

# 【2021 全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

## 高中（職）組成果報告表單

題目名稱：紅綠相映—紫背萬年青色素探討

### 一、摘要：

紫背萬年青(*Tradescantia spathacea*)葉片正面為綠色，背面為紫色，我們透過實驗了解在其中的天然色素—花青素與葉綠素的特性。我們利用不同 pH 值改變花青素的顏色，且發現蔗糖、葡萄糖與一定量的維生素 C 能夠降低其褪色率；並利用不同顏色的雷射光觀察葉綠素的螢光現象。研究結果可用以製作天然色素漂流瓶，並可延長花青素顏色的保存。

### 二、探究題目與動機

校園中常見的植物—紫背萬年青(*Tradescantia spathacea*)不同於葉片兩面顏色相近的一般植物，其正面為綠色，背面為紫色，這使我們對紫背萬年青葉中的色素產生好奇。查詢資料後得知，正面的綠色主要為葉綠素，背面的紫色主要為花青素。因此，我們以這兩種色素為探究主題，設計了此次實驗。

### 三、探究目的與假設

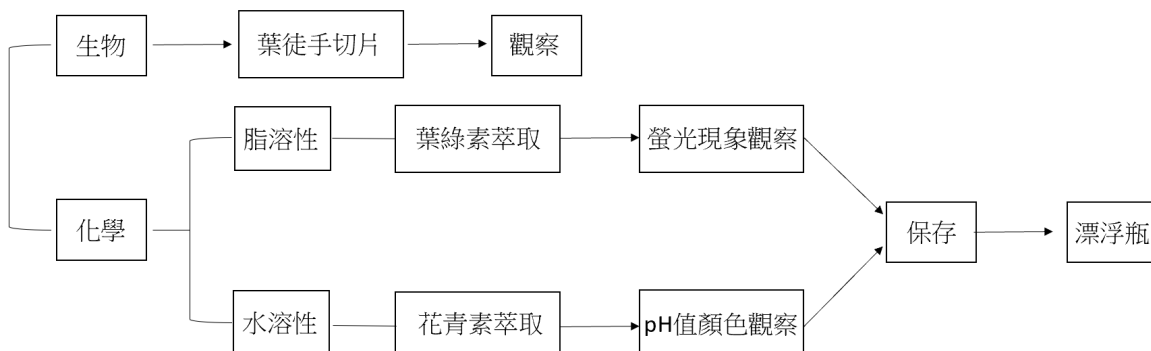
一、目的：觀察並設計實驗了解花青素、葉綠素的特性。

#### 二、假設：

- (一)經查詢文獻得知，添加一定量的維生素 C 可以減緩花青素的降解。因此我們假設添加維生素 C 可以降低其褪色率。
- (二)經查詢文獻得知，添加一定濃度的葡萄糖、蔗糖可以促使花色素苷的積累，且不同種類的醣對呈色有不同的效果，最主要刺激花色素苷呈色的醣類物質為蔗糖，葡萄糖的影響較小。因此我們假設褪色率：蔗糖<葡萄糖。

### 四、探究方法與驗證步驟

#### 一、研究架構



圖一：研究架構

我們分別從生物及化學角度出發：在生物方面，我們透過葉子徒手切片初步認識紫背萬年青；在化學方面，我們分別用定性及定量的方式探討葉綠素與花青素的特性，最後應用這些特性做出漂浮瓶。

## 二、實驗步驟

### (一)實驗一：觀察紫背萬年青葉橫切面

橫切紫背萬年青葉並製成水埋玻片標本，用複式顯微鏡觀察其構造，拍照紀錄。

### (二)實驗二：花青素萃取條件探討

取 3g 新鮮紫背萬年青葉加入 95°C 蒸餾水 30ml，加熱 10 分鐘後夾出葉片，將萃取液裝入樣品瓶。將新鮮紫背萬年青葉置換為乾燥及切碎紫背萬年青葉，重複上述步驟。

### (三)實驗三：花青素層析

以蒸餾水為展開液對實驗二萃取之花青素做濾紙層析。20 分鐘後，觀察並紀錄展開液的位置和色素在濾紙上的分布情形。

### (四)實驗四：花青素加入不同 pH 值

取 2ml 實驗二萃取之花青素分別加入 2ml 的 pH3、5、7、9 之緩衝溶液，裝入樣品瓶，觀察並紀錄結果。

### (五)實驗五：葉綠素螢光現象探討

取 1.5g 烘乾紫背萬年青葉片，磨碎後加入正己烷 30ml，用雙層紗布過濾出液體，裝入離心管以 3000rpm 離心 5 分鐘後裝入樣品瓶，用紫光、綠光和紅光雷射筆照射葉綠素，並觀察其透光程度。

### (六)實驗五：花青素保存方式探討

取 4g 實驗二萃取之花青素分別加入 0.4g、0.04g 葡萄糖，觀察並紀錄結果。將葡萄糖置換為蔗糖、維生素 C，重複上述步驟。

### (七)圖片分析

1. 使用 photoshop 軟體，分析實驗二、四及五萃取液的顏色(RGB 值)

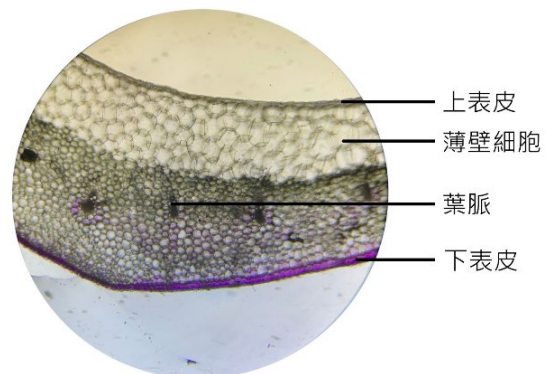
2.  $R \text{ 值百分比}(\%) = \frac{R \text{ 值}}{R+B+G} \times 100\%$ 。四捨五入到整數位。G 值及 B 值依此類推。

3. 定義實驗六褪色率(\%) =  $\frac{\text{第35天}(R+G+B) - \text{第1天}(R+G+B)}{\text{第1天}(R+G+B)} \times 100\%$ 。四捨五入到整數位。

## 三、實驗結果與討論

### (一)實驗一：觀察葉子橫切面

葉綠體分布於葉脈附近，花青素主要分布於下表皮。這種分布情況，經查詢文獻，下表皮的花青素可以反射未完全吸收的紫光，讓葉綠體進行光反應，增加光的利用率。

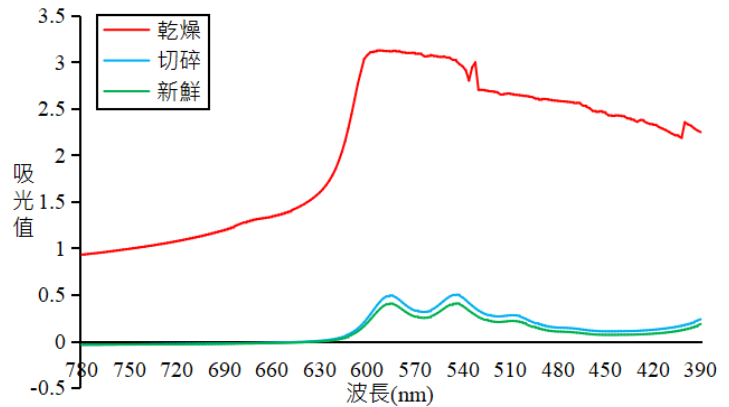


圖二：紫背萬年青橫切 (倍率：10X10X)

(二)實驗二：花青素萃取條件探討

表一：各萃取條件的花青素 RGB 值

組別	新鮮	切碎	乾燥
圖片			

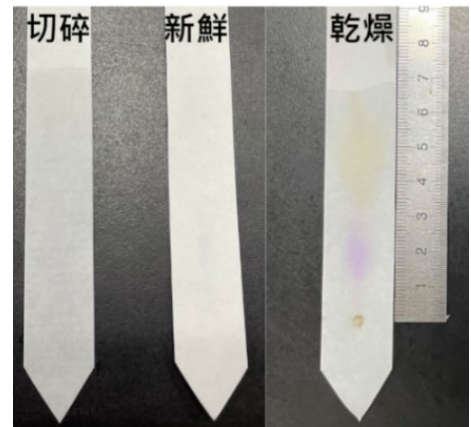


圖三：各萃取條件的花青素吸光值

三者吸光值峰值主要位於波長 600nm~510nm，三者吸光值大小：乾燥組>>切碎組>新鮮組。又由實驗四知三者皆含花青素，故由比爾定律可知，**花青素多寡：乾燥組>>切碎組>新鮮組**。我們推測乾燥組花青素含量大於切碎組與新鮮組是因為，葉片烘乾後，喪失水分的重量，要取較多葉片才能與其餘兩者達到相同的重量；我們推測切碎組花青素含量大於新鮮組是因為，葉片切碎後與水接觸的表面積較大。

(三)實驗三：花青素層析

觀察圖四，乾燥組的花青素展開的分布情形，由下至上分離出紫色色素→淡黃色色素；新鮮組與切碎組只能看出不明顯的紫色色素。已知紫色色素為花青素。我們原先推測淡黃色色素為葉黃素，因在植物的光合色素中，葉黃素呈黃色，雖通常不溶於水極性卻最大。但此次實驗中，淡黃色色素對極性移動相(水)的親和力大於紫色色素，所以我們認為淡黃色色素並非葉黃素，並且推測其亦為花青素。



圖四：不同萃取條件下的花青素層析

(四)實驗四：花青素加入不同 pH 值

表二：花青素添加不同 pH 值對照表

組別	對照組	pH3	pH5	pH7	pH9
新鮮					

R/G/B	111/61/110	128/88/112	121/80/111	112/88/109	100/99/95
百分比 (%)	39/22/39	39/27/34	39/26/36	36/28/35	34/34/32
切碎					
R/G/B	115/57/106	133/99/121	125/93/120	116/98/117	108/110/109
百分比 (%)	41/21/38	38/28/34	37/28/36	35/30/35	33/34/33
乾燥					
R/G/B	25/0/0	79/0/1	71/0/1	60/0/3	42/0/1
百分比 (%)	100/0/0	99/0/1	99/0/1	95/0/5	98/0/2

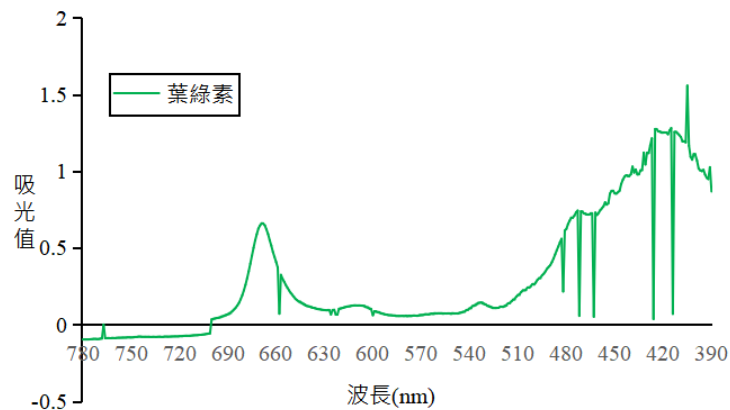
新鮮組與切碎組隨著 pH 值的增加，R 值百分比逐漸降低。G 值百分比有上升的趨勢，B 值百分比有下降的趨勢。乾燥組 R 值百分比在加入 pH7 時最低，在加入 pH3 時最高；B 值百分比在加入 pH3 時最低，在加入 pH7 時最高；G 值則沒有明顯的變化。

#### (五)實驗五：葉綠素螢光現象探討

表三：葉綠素照光對照表

	紅光	綠光	紫光
對照組			
葉綠素 螢光現象			


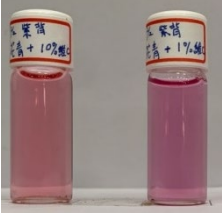



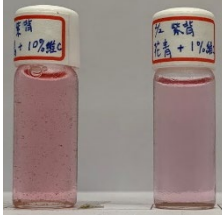


由圖五可知，吸光值：紫光(390nm-450nm)>紅光(630nm-690nm)>綠光(510nm-540nm)。所以，對照表三可以發現，葉綠素照射紅光與綠光時，大部分的光會穿透溶液；照射紫光時，少部分的光穿透溶液，葉綠素吸收光能轉為激發態，並放出紅色螢光來釋放能量回到基態。



圖五：葉綠素的吸光值

(六)實驗六：花青素保存方式探討

表三：花青素添加不同物質對照表

組別	對照組	維生素 C		葡萄糖		蔗糖	
		0.4	0.04	0.4	0.04	0.4	0.04
加入量(g)							
第 1 天							
R/G/B	120/70/106	159/92/98	147/82/107	121/70/109	123/68/109	125/75/115	123/69/108
百分比(%)	41/24/36	46/26/28	44/24/32	40/23/36	41/23/36	40/24/37	41/23/36
第 35 天							
R/G/B	131/73/118	154/111/110	153/123/126	125/73/111	127/71/111	131/71/113	130/68/111
百分比(%)	41/23/37	41/30/29	38/31/31	40/24/36	41/23/36	42/23/36	42/22/36
褪色率(%)	9	7	20	3	3	0	3

1.褪色率：高濃度維生素 C 組>對照組>低濃度維生素 C 組。因此我們推測添加濃度約 10%的維生素 C 可以達到降低褪色率的效果。

2.褪色率：對照組>高濃度葡萄糖組~低濃度葡萄糖組~低濃度蔗糖組>高濃度蔗糖組，符合假設。

## 五、結論與生活應用

### 一、結論

- (一)紫背萬年青的花青素主要分布於下表皮，可以增加光的利用率。
- (二)切碎葉片可以使花青素萃取濃度增加。
- (三)紫背萬年青的花青素可以分離出淡黃色與紫色等兩種花青素，且淡黃色色素極性較紫色色素大。
- (四)葉綠素照射紫光雷射時會發生螢光現象。
- (五)添加蔗糖與葡萄糖與約 10%的維生素 C 可以降低花青素的褪色率，且蔗糖的效果優於葡萄糖優於維生素 C。

### 二、應用

#### (一)漂浮瓶製作

花青素為水溶性、葉綠素為脂溶性的特性，讓我們聯想到利用極性不同的原理讓溶液分為兩層的漂浮瓶。所以，我們認為可以利用花青素與葉綠素製作天然色素漂浮瓶，結果如下圖。



圖六：市面上(左)與自製(右)漂浮瓶

- (二)隨著人們對環保與健康意識的提高，現今已有許多科學家及廠商投入天然色素的新產品的開發，但目前天然色素的保存及顏色變化上，仍有著許多限制和不穩定。此次實驗之**改變顏色及保存方法**能夠在天然色素技術發展上成為重要的一環。

## 參考資料

- 一、林敬倫 (2011)。我要「陽光」也要「保護」—花青素位置、功能和應用之探討。2021 年 4 月 8 日，旺宏科學獎作品。
- 二、彭永昌 (2001)。紫蕪花色素化學結構鑑定之研究。2021 年 4 月 8 日，取自 <https://ndltd.ncl.edu.tw/cgi-bin/g32/gswweb.cgi/ccd=MXLZ6I/record?r1=1&h1=0>
- 三、洪敬明、徐碩志 (2020)。綠色化學:植物色素分離與鑑定。2021 年 4 月 8 日，取自 <http://chemed.chemistry.org.tw/?p=36922>
- 四、Leiyu Yang, Yaxin Liu, Ziluan Fan(2017). Influential Factor of Anthocyanin Stability and the Potential Pathways Improving Their Stability. *Hans Journal of Food and Nutrition Science*, 6(3), 139-140.
- 五、Solfanelli C, Poggi A, Loreti E, Alpi A, Perata P (2006). Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 140, 637–646.
- 六、Maxwell, K., & Johnson, G. N.(2000). *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659–668.
- 七、Zhao Qiming, Li Fan, Li Ping(2013). *Research Advances on Core Enzymes of Anthocyanidin Biosynthesis. Biotechnology Bulletin*, 0(12), 25-32.