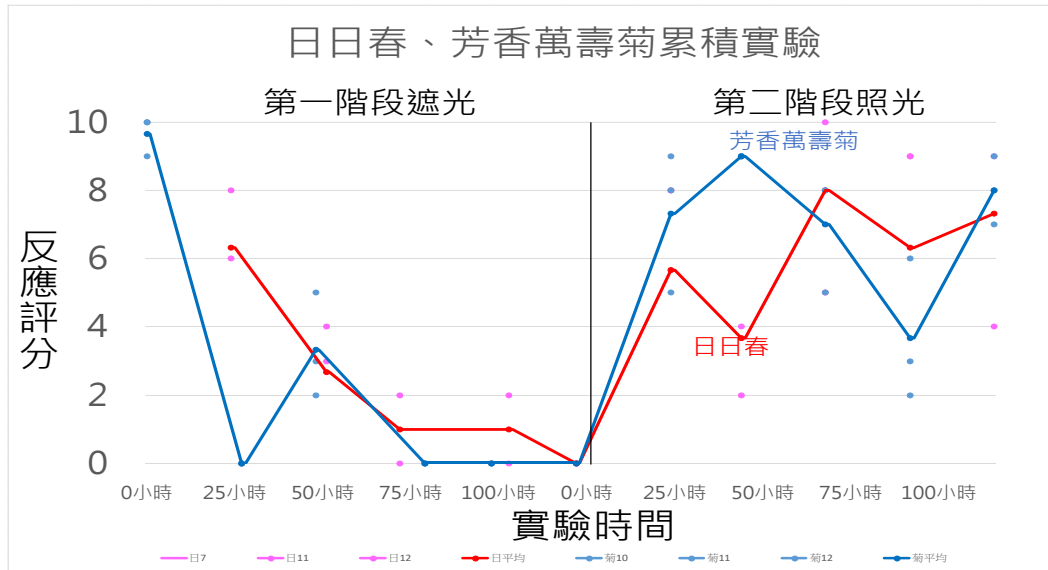
附錄五、日日春與芳香萬壽菊基本資料：

	日日春	芳香萬壽菊
科名	夾竹桃科(Apocynaceae)	菊科(Compositae)
學名	<i>Catharanthus roseus</i>	<i>Tagetes lemmonii</i>
原產地	馬達加斯加、印度	墨西哥、瓜地馬拉、南美洲
分布	1.園藝栽培種 2.台灣各地均有栽種	1.園藝栽培於花圃供觀賞用 2.適合種植於中高海拔地區
環境	1.陽性植物(全日照至半日照) 2.使用排水性佳的介質栽培	1.陽性植物(全日照至半日照) 2.栽培土質不拘
溫度	15~35°C	15~25°C
開花季節	春季至夏季	冬季至春季

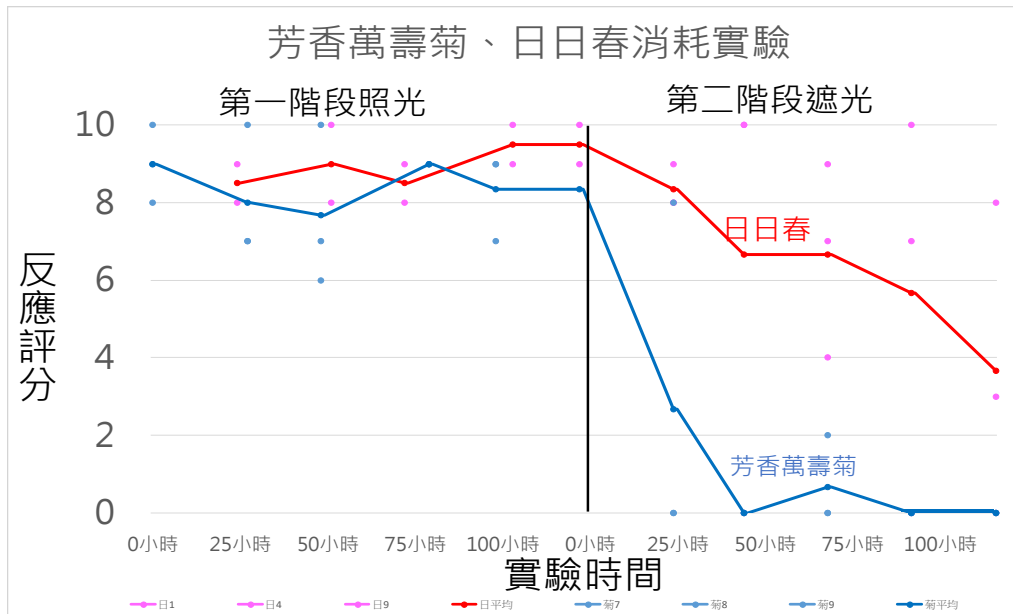
摘自「農業知識入口網植物圖鑑」

附錄六：低溫環境之光合作用澱粉累積與消耗實驗

一、澱粉累積組之澱粉量變化：



二、澱粉消耗組之澱粉量變化：



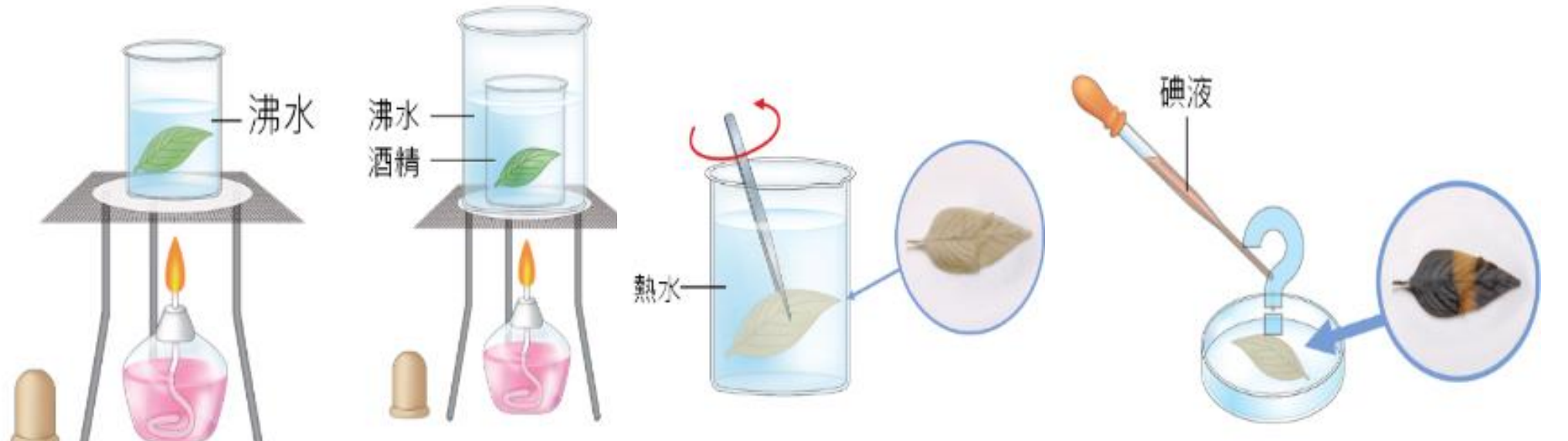
【評語】 030320

本作品之目的在改良國中教材中的澱粉定量分析方法。同學們試圖整合生化反應及影像分析技術，發展出米字檢測法及其標準操作步驟，是以本研究的內容具創新性及實用性。然而本研究所發展的米字檢測法實際並未較系列澱粉濃度溶液的比色法更為簡單、快速，是一遺憾之處。

研究動機

在七年級生物課中以光合作用實驗流程檢測葉片中有無澱粉，但此方法無法定量。前人文獻與澱粉定量相關的研究中（周等，2008），以分光光度計或沉澱法檢測純澱粉液，能檢測的澱粉液濃度範圍有限，且不適用於實測葉片內澱粉含量；因此我們想發展出在國中實驗室即可檢測葉中澱粉量之方法。

期待以我們發展出的澱粉半定量分析法，對校園植物光合作用後葉片中澱粉的消耗與累積速率進行實測，並建立葉片澱粉定量檢測之標準操作程序。



光合作用實驗流程 (引用自國中生物課本)

研究目的

- 一、找出能將植物葉片中澱粉進行半定量分析的方法
- 二、以米字檢測法實測校園植物葉片澱粉含量的變化
- 三、建立檢測植物葉片澱粉含量之標準操作程序

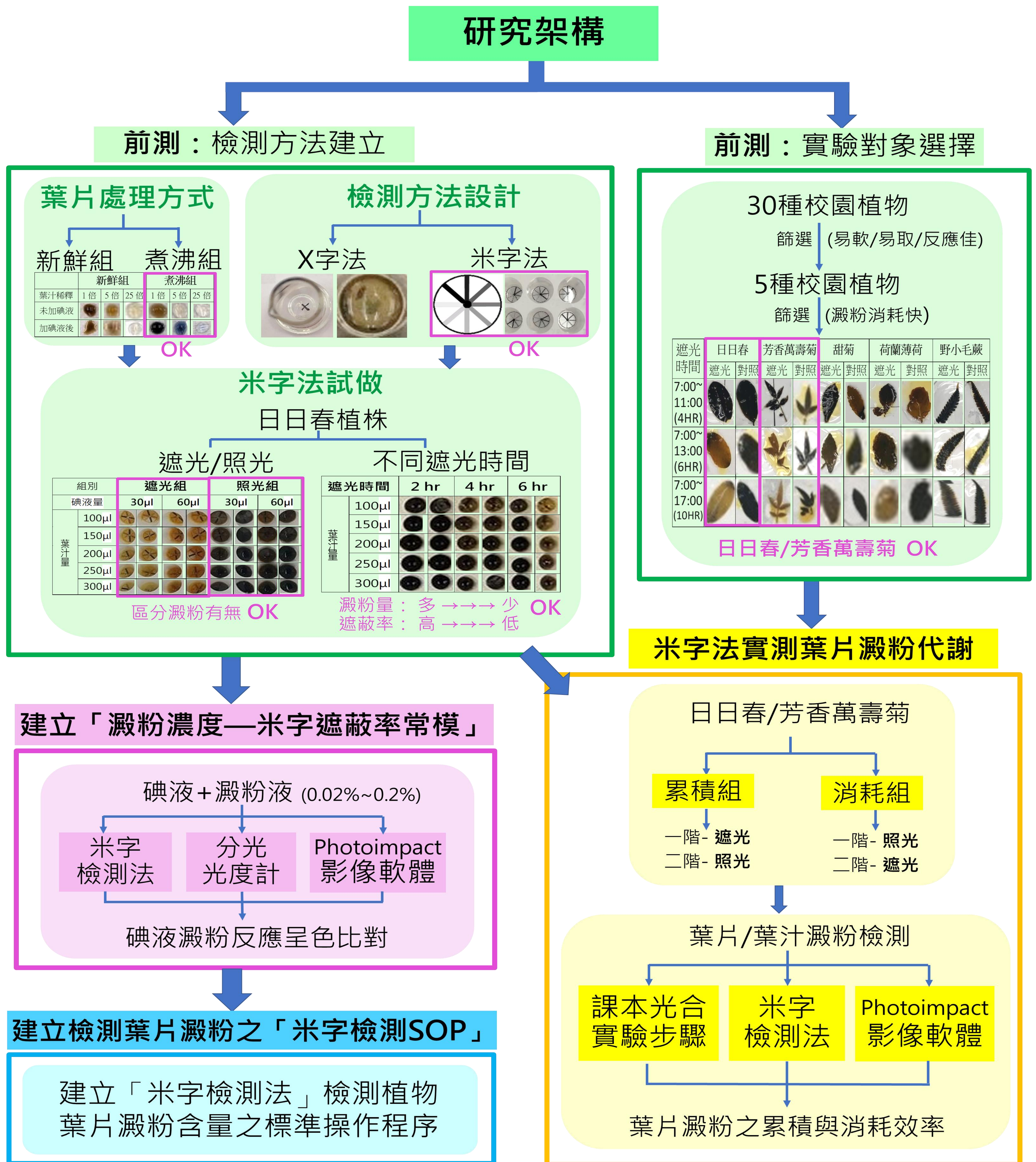
研究設備與器材

日日春 (*Catharanthus roseus*)、芳香萬壽菊 (*Tagetes lemmonii*)、花盆、LED 植物燈、加熱器、微量滴管、微量試管架、研鉢與杵、剪刀、隔板、碘液、量筒、燒杯、培養皿、微量試管架、投影片、解剖刀、鋁箔紙、鑷子、膠帶、水、紙箱、試管、玻棒、酒精、角鋼架、手機、微量研磨器、X字檢測器材、米字檢測器材、分光光度計(型號 Metertek SP-830)。



研究過程與方法

研究架構



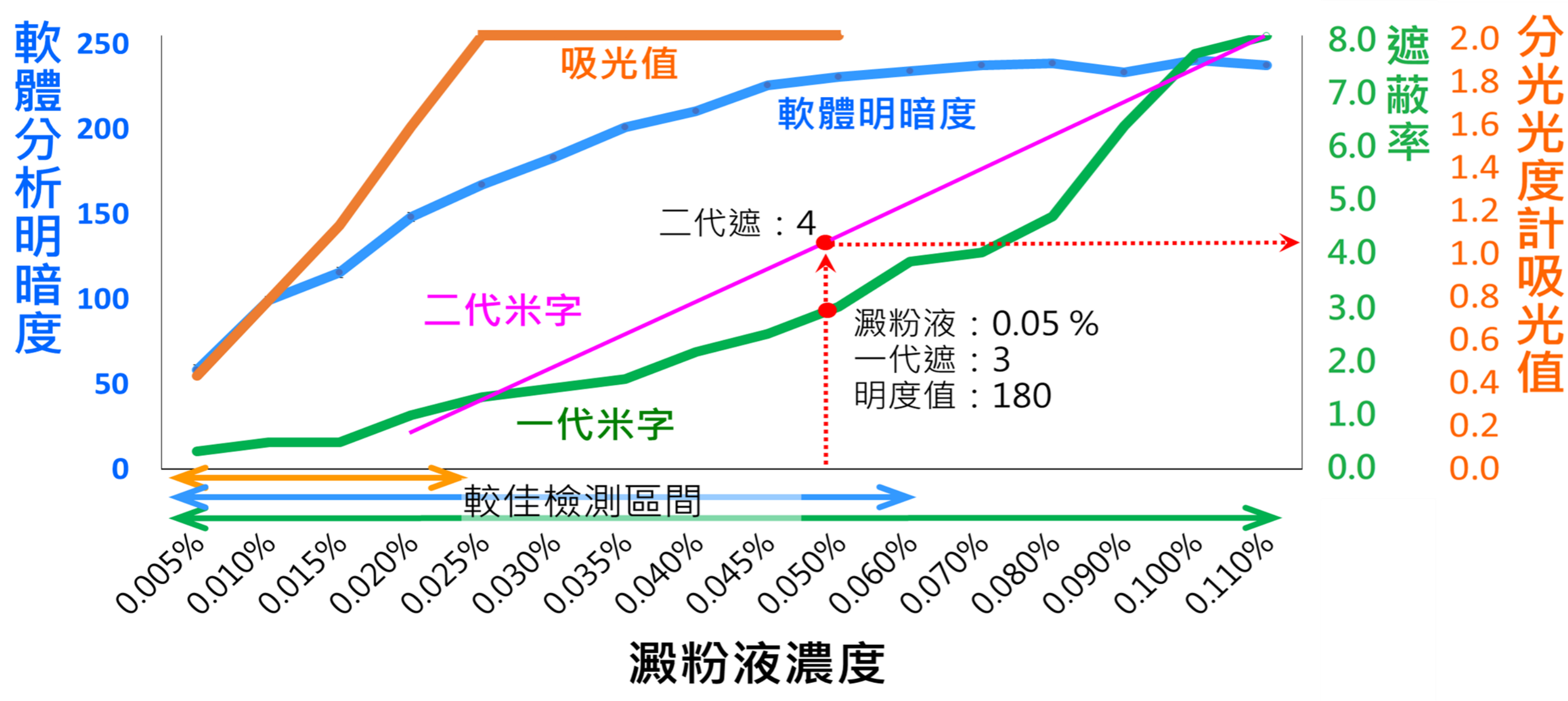
結果與討論

一、建立「澱粉濃度—米字遮蔽率常模」：

(一)將各濃度標準澱粉液以米字法、photoimpact軟體分析、分光光度計檢測：

溶液中澱粉濃度 (%)	0.005	0.01	0.015	0.02	0.025	0.03	0.035	0.04	0.045	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10	0.11
米字圖																
遮蔽率	0.33 ±0.17	0.50 ±0.00	0.50 ±0.00	1.00 ±0.00	1.33 ±0.17	1.50 ±0.00	1.67 ±0.17	2.17 ±0.33	2.50 ±0.29	3.00 ±0.00	3.83 ±0.17	4.00 ±0.00	4.67 ±0.17	6.33 ±0.33	7.67 ±0.33	8.00 ±0.00
軟體分析米字明暗度	58.33 ±2.94	99.5 ±2.09	115.76 ±3.08	148.33 ±2.83	167.26 ±1.68	183.13 ±1.78	201.26 ±1.64	210.43 ±0.58	225.66 ±1.07	230.56 ±1.41	234.23 ±1.07	237.56 ±0.32	238.63 ±0.30	233.46 ±0.60	240.53 ±0.70	237.53 ±0.33
分光光度計吸光值	0.432±0.002	0.780±0.006	1.125±0.006	1.580±0.002	2.00±0.00	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得	無法測得

• 米字法、軟體明暗度、分光光度計檢測各濃度澱粉液：



● 討論：

• 三種澱粉檢測方法比較：

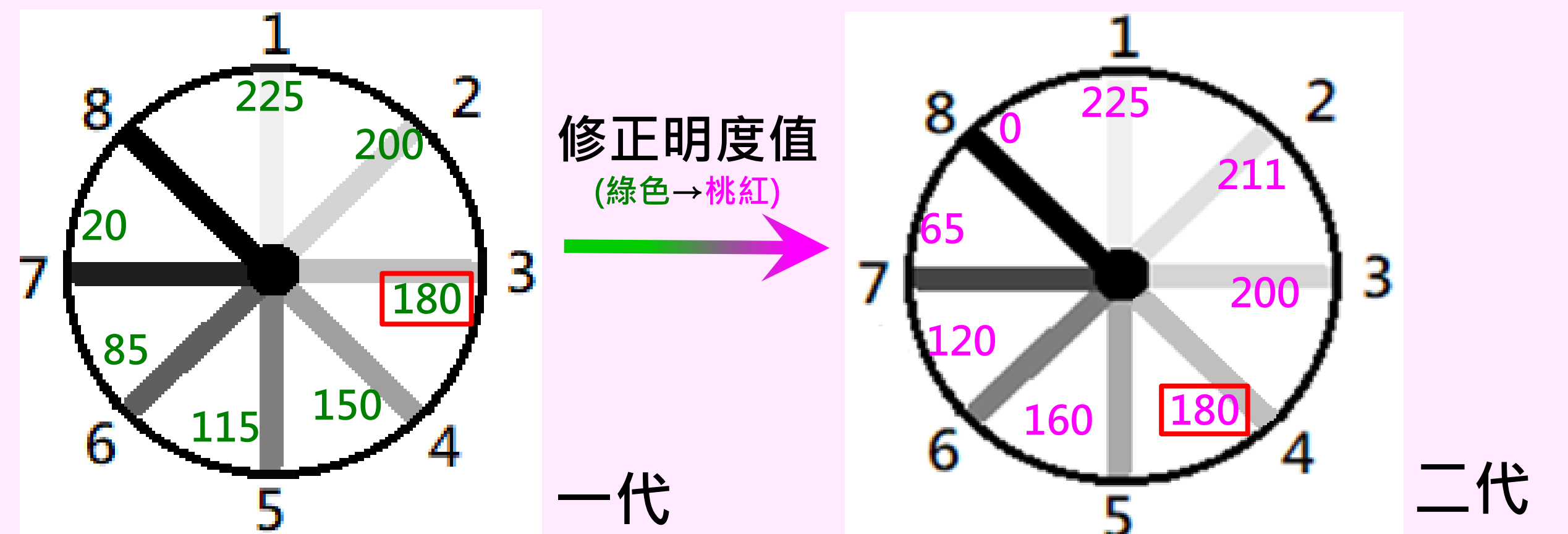
- (1)米字遮蔽率：成本低、操作快，肉眼判讀。
 - (2)軟體明暗度：精確、需電腦、白平衡干擾。
 - (3)分光光度計：精確、濃度區間窄，門檻高。
- 進行澱粉液濃度半定量分析時，米字檢測法於成本、操作便利性、澱粉液濃度鑑別範圍皆優於另外兩者。

(二)米字圖形之修正：

• 第二代米字圖，遮蔽率與澱粉濃度接近線性關係。

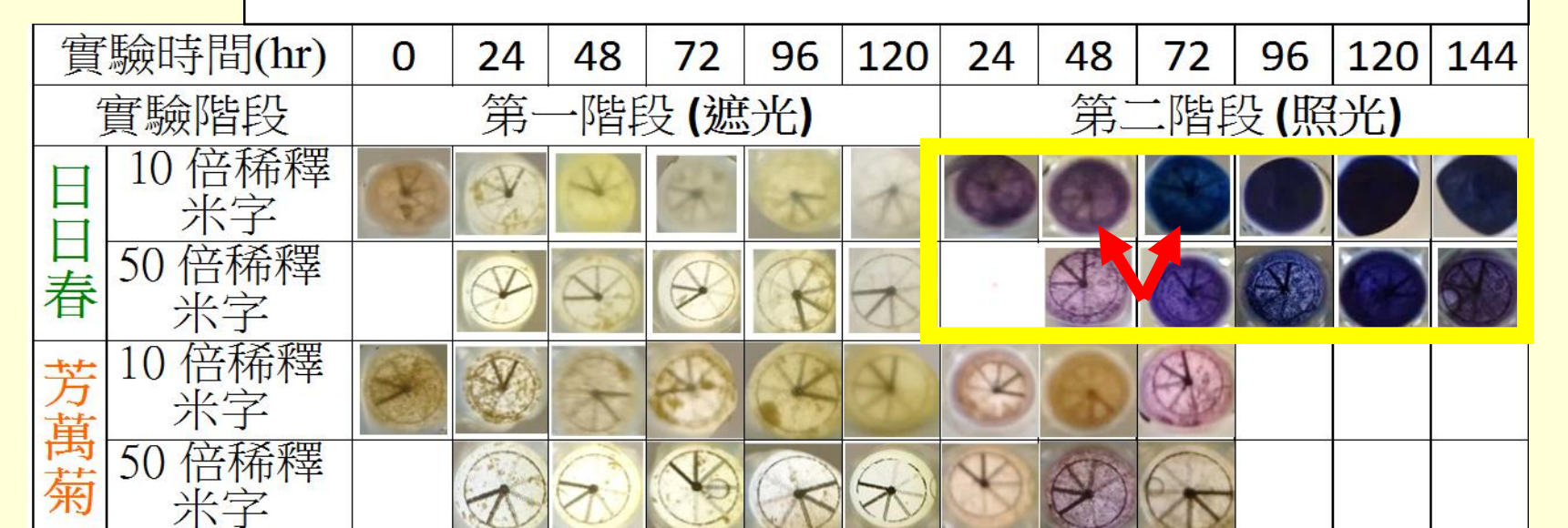
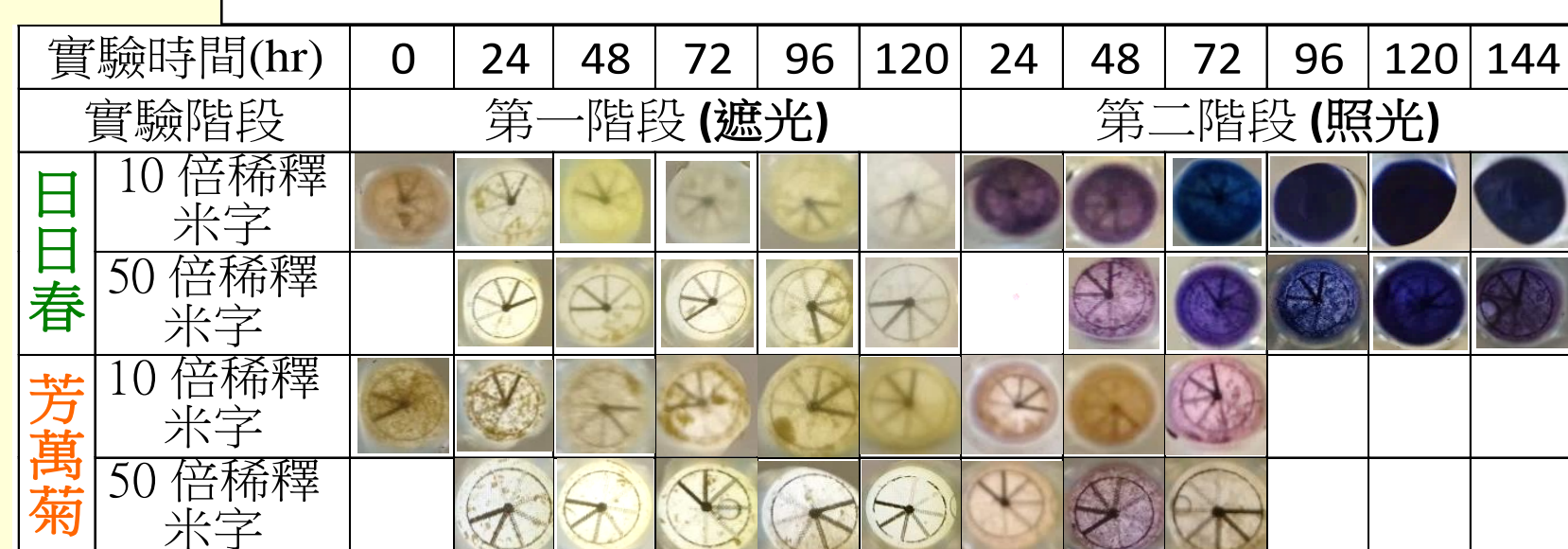
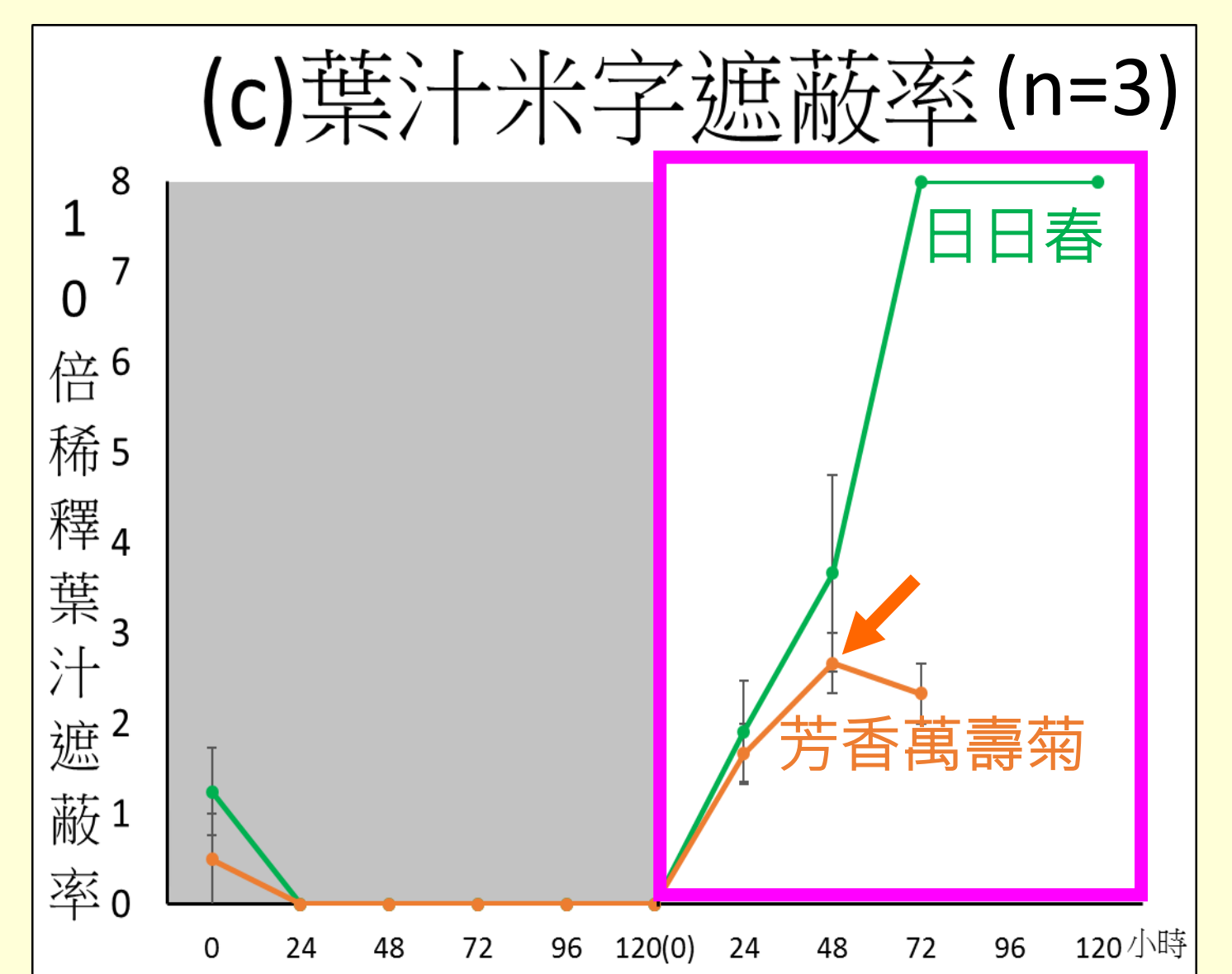
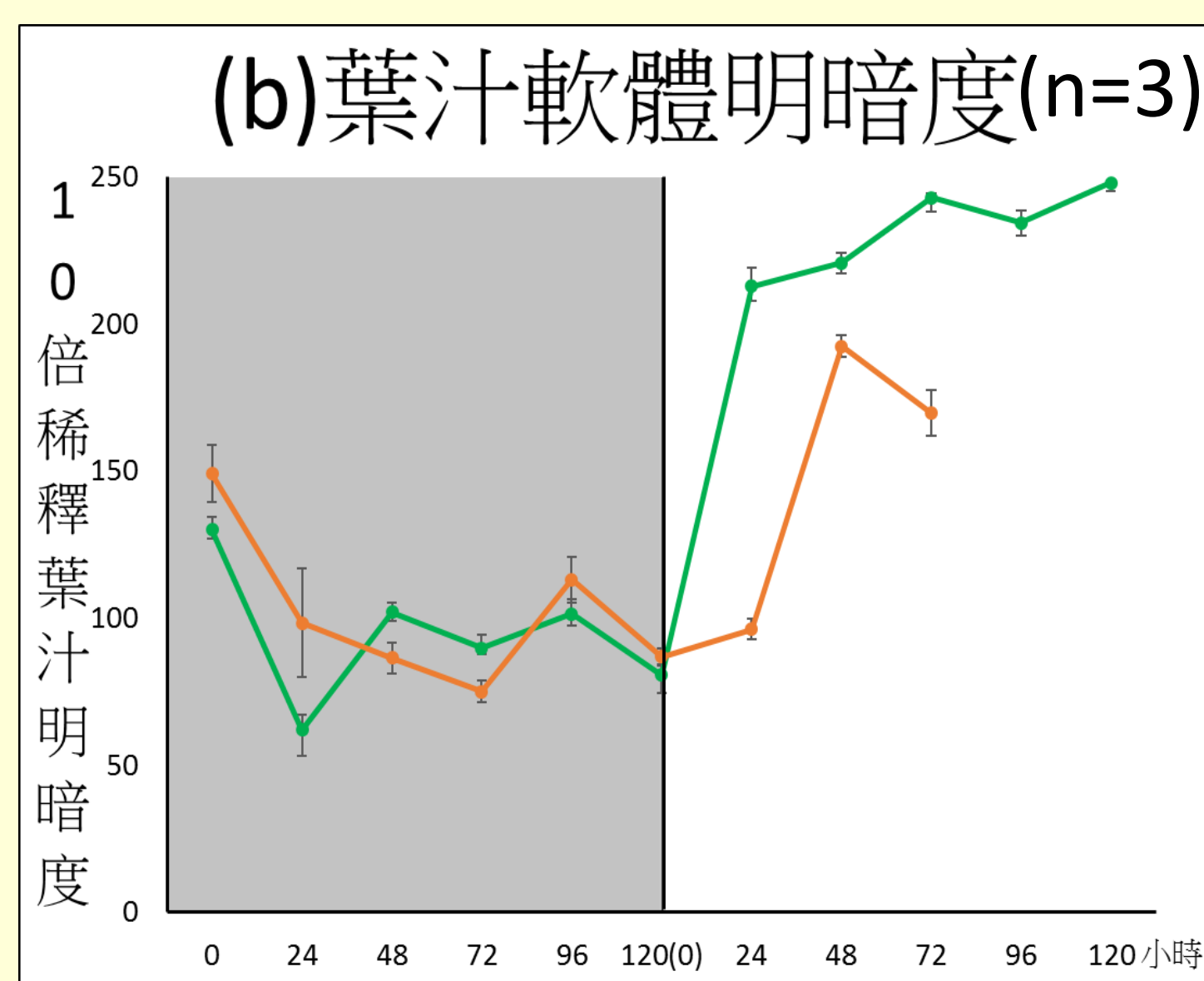
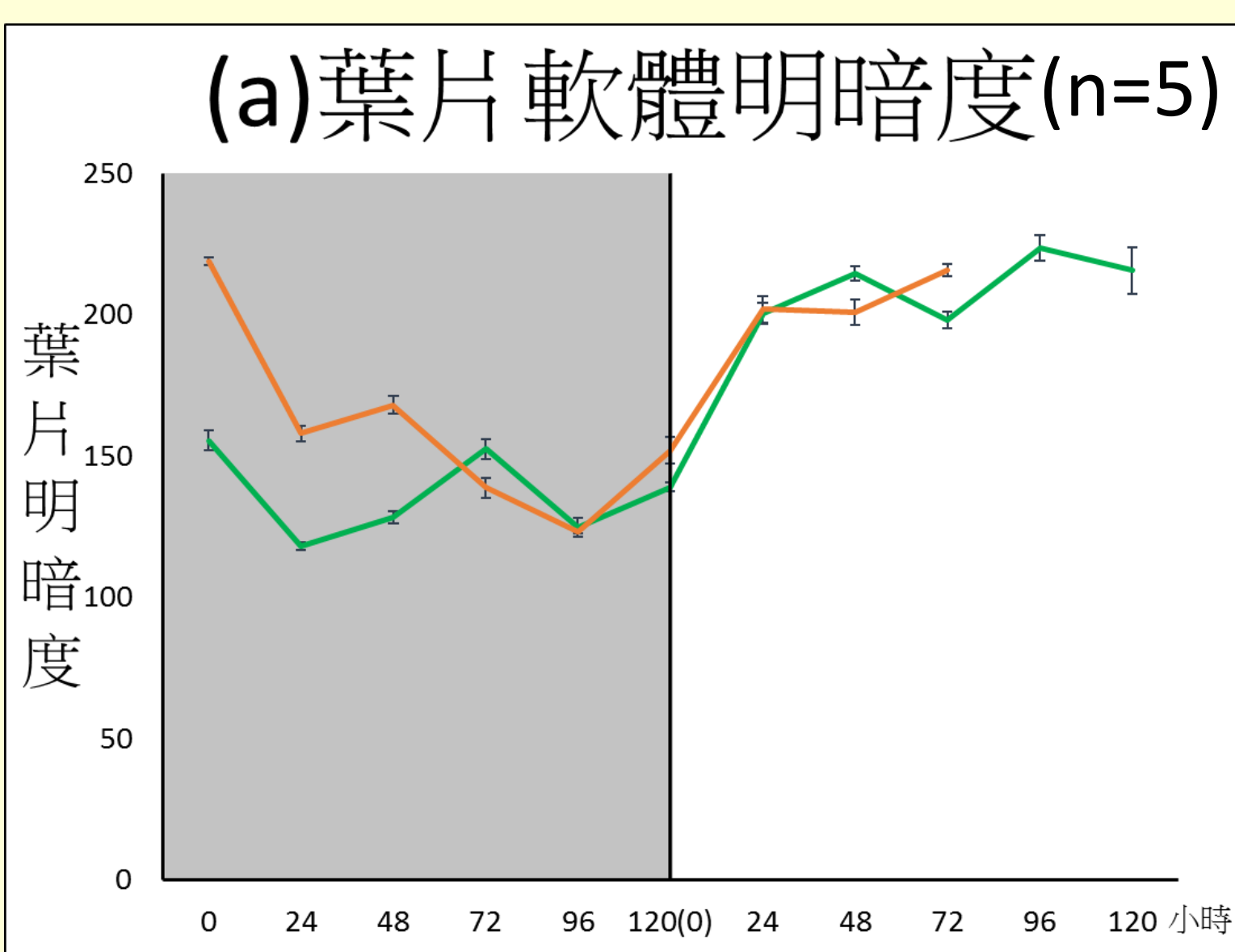
遮蔽率	1	2	3	4	5	6	7	8
一代米字	0.02 %	0.035~0.04 %	0.05 %	0.07 %	0.08~0.09 %	0.09~0.10 %	0.09~0.10 %	>0.11 %
二代米字	0.02 %	0.03 %	0.04 %	0.05 %	0.06 %	0.08 %	0.10 %	>0.11 %

• 一代、二代米字圖各線段之明度值：

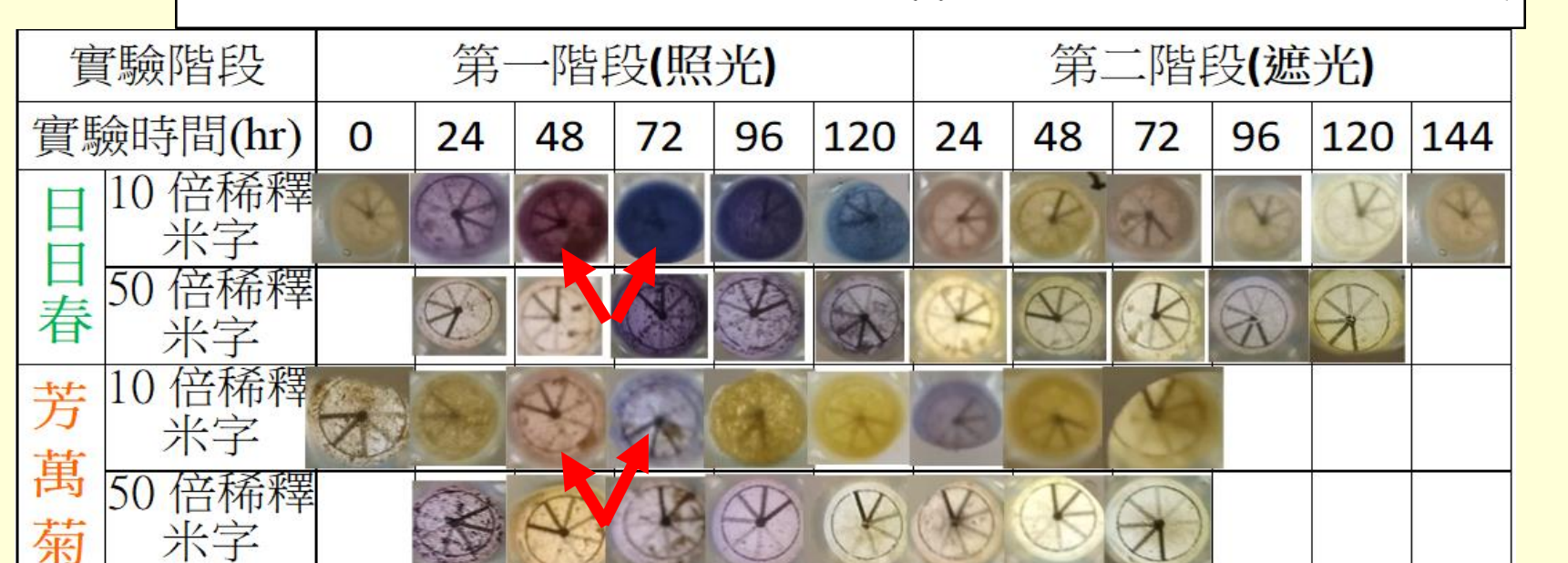
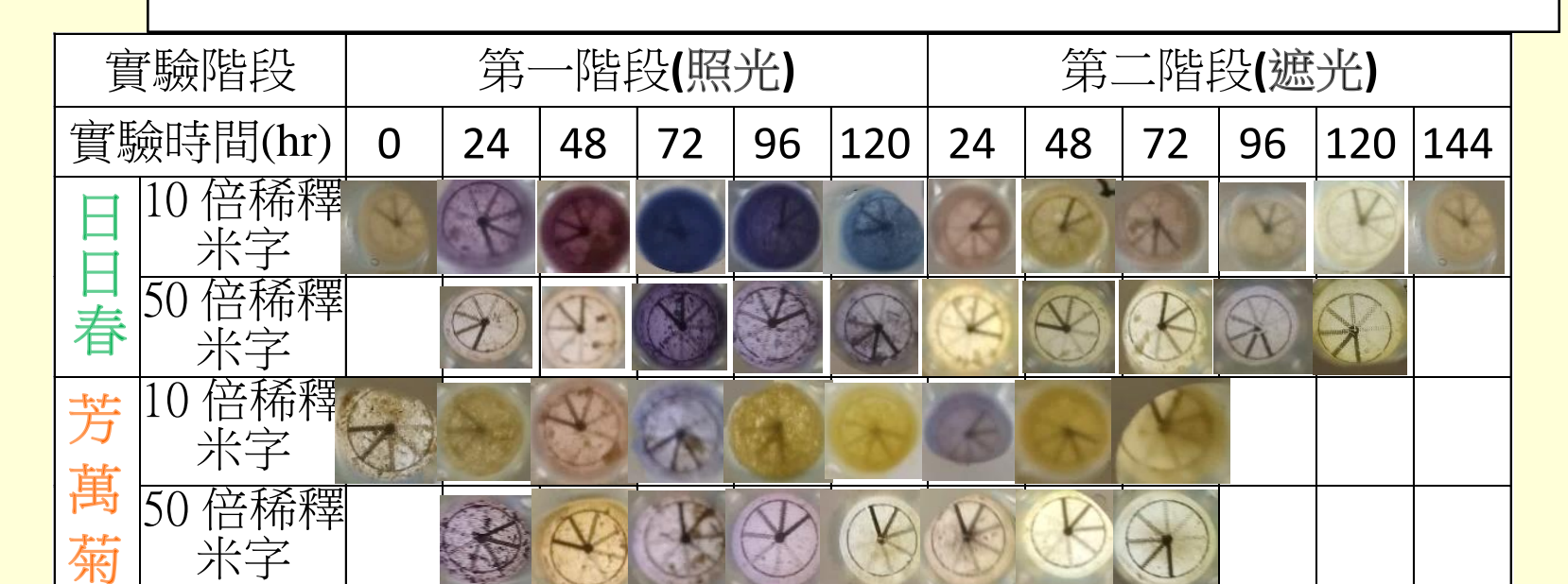
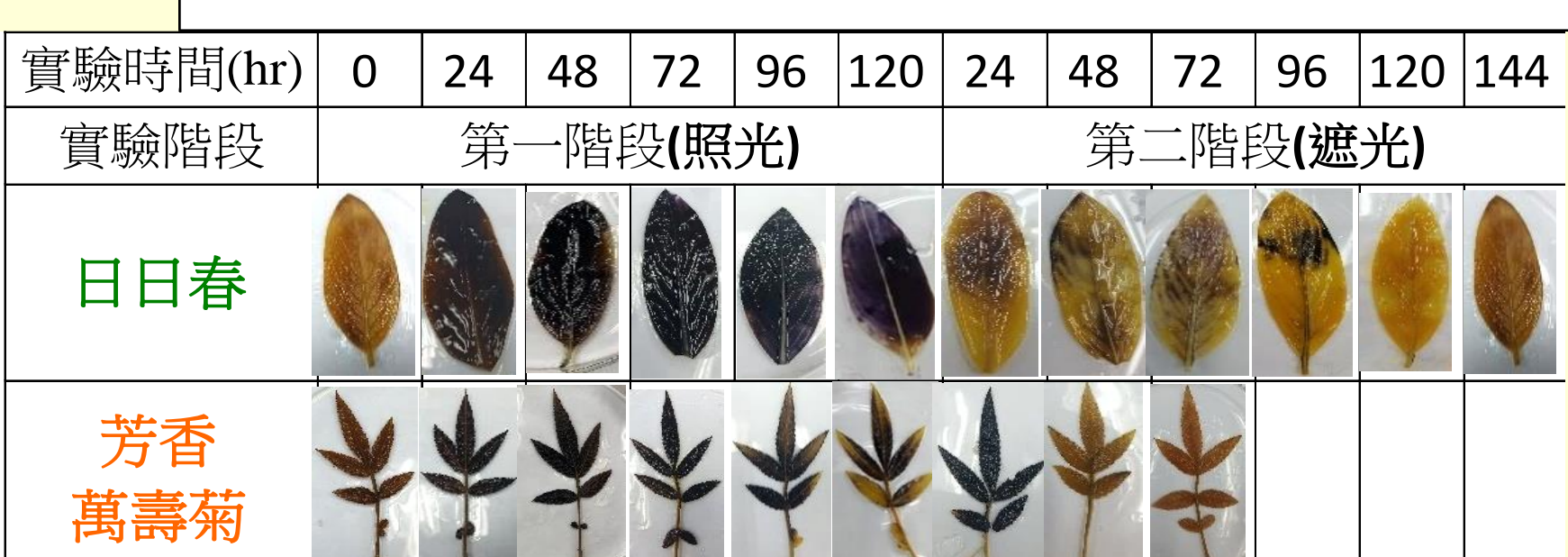
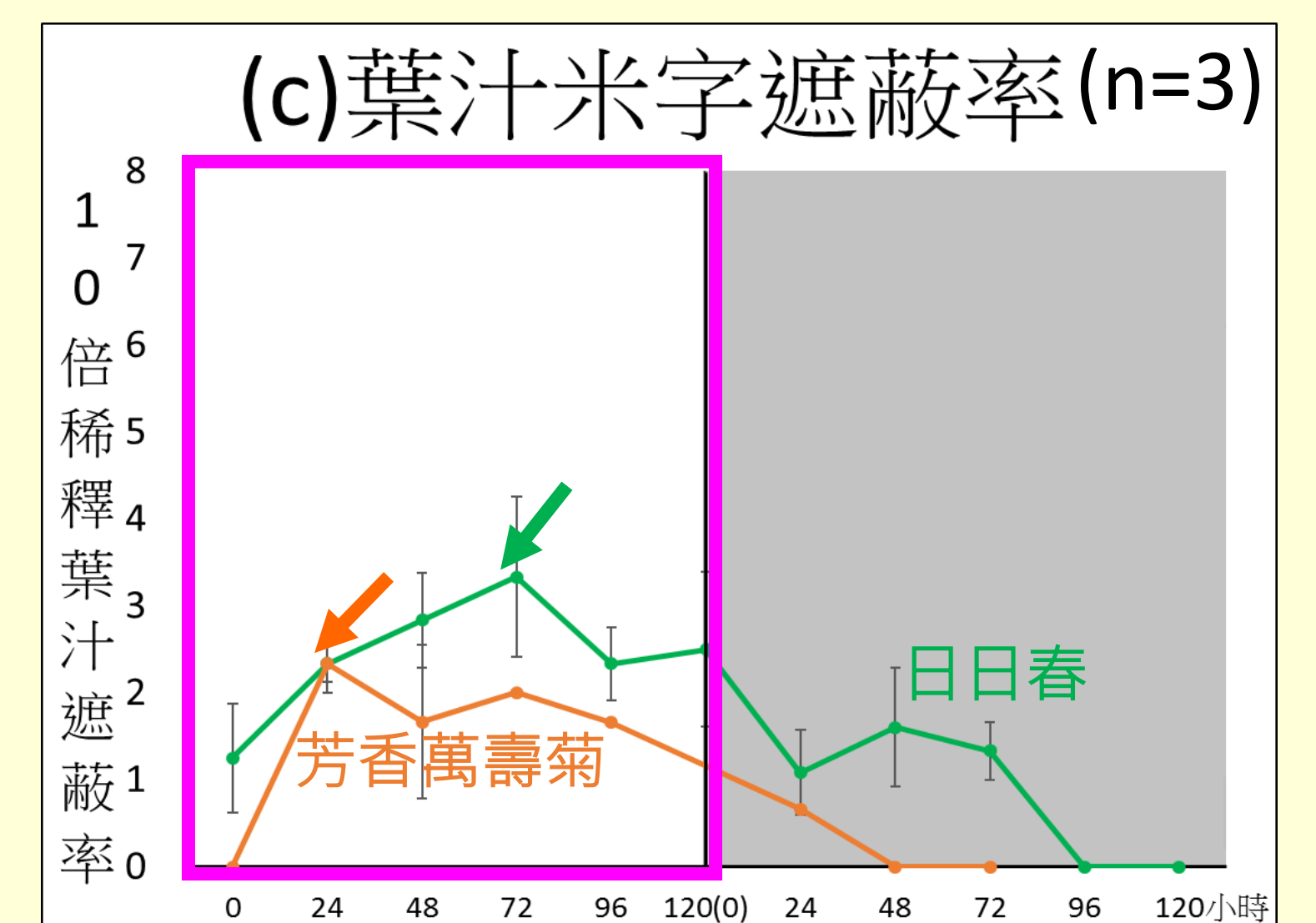
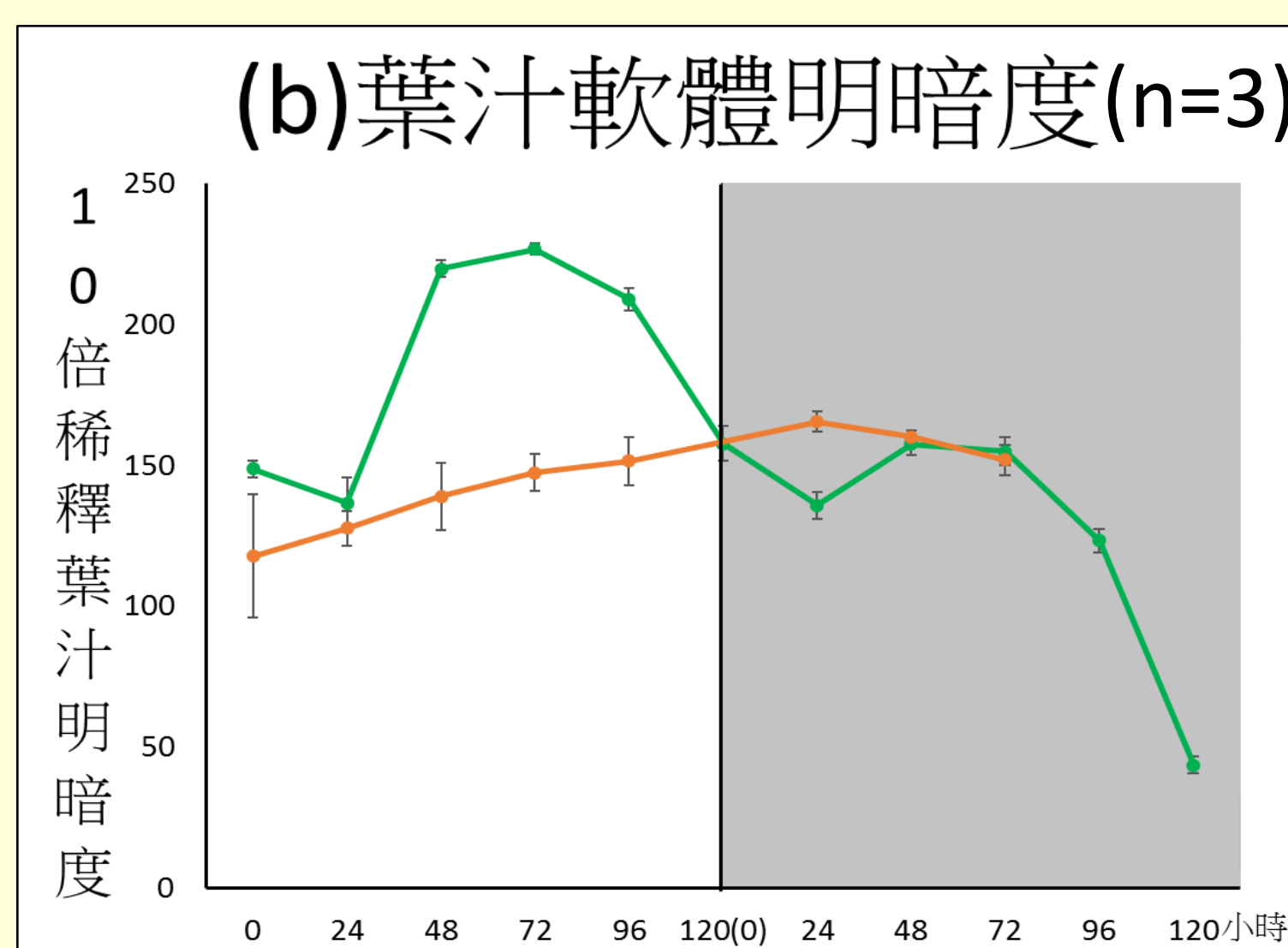
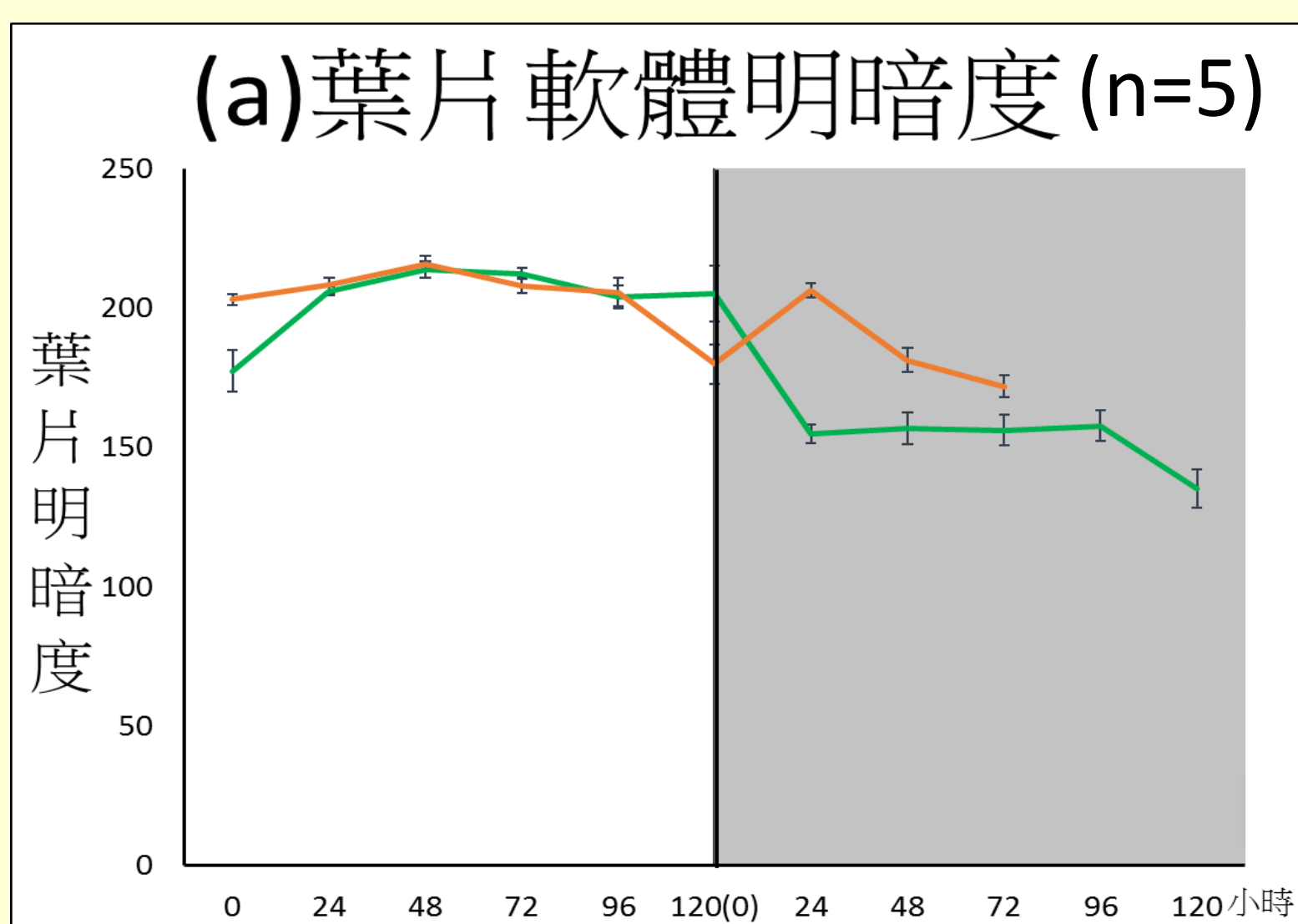


二、以米字檢測法實測校園植物葉片澱粉的代謝：

(一)澱粉累積組：自然光→遮光→照光



(二)澱粉消耗組：自然光→照光→遮光



● 討論：

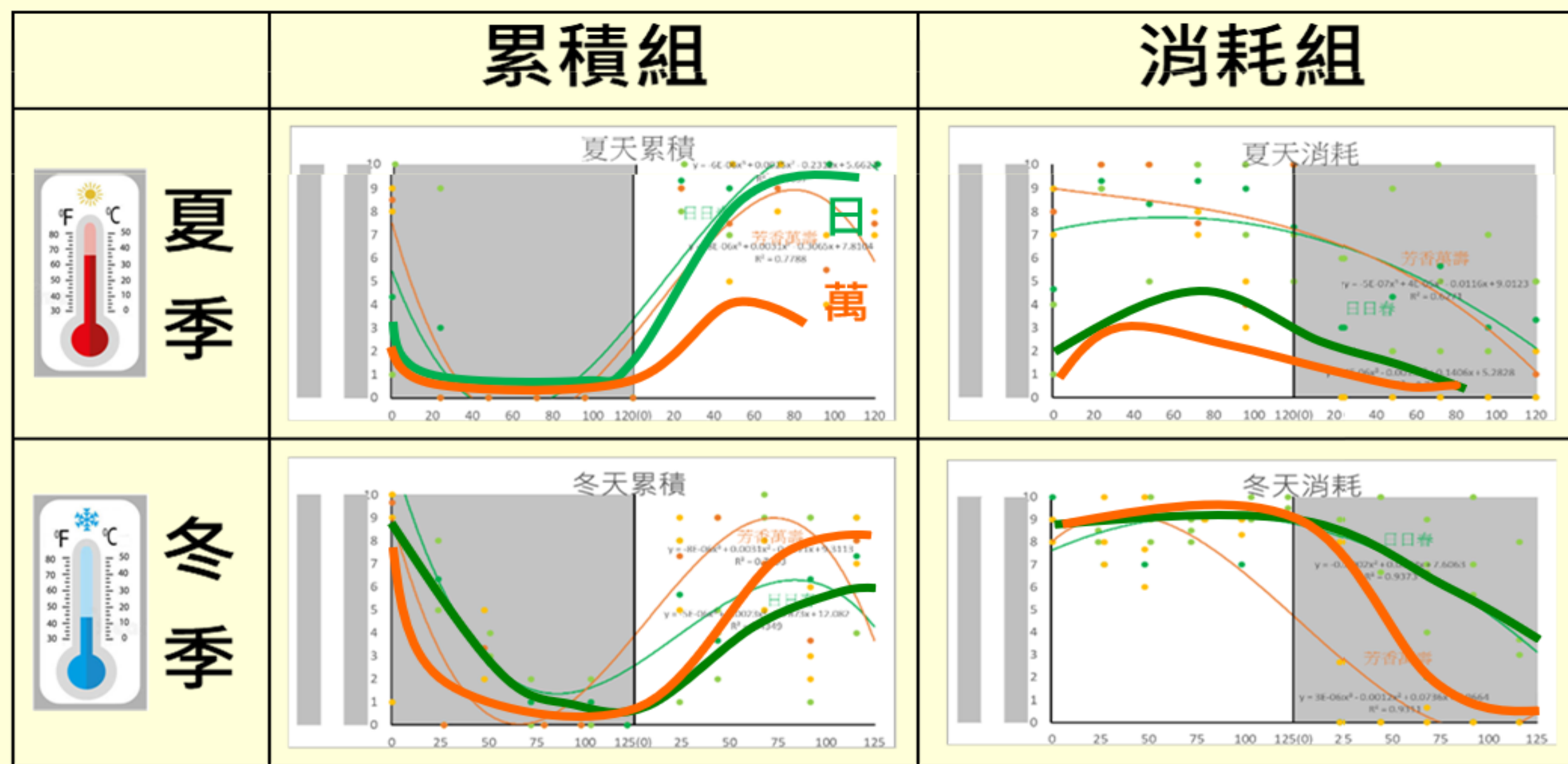
1. 葉片中澱粉半定量檢測法比較：

	簡易度	操作時間	鑑別效果	檢測區間	精準度	成本	其他
米字檢測	肉眼即可判讀 🏆	30 min 🏆	佳 🏆	廣 🏆	中	低 🏆	可判斷支鏈直鏈 🏆
葉汁軟體	需電腦	40 min	中	中	中	中	白平衡干擾
葉片軟體	需電腦	30 min 🏆	低	中	中	中	白平衡干擾
分光光度計	儀器讀取	35 min	無法實測葉汁	窄	高 🏆	高	非普遍儀器

米字檢測法：便宜、迅速、效果好！

2. 日日春與芳香萬壽菊之澱粉代謝比較：

- (1) 開始持續照光，澱粉累積速率與澱粉量：日日春 > 芳香萬壽菊。
- (2) 葉錠實驗：光合作用總效率：日日春 > 芳香萬壽菊。
- (3) 缺光逆境影響：先經長期「缺光逆境」，植株照光後，葉片澱粉累積速率明顯提升。
- (4) 氣溫因子影響：



澱粉累積速率：
日日春 > 芳萬菊

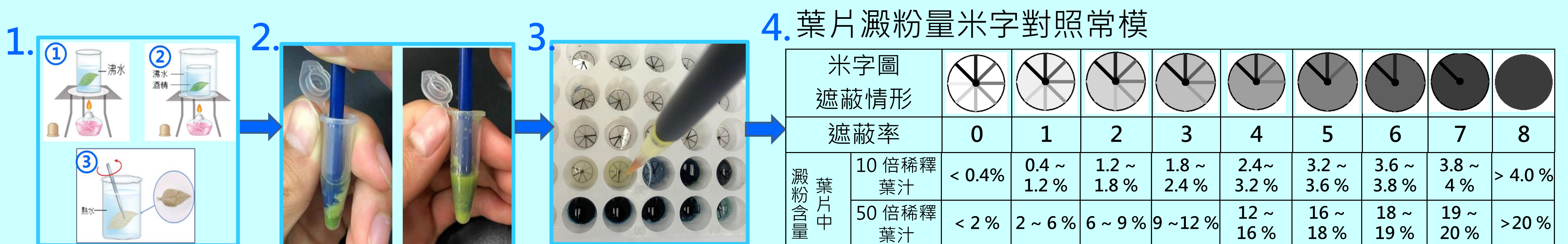
澱粉累積速率：
芳萬菊 > 日日春

3. 葉片中澱粉形式改變：持續照光48~72hr，兩植物碘液呈色：紫紅(支鏈澱粉) → 藍黑(直鏈澱粉)。

4. 日日春便宜易栽種、澱粉累積迅速，為國中光合實驗極佳對象；亦適用米字檢測法設計延伸實驗。

三、建立檢測植物葉片澱粉含量之「米字檢測SOP」：

1. 以課本光合作用實驗流程處理葉片
2. 以微量研磨器研磨葉片並加水，製備10倍、50倍稀釋葉汁。
3. 於米字檢測裝置加入葉汁100 uL，加入40 uL碘液，補水使總體積為400 uL。
4. 由下方照光42 Lux觀察遮蔽率，比對葉片澱粉量米字對照常模，推估葉片澱粉含量。



結論

- 一、我們設計出「米字檢測法」，以國中實驗室基本設備即可進行澱粉半定量分析。
- 二、經日日春與芳香萬壽菊的實測，確認「米字檢測法」可應用於檢測植物葉片中澱粉含量。
- 三、「米字檢測SOP」可實測葉片澱粉含量，便宜、迅速、效果好！
- 四、日日春便宜易栽種、光合效率佳、葉片累積澱粉迅速，為校園植物中極佳的生物課光合作用實驗對象。

未來展望

