

新北市 102 學年度中小學科學展覽會 作品說明書

科 別：生活與應用科學

組 別：國中組

作品名稱：析來素往首部曲之煉丹計

關 鍵 詞：萃取、色層分析、葉黃素

編 號：

摘要

提供植物色素的萃取法的另類選擇，透過調控溫度乾燥能快速得到又可避免色素改變，並可推廣利用普通濾紙就能在課堂進行的光合色素分析法。運用色層分析可證實，吃綠色韭菜葉能得到的葉黃素，遠多於避光生長的韭菜黃，又提升學童吃蔬菜的意願與做好視力保健。我們也證實在酸處理後，溶於溶劑的光合色素較易發生結構改變。

壹、研究動機：

台灣雖然不在四季分明的溫帶地區，但在校園學習休憩時間裡，從台灣欒樹到菩提樹，從山櫻、杜鵑到木棉花，只要到教室外放眼望去，不再把眼光只專注於都市水泥建物內的硬體設備時，我們發覺大自然的變化，氣候儼然就是一個慣用障眼法的魔法師，上演著一幕幕的植物界輪替最佳主角的秀，把整個空間裝扮得繽紛美麗，一幕幕的植物布景，既像寫實派卻又瀟灑著抽象的神祕美，把冰冷的水泥現代化建築族空間，裝扮得格外生動美麗。上了生物課，我們知道原來校園植物景色的多采多姿的變化，背後的魔法師就是植物界豐富的天然色素。令人不注意也難的影視媒體眾多談話性節目中，有相當科學背景的專家學者們，總是提醒著人們不要忽略健康，在食物來源中的有色的植物不可替代與重要性跟其所含天然色素相關。電視廣告常常在說，葉黃素能保護眼睛，在查詢資料後我們知道原來葉黃素是人體所必需卻無法製造的，他能減少藍光高能量光線傷害與陽光對眼睛的破壞，免受氧化對心血管也有保護力，根據文獻探討中有許多實驗資料都認為酸性也會對色素結構改變。政府提倡宣導的天天五蔬果，學校也在營養午餐選定會有一天成為蔬食日，並提供牛奶補足蛋白質營養。我們想知道是否將蔬菜吃進胃裡，色素就可能會被胃酸破壞，而無法為身體帶來益處？而且我們常常聽到有很多人認同說：黃色蔬菜的葉黃素比綠色蔬菜多(因為他們看起來是黃色的)，市場上韭菜和韭黃原本是同種植物，只有生長時的環境差別是有照光和無照光，所以我們想知道，究竟有照光植物的哪些色素較多？而無照光植物的哪些色素較多？是不是黃色蔬菜的葉黃素真的比綠色蔬菜多？所以，我們利用色層分析，研究色素在植物生長環境差異時的變化外，也想探討植物在進入人體後，經消化作用時色素的狀況。

貳、實驗目的：

- 一、探討萃取色素時，使用不同的有機溶劑之差異情形。
- 二、探討乾燥葉片時，選用不同的處理溫度所萃取出來的色素情形。
- 三、比較在色層分析時使用不同色素濾液滴入法的差異性。
- 四、比較有照光植物與無照光植物之色素組成差異。
- 五、了解酸鹼性對色素所產生的影響為何？
- 六、尋找在國中教室自然課堂中，以色層分析了解葉片的色素最佳方式。

參、 研究設備及器材:

烘箱 	長條濾紙(色層分析專用) 	離心機 
震盪器、丙酮、石油醚、毛細管 (細)、離心管、吹風機、電子秤		
實驗一：	乙酸、乙酸乙酯、乙醇、丙酮、石油醚	
實驗三：	毛細管(0.8mm-1.10mm)、蓋玻片	
實驗四：	韭菜、韭菜黃、丙酮、石油醚	
實驗五：	乙酸、飽和碳酸鈉、丙酮、石油醚	
實驗六：	丙酮、濾紙、毛細 	管(0.8mm-1.10mm)

肆、 研究過程與方法：

萃取葉片色素的實驗材料來源是採集校園內種植的被子植物柳樹、菩提樹，教室外花台非人為栽種的龍葵與桑葉;市場購買的龍葵、韭菜與韭菜黃。

色素萃取實驗前，植物葉片處理: 挑選成熟健康葉子(非枯黃葉與老葉或新芽葉)後，去除枝條的莖與葉柄只留大部分葉面，烤箱烘乾或微波爐處理乾燥葉片，將每次採集或購買的新鮮植物葉片經電子秤量測重量之後，進烘箱乾燥，設定操作的實驗用特定溫度與開啟計時器紀錄烘乾時間，取出後等葉子溫度降回到室溫，並將葉片予以等量分批磨碎。葉片放研鉢裝用研磨杵磨碎成小細片或蔬果研磨機等速、分段磨碎葉片(分次控制在 1 秒內啟動馬達並待 5 秒後再啟動下次絞碎，避免高速旋轉軸心造成溫度上升過高破壞葉片細胞成分)，用撈油網再次過篩，選汰掉大葉片與殘留的葉脈中肋，來去除葉片以外的部分(在我們實驗中視為雜質)。

一、萃取色素的方法:

1. 用電子秤秤好已烘乾的葉 0.5g
2. 將葉倒入 4ml 丙酮的試管、鋁蓋螺紋離心玻璃管或樣品瓶
3. 用震盪器搖晃均勻後避光處理
4. 浸泡 5 天後將浸液倒入離心管離心，每分鐘 3500 轉離心 15 分鐘
5. 用滴管將萃取液移入鐵蓋玻璃罐後，避光處理備用

二、色素滴入濾紙方式:

1. 將濾紙修剪為長 20cm 寬 2cm 的長條
2. 於濾紙兩邊距離底部 1.5cm 處，向底部中點剪下形成尖端
3. 用鉛筆做好距離記號，在色層分析前，烘箱乾燥濾紙 30 分鐘
4. 用毛細管取萃取液滴至濾紙離底部 3cm 處，以吹風機冷風吹乾並重複 30 次

三、色層分析展開的過程:

1. 每個樣本先備製展開液 5ml，皆使用丙酮:石油醚 (9:1) 0.5ml:4.5ml 均勻混合並倒入 100ml 的量筒
2. 用鋁箔紙蓋上量筒並等待數分鐘後
3. 用鑷子將已滴好色素的濾紙垂直放進量筒中(濾紙尖端朝下)，並蓋上蓋子展開

四、使用不同的有機溶劑來萃取色素實驗方法：

在色層分析的實驗中，萃取液(溶劑)的角色是將葉子的色素萃取出來，溶劑會影響萃取出的色素種類與含量，其中，溶劑的極性大小是非常重要的性質，在過去分析化學的教科書與文獻搜查時，我們發現以往萃取色素竟然千篇一律的用丙酮作為溶劑來萃取色素，所以我們在本實驗中，利用各種的不同極性有機溶劑來比較萃取色素效果，而實驗中我們使用的溶劑：選用的溶劑是以極性大小來排序

溶劑	介電常數
石油醚	2.0
乙酸乙酯	6.0
乙酸	6.2
石油醚+乙醇(1：1)	13.0
丙酮	21.0
乙醇	24.0

五、萃取色素前葉先經不同的烘烤溫度實驗：

在這實驗中，我們要了解葉綠素、葉黃素等各種色素是否容易受到溫度這個環境因素所影響、破壞，藉由烘乾葉子時，選用溫度的不同來觀察色素被破壞的程度，我們分別是用了三種溫度來烘烤，50 度、65 度、80 度而烘乾時間都是 8 小時，之後再浸泡烘乾的葉子粉末以進行色層分析。如果要減少烘乾時間，便利用微波爐，再以中低火力，並控制時間縮短到

每次 5 秒，多次重複去烘乾葉片達到瞬間脫水效果。照片可比較出葉片顏色改變不多，證實不因微波爐的加熱而有明顯差異，證實可使葉片處理時間更短。



六、不同色素滴入法實驗：

在文獻探討時我們發現大家慣用細毛細管來滴取色素萃取液，為了瞭解毛細管能助於呈現毛細現象外，在色層分析實驗中扮演的重要性，滴色素的工具何者比較能幫助我們進行濾紙色層分析實驗，我們使用了三種工具來滴色素，分別是：玻璃毛細管管徑大小差異來控制改變色素滴液的直徑與蓋玻片，因為是用側面的蓋玻片來橫向滴入色素，多次平放色素濾液，所以色素滴液非點狀而是線型分布。

七、植物是否照光與色素探討實驗：

我們想要了解照光植物與無照光植物的色素種類差異與含量差別，我們選用了市場常見的韭菜與韭黃來做為原料。光從外表觀察，韭菜明顯比韭黃翠綠許多，韭黃是否含有葉綠素？韭黃會是只有胡蘿蔔素或葉黃素嗎？我們將韭菜與韭黃，一樣都是烘箱中 45 度烘乾 8 小時，為了分析光合色素的含量，我們使用丙酮做為色素萃取溶劑，但為了分析葉黃素，我們也用石油醚萃取色素。

	模擬無照光植物(黃色植物)色素	模擬照光植物(綠色植物)色素
針對光合色素	韭黃+丙酮	韭菜+丙酮
針對葉黃素	韭黃+石油醚	韭菜+石油醚

八、酸鹼對色素組成影響的實驗：

我們想要了解酸鹼對色素的影響，所以用了乙酸溶液來提供酸性環境，純乙酸測得的 pH 值接近 3，配置飽和碳酸鈉水溶液測得 pH 值接近 11，而萃取色素的方法為：

1. 將 1 毫升的飽和碳酸鈉溶液或純乙酸加入試管中
2. 再加入 0.5 克的乾燥葉粉末
3. 用解剖針將混合液攪拌均勻
4. 再加入 3 毫升的丙酮或石油醚
5. 用震盪器輕輕震動

除了選用丙酮做為萃取溶劑外，也使用石油醚的原因是，除了探討葉子光合色素組成之外，也想進一步分析葉黃素的含量比較(從實驗一結果知道石油醚只能萃取出葉黃素和疏水性更大---親油性的色素)，所以我們設計 4 個實驗組進行，分別是：

1. 先用純乙酸處理葉片，再用丙酮萃取葉片的色素

2. 先用飽和碳酸鈉水溶液處理葉片，再用丙酮萃取葉片的色素
3. 先用純乙酸處理葉片，再用石油醚萃取葉片的色素
4. 先用飽和碳酸鈉水溶液處理葉片，再用石油醚萃取葉片的色素

為了排除色素以外的物質，葉子中還有其他因素與酸鹼起反應，我們另外也設計了先以丙酮或石油醚做為萃取溶劑的濾液，再加入碳酸鈉溶液或純乙酸浸泡後再進行色層分析，步驟為：

1. 將 3 毫升的丙酮或石油醚加入試管中
2. 再加入 0.5 克的乾燥葉粉末
3. 用震盪器輕輕搖晃後避光處理
4. 浸泡 5 天後將浸液倒入離心管離心，每分鐘 3500 轉離心 15 分鐘
5. 再加入 1 毫升的飽和碳酸鈉溶液或純乙酸

所以，我們還有四個實驗組，分別是：

1. 先用丙酮萃取葉片的色素，再以純乙酸處理浸液
2. 先以丙酮萃取葉片的色素，再用飽和碳酸鈉水溶液處理浸液
3. 先用石油醚萃取葉片的色素，再以純乙酸處理浸液
4. 先以石油醚萃取葉片的色素，再用飽和碳酸鈉水溶液處理浸液

	模擬色素在酸性環境	模擬色素在鹼性環境
針對光合色素	純乙酸+丙酮	飽和碳酸鈉水溶液+丙酮
針對葉黃素	純乙酸+石油醚	飽和碳酸鈉水溶液+石油醚

九、在國中普遍常用濾紙以色層分析的方式：

1. 利用直徑約 4.2 公分廣口瓶調配展開液 7.0ml，使用丙酮:石油醚與 100ml 量筒配丙酮:石油醚(9:1)展開液 5.0ml。
2. 用鋁箔紙蓋上廣口瓶並等待數分鐘。
3. 將常用濾紙修剪為長 12cm 寬 3cm 的長條，於濾紙兩邊距離底部 0.5cm 處，向底部中點剪下形成尖端，用鉛筆做好距離記號。在色層分析前，烘箱乾燥濾紙 30 分鐘。
4. 用粗與細毛細管取萃取液滴至常用濾紙離底部 1.0cm 處，用吹風機冷風吹乾並重複 5 次、10 次、20 次。
5. 分析專用濾紙，以細毛細管取萃取液滴至濾紙離底部 3.0cm 處，用吹風機冷風吹乾並重複 5 次、10 次。
6. 用鑷子將已滴好色素的濾紙垂直放進量筒中(濾紙尖端朝下)，並蓋上蓋子進行展開

伍、實驗結果：

一、使用不同的有機溶劑來萃取色素的效果不同：

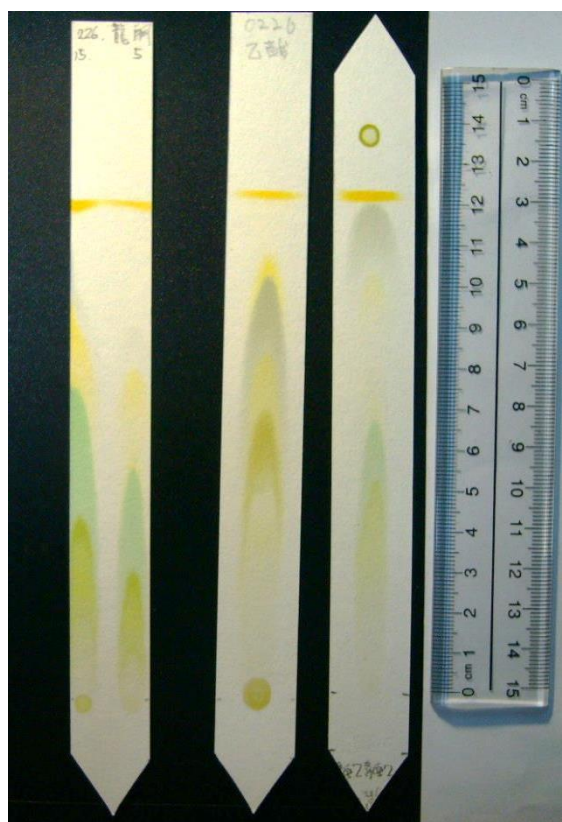
▲由左到右分別為：乙醇，乙醇+石油醚，乙酸乙酯作為溶劑來萃取色素，經丙酮與石油醚展開。	▲由左到右分別為：丙酮，乙酸乙酯乙醇，作為溶劑來萃取色素，經丙酮與石油醚展開。

表 1 用不同有機溶劑來萃取色素經丙酮與石油醚展開後色素的 Rf 值分析表

	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
丙酮	1.0000	0.9618	0.8399	0.5496	0.4351
丙酮	1.0000	0.9692	0.8462	0.5462	0.4615
丙酮	1.0000	0.8116	0.7358	0.5302	0.3412
丙酮	1.0000	0.8527	0.7131	0.4651	0.3101
丙酮	1.0000	0.9070	0.7674	0.5426	0.3953
丙酮(平均)	1.0000	0.9005	0.7805	0.5264	0.3886
	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
石油醚	1.0000	0.8931	0.7556	未出現	未出現
石油醚	1.0000	未出現	0.6290	未出現	未出現
石油醚	1.0000	未出現	0.7440	*無法計算	*無法計算
石油醚(平均)	1.0000	0.8931	0.7095	*無法計算	*無法計算
	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
乙醇	1.0000	未出現	0.5991	0.3592	0.2114
乙醇	1.0000	0.8583	0.7480	0.5039	0.4200
乙醇	1.0000	0.6917	0.5917	0.4584	0.3250
乙醇	1.0000	0.6417	0.4917	0.4083	0.3250
乙醇(平均)	1.0000	0.7306	0.6076	0.4325	0.3203
	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b

石油醚+乙醇	1.0000	0.9322	0.7953	0.6378	0.3858
石油醚+乙醇	1.0000	0.8085	0.7384	0.5614	0.3776
石油醚+乙醇	1.0000	0.9200	0.7960	0.6800	0.5120
石油醚+乙醇	1.0000	0.9440	0.8048	0.7680	0.5920
石油醚+乙醇 (平均)	1.0000	0.9012	0.7836	0.6618	0.4669
	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
乙酸乙酯	1.0000	0.8245	0.6914	0.4412	0.3661
乙酸乙酯	1.0000	0.7923	0.6692	0.4384	0.3758
乙酸乙酯	1.0000	0.9760	0.8320	0.5360	0.4200
乙酸乙酯	1.0000	0.9573	0.8125	0.5128	0.4188
乙酸乙酯(平均)	1.0000	0.8875	0.7513	0.4821	0.3952

* 石油醚組所萃取到的葉綠素量太少，濾紙展開液揮發後，色素無法以肉眼判別位置。所以無法計算出 Rf 值

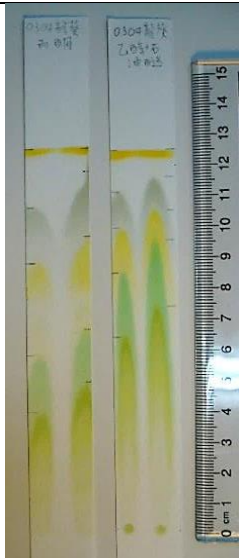
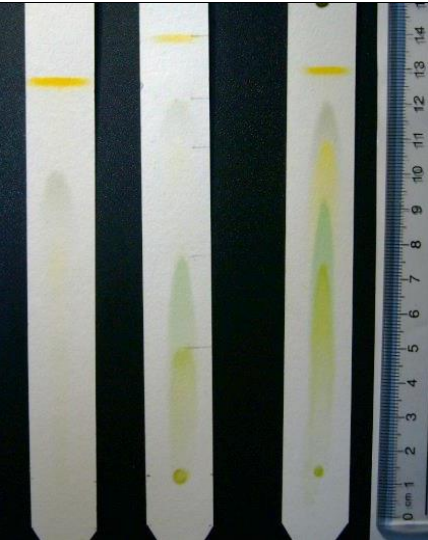


▲不同萃取溶劑取得的色素，經丙酮與石油醚濾紙色層分析展開後濾紙照片：由左到右分別為丙酮、乙酸、乙酸乙酯；乙酸只萃取後色素。中張濾紙顯示在乙酸萃取之色素有許多顏色與丙酮或乙酸乙酯溶劑萃取的有許多差異。

表 2 用乙酸溶劑來萃取色素經丙酮與石油醚展開後色素的 Rf 值分析表

	未知色素 (橙)	未知色素 (灰)	未知色素 (黃)	未知色素 (棕褐)	未知色素 (綠褐)
--	-------------	-------------	-------------	--------------	--------------

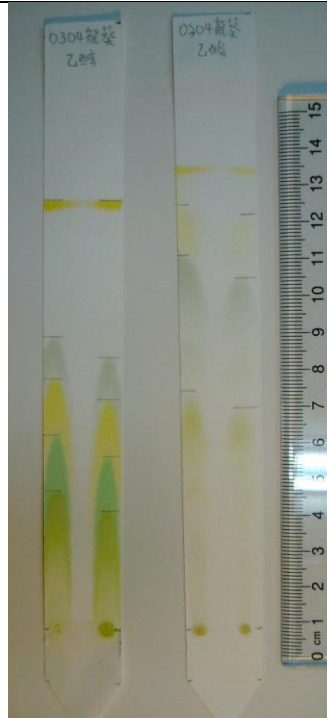
乙酸	1.0000	0.8894	未出現	0.8356	0.6447
乙酸	1.0000	未出現	0.9147	0.8101	0.5194
乙酸	1.0000	未出現	0.8984	0.7656	0.4961
乙酸(平均)	1.0000	0.8894	0.9066	0.8038	0.5534

		
▲左邊濾紙為丙酮溶劑取得的色素經丙酮與石油醚濾紙色層分析展開後照片，濾滴右欄較多；右為乙醇+石油醚溶劑取得的色素經丙酮與石油醚濾紙色層分析展開後照片，右欄濾滴較多	▲不同萃取溶劑取得的色素，經丙酮與石油醚濾紙色層分析展開後照片：由左到右分別為乙酸、石油醚、丙酮；石油醚只萃取出葉黃素。	▲不同萃取溶劑取得的色素，經丙酮與石油醚濾紙色層分析展開後照片：由左到右分別為石油醚、乙醇、乙酸乙酯。

從圖片上可以得知，萃取色素時效果比較良好的溶劑為：丙酮、乙醇+石油醚、乙酸乙酯。用乙醇進行萃取色素時：從 R_f 值可以發現，除了胡蘿蔔素以外，乙醇組的色素的 R_f 值異常偏低。乙酸萃取色素時：葉黃素可能變質了，所以顏色很不明顯不意判讀，而葉綠素 a 與葉綠素 b 的顏色變得與文獻探討資料中描述的藍綠色或橄欖綠差別大，單從色素在濾紙位置與顏色無法確定是否真的為葉綠素 a 與 b，而乙酸處理後的光合色素在色層分析時 R_f 值偏高(色素極性較小)。石油醚能萃取出較大量葉黃素、去鎂葉綠素和胡蘿蔔素，葉綠素 a、葉綠素 b 的量極少，幾乎無法辨別，但若想要針對葉黃素或胡蘿蔔素進行研究，石油醚會是個良好的溶劑。



石油醚溶劑取得的色素，經丙酮與石油醚濾紙色層分析展開後照片：石油醚萃取出葉黃素較明顯，但葉綠素量很低，不易在平面拍照時呈現，所以利用檯燈 LED 提供輔助光源，直立拍下濾紙。



不同萃取溶劑取得的色素，經丙酮與石油醚濾紙色層分析展開後照片：由左為乙醇，濾滴左欄較多；右為乙酸，濾滴左欄較多。

二、比較在色層分析時使用不同色素濾液滴入法的差異性。

從圖片上可以看到溫度 65 度的實驗組可以發現，去鎂葉綠素的量變多，而 80 度的實驗組並無法良好的展開，很多色素變成都疊在一起無法展開辨認。萃取色素時，乾燥葉子的烘乾溫度，應對色素結構變化有所關連性。更進一步，對不同溫度處理下的色素濾液進行色層分析時，展開的效果也有影響。

溫度	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
65 度	1.0000	0.8293	0.7073	0.5976	0.4268
					
80 度	1.0000	0.9857	色素疊在一起，無法計算	0.9571	0.8429
					

三、選用色層分析專用濾紙時，使用不同色素滴入法，色層分析展開後的結果差異不大。

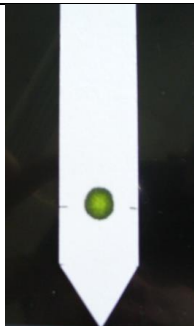
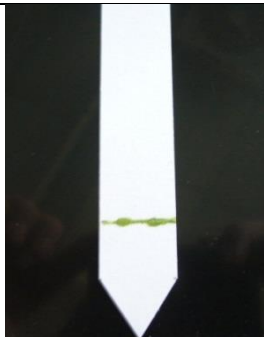
		
▲展開前點狀濾滴用毛細管左口徑比右粗。		▲展開前線狀濾滴(蓋玻片)
		
▲由上至下為：蓋玻片、粗毛細管、細毛細管；點狀比線狀濾滴展開時更易分析。		

表 3 用不同工具取濾液滴在濾紙上經丙酮與石油醚展開後色素的 Rf 值分析表

色素的 Rf 值	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
粗毛細管	1.0000	0.9213	0.8346	0.7923	0.5669
細毛細管	1.0000	0.8790	0.7580	0.6694	0.4597
蓋玻片	1.0000	0.7559	0.6220	0.3937	0.2362

在尚未展開的濾紙可以看到，蓋玻片組的色素濾液雖能線狀分布，但卻無法均勻，而且色層分析的結果色素量也遠低於使用毛細管的濾紙，除判讀不易外，展開後液較難算出值，但只要是點狀濾滴，直徑較大的毛細管和直徑較小的毛細管的效果也都差不多，所以在相同溶劑的色素溶液滴落於濾紙時選用的工具，對於展開的效果與色素並不會有太大的影響。

四、有照光植物與無照光植物之色素差

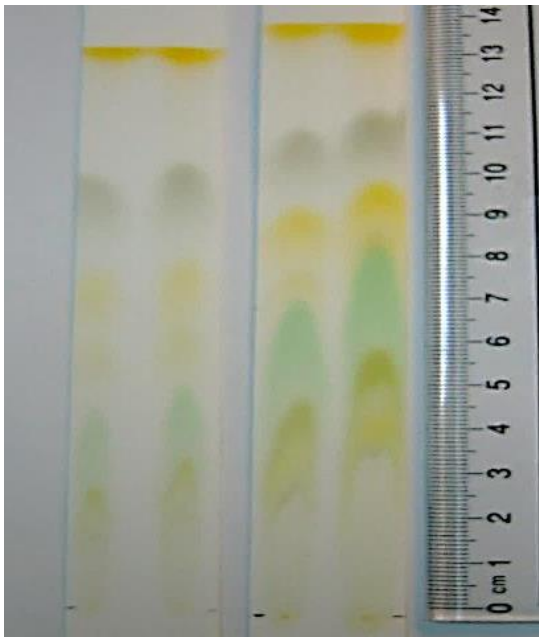
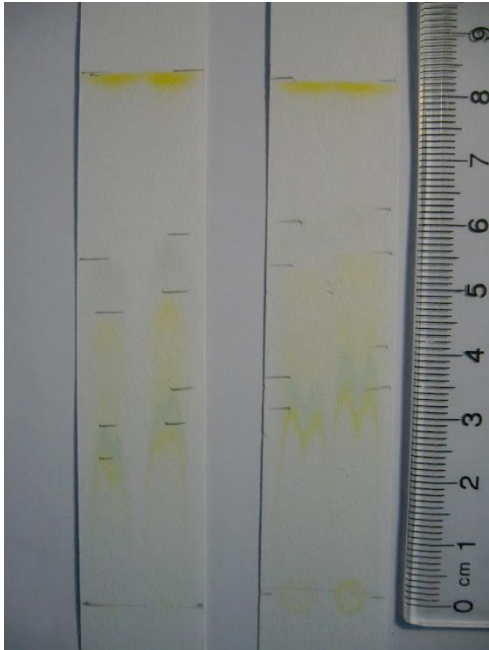
韭菜分別以石油醚(左張濾紙)與丙酮(右張濾紙)萃取後，經丙酮與石油醚展開進行色層分析，展開後結果。	韭菜黃分別以石油醚(左張濾紙)與丙酮(右張濾紙)萃取後，經丙酮與石油醚展開進行色層分析，展開後結果。
	
濾滴左欄 5 滴，右欄 15 滴	濾滴左欄 35 滴，右欄 50 滴

表 4 韭菜與韭黃色素濾液經丙酮與石油醚展開後，色素的 Rf 值分析表

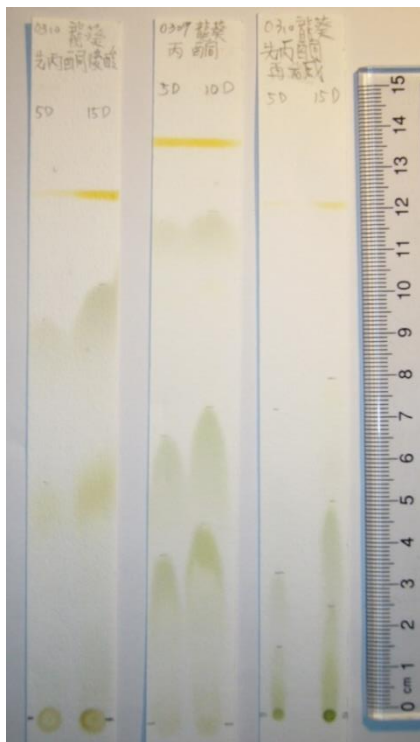
	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
韭菜+丙酮	1.0000	0.8723	0.7769	0.6846	0.4307
韭菜+丙酮	1.0000	0.7843	0.6245	0.3763	0.2473
韭菜+丙酮	1.0000	0.7936	0.6349	0.4444	0.2723
韭菜+丙酮(平均)	1.0000	0.8167	0.6788	0.5018	0.3168
韭菜+石油醚	1.0000	0.6666	0.4924	0.2272	0.1363

韭菜+石油醚	1.0000	0.7819	0.5939	0.4060	0.3233
韭菜+石油醚(平均)	1.0000	0.7243	0.5432	0.3166	0.2298
韭黃+丙酮	1.0000	未出現	0.7465	未出現	未出現
韭黃+丙酮	1.0000	0.7160	0.6420	0.4118	0.3529
韭黃+丙酮	1.0000	0.7654	0.6790	0.4938	0.4198
韭黃+丙酮(平均)	1.0000	0.7407	0.6605	0.4528	0.3864
韭黃+石油醚	1.0000	0.6471	0.5529	0.3412	0.2824
韭黃+石油醚	1.0000	0.6941	0.6000	0.4118	0.3529
韭黃+石油醚(平均)	1.0000	0.6706	0.5765	0.3765	0.3177

從圖片可以看出，韭黃只有少量的葉黃素、胡蘿蔔素、葉綠素 a 與葉綠素 b，而韭菜的各種色素量都十分多，所以光照下有行光合作用的韭菜光合色素都比沒行光合作用的韭菜黃多元。

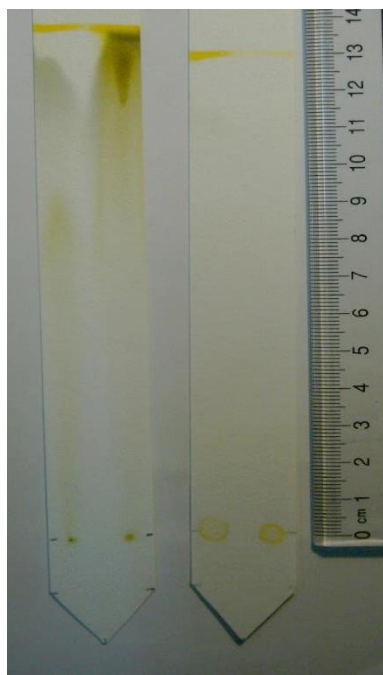
而且我們還發現，韭菜和韭黃菜用石油醚甚至可以萃取出大量的葉綠素 a 與葉綠素 b，但龍葵在石油醚中只能萃取出少量的葉綠素 a 與葉綠素 b。

五、酸鹼對色素破壞所產生的影響



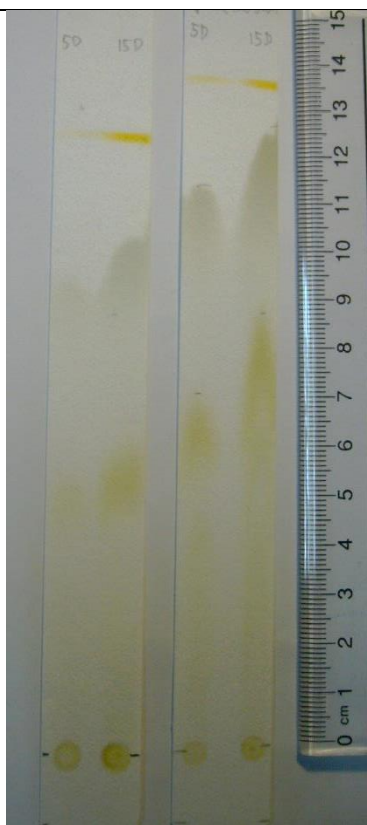
經丙酮萃取後經丙酮與石油醚展開色層分析結果:

左張濾紙:先丙酮萃取濾液再加入乙酸處理，左欄濾滴次數重複 5 次，右欄 15 次、中張濾紙:丙酮萃取濾液，作為對照組，左欄濾滴次數重複 5 次，右欄 10 次;右張濾紙:為丙酮萃取濾液再加入碳酸鈉處理，左欄濾滴次數重複 5 次，右欄 15 次。酸或鹼的處理對所萃取之色素影響不同。



經石油醚萃取後經丙酮與石油醚展開色層分析結果:

左張濾紙:先乙酸處理,再用石油醚萃取濾液,左欄濾滴次數重複 5 次,右欄 20 次、右張濾紙: 先用石油醚萃取濾液,再加入乙酸處理,左欄濾滴次數重複 20 次,右欄僅 10 次。石油醚萃取色素會在乙酸存在時,色素都疊在一起分不清顏色差異,不能分辨所以無法算 Rf 值。



經丙酮萃取後經丙酮與石油醚展開色層分析結果:

左張濾紙: 先丙酮萃取濾液再加入乙酸處理,左欄濾滴次數重複 5 次,右欄 15 次;右張濾紙: 先乙酸處理,再用丙酮萃取濾液,左欄濾滴次數重複 5 次,右欄 15 次。酸的處理先後,對丙酮所萃取的色素影響不大。乙酸的添加,會使萃取色素的顏色發生變化。

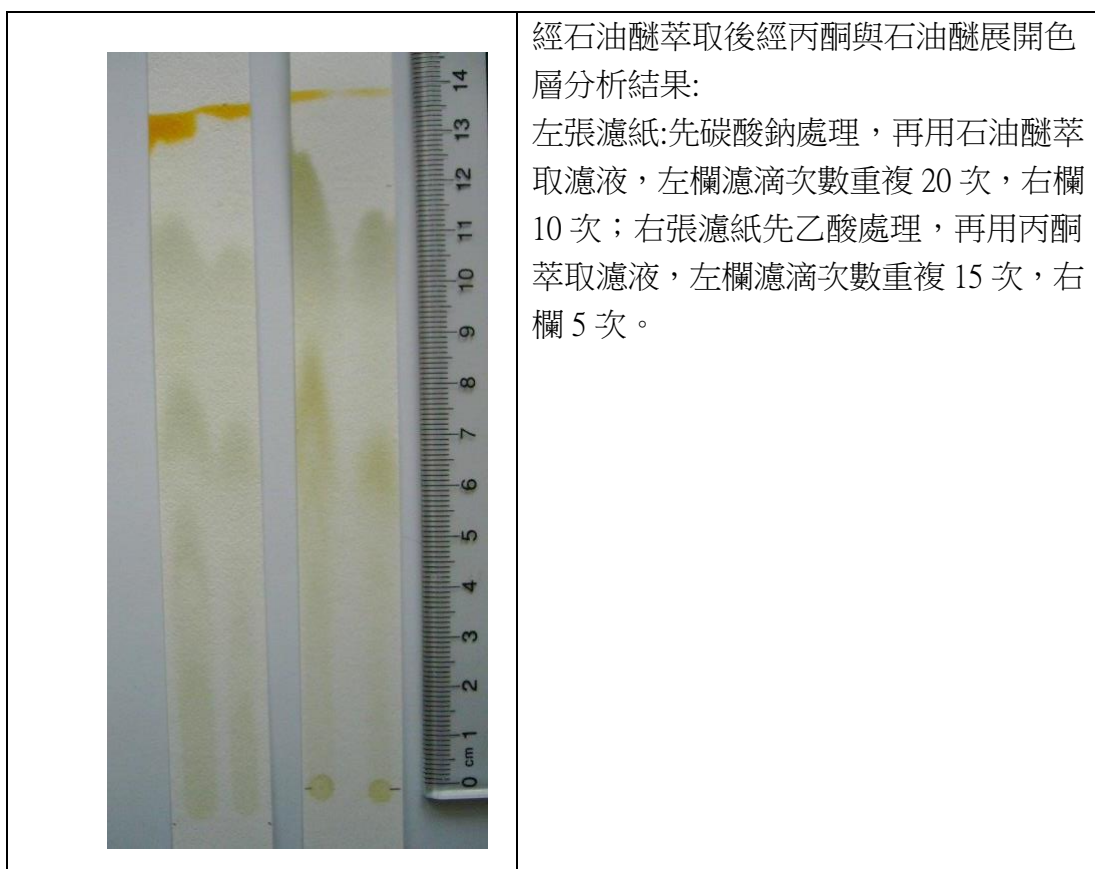
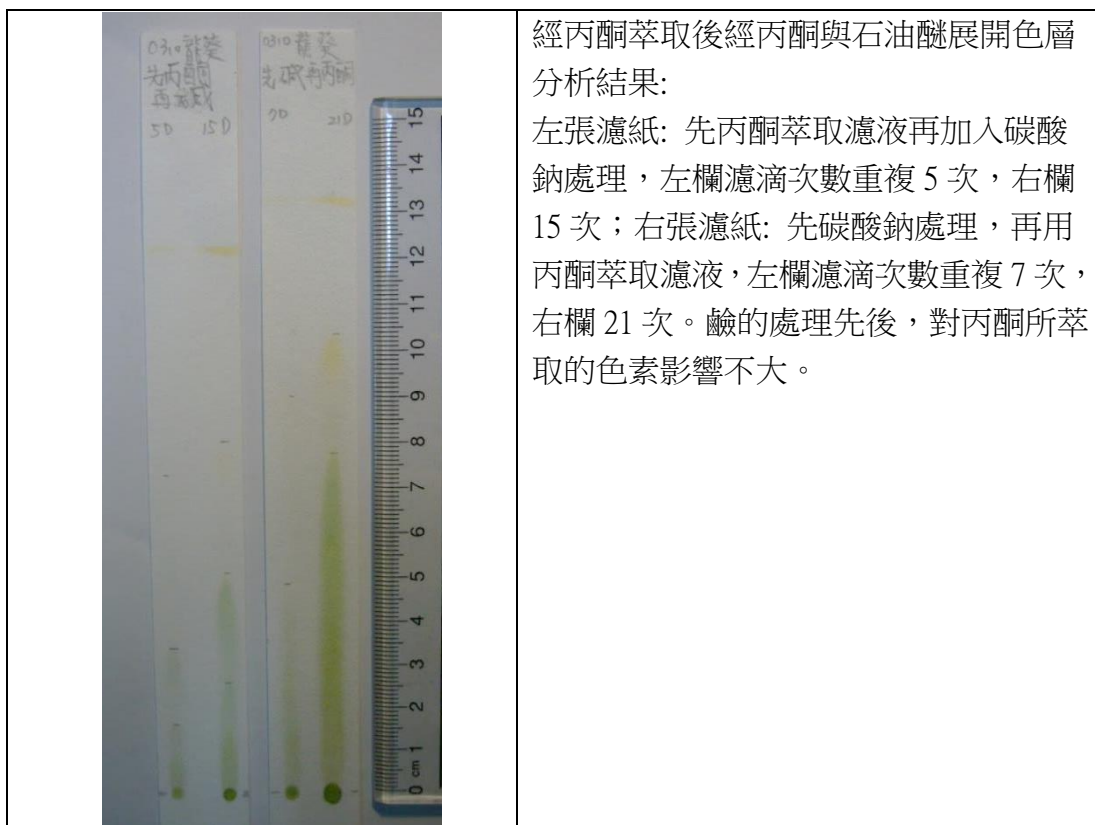


表 5 以酸或鹼在處理後取色素萃取液的濾液，經丙酮與石油醚展開後，色素的 Rf 值分析表

	胡蘿蔔素	去鎂葉綠素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
碳酸鈉+丙酮	1.0000	未出現	0.7432	0.5627	0.4362
碳酸鈉+丙酮	1.0000	未出現	0.6742	0.3358	0.2547
平均	1.0000	未出現	0.7087	0.4493	0.3455
碳酸鈉+石油醚	1.0000	0.8641	未出現	0.6452	0.4351
碳酸鈉+石油醚	1.0000	0.8235	未出現	0.6231	0.3632
平均	1.0000	0.8438	未出現	0.6342	0.3992
丙酮+碳酸鈉	1.0000	未出現	0.5261	0.3145	0.1256
丙酮+碳酸鈉	1.0000	未出現	0.7235	0.3561	0.2638
平均	1.0000	未出現	0.6248	0.3353	0.1947

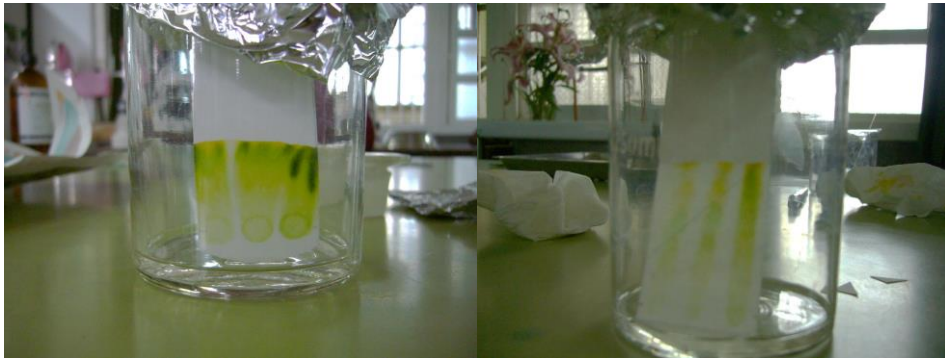
	未知色素 (橙)	未知色素 (灰)	未知色素 (黃)	未知色素 (棕褐)	未知色素 (綠褐)
乙酸+丙酮	1.0000	0.7462	未出現	未出現	0.3751
乙酸+丙酮	1.0000	0.8451	未出現	未出現	0.4921
乙酸+丙酮(平均)	1.0000	0.7957	未出現	未出現	0.4336
乙酸+石油醚	1.0000	0.9241	未出現	未出現	0.4791
乙酸+石油醚	1.0000	色素疊在一起，無法計算			
乙酸+石油醚(平均)	1.0000	0.9241	無法計算	無法計算	0.4791
丙酮+乙酸	1.0000	0.8423	未出現	未出現	0.5361
丙酮+乙酸	1.0000	0.9764	未出現	未出現	0.7452
丙酮+乙酸(平均)	1.0000	0.9094	未出現	未出現	0.6407
石油醚+乙酸	1.0000	未出現	未出現	未出現	未出現
石油醚+乙酸	1.0000	未出現	未出現	未出現	未出現
石油醚+乙酸(平均)	1.0000	未出現	未出現	未出現	未出現

*「碳酸鈉+丙酮」代表先用飽和碳酸鈉水溶液處理葉片，再用丙酮萃取葉片的色素，「丙酮+碳酸鈉」代表先以丙酮萃取葉片的色素，再用飽和碳酸鈉水溶液處理浸液，其餘也一樣。

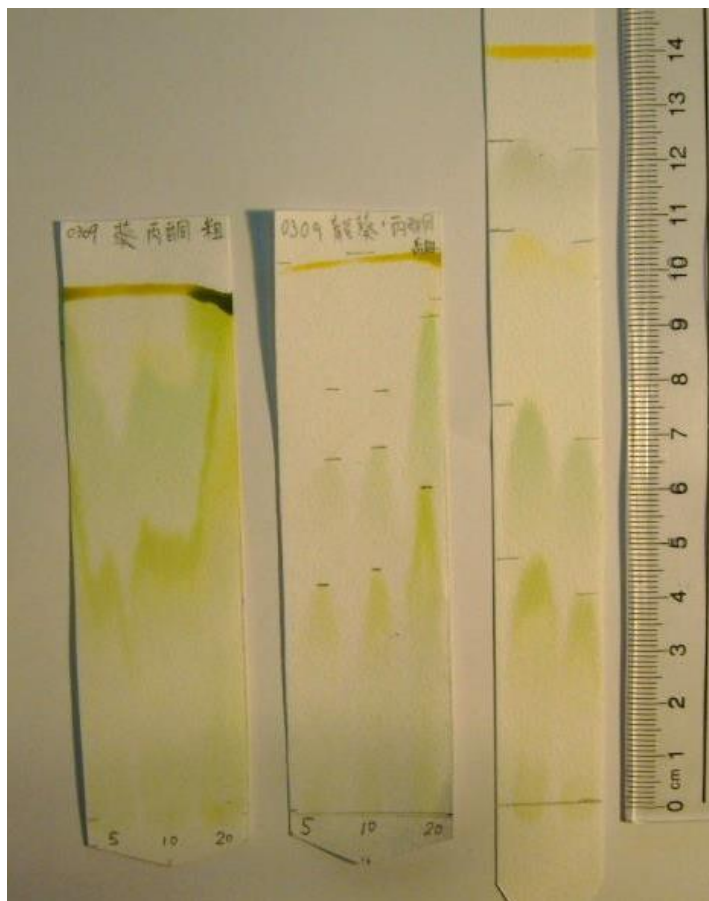
以石油醚作為溶劑時，前面實驗顯示其應對葉子色素具有溶解力，能從上圖片可以看出，酸性處理對色素卻比較有結構上的影響，因為濾紙上可看出改變了色素的本質、顏色、分子結構。鹼性處理後，色層分析時有許次證據顯示，因萃取溶劑(丙酮、石油醚)只加入 3 毫升使色素量降低許多，但在濾紙上所呈現出的葉黃素與葉綠素 a、葉綠素 b 不論是 Rf 值或各色素顏色與對照組(先前的實驗)相比皆無太大差異破壞。葉子先經乙酸處理再以石油醚萃取色素時，濾紙中色素都疊在一起分不清顏色差異，不能分辨所以無法算 Rf 值。但我們並沒有做「葉子先經石油醚萃取色素再以碳酸鈉處理」的原因是：石油醚色素萃取液與飽和碳酸鈉水溶液產生分層的現象，

無法良好的將石油醚色素萃取液模擬鹼性環境。

六、國中普遍常用濾紙以色層分析的方式：



▲ 丙酮為溶劑萃取的色素，經丙酮與石油醚分別在廣口瓶中展開色素的情形，左圖使用粗毛細管，右圖使用細毛細管。



經普通濾紙與分析專用濾紙進行色層分析展開後照片：由左而右分別：普通濾紙-粗毛細管、普通濾紙-細毛細管、專用濾紙-細毛細管。

使用普通濾紙時，粗毛細管會取到較大量的濾液含過量色素在色層分析時使當

色素含量太高，會不利於展開與分析。普通濾紙剪裁時寬度與高度會限制展開濾紙的時間，所以對展開場所或色層分析展開效果會造成差異。

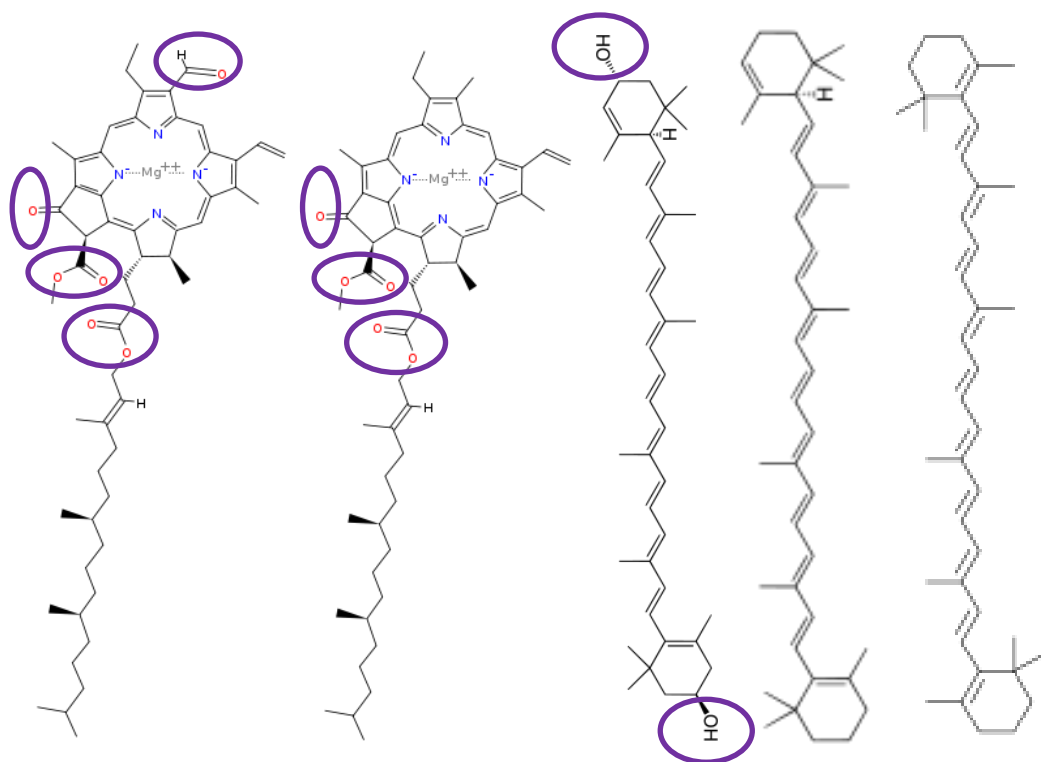
陸、 討論

- 一、文獻探討時，查詢到有些前人實驗都有討論到關於環境溫度，或新鮮葉片經破壞時釋出的酸性活化酵素，會改變色層分析時植物色素的組成形式。實驗中，我們先將葉片乾燥溫度，作為操作變因來探討，烘箱的溫度對於同批植物其進行色層分析時，色素組成的影響，避免直接用新鮮葉片萃取光合色素。避免使用新鮮葉片就能製備出大量色素，是否可能在新鮮植物葉片中含有分解色素的酵素群，會在葉片遭外力破壞時，就先分解了色素大大不但降低葉子色素的萃取量，分析時也會產生結構異常的色素。
- 二、透過不同的人工式(費時)與機械式(省時或費工)碎小化葉片處理，來比較在色層分析時，經相同溶劑萃取的植物色素的量，尋找出較佳溶解度的植物色素。所得的結果是盡量讓葉片呈乾燥與粉末化，可能是新鮮葉子需要量要夠多，並且在常溫下研磨很耗時，去除雜質時選用的大片紗布或咖啡濾紙每每都吸附與殘留大量色素，缺乏經濟效益，所以後來決定採用乾燥葉片的方式，提升濾液中的色素濃度。而且換成秤葉片乾重更容易作葉片定量的設計，所以我們捨棄用分光光度計定量色素的實驗設計，只需要每次秤出的葉片乾重固定，並溶解在相同體積的色素萃取有機溶劑中，即可更掌握每次實驗葉片的控制變因(如不受葉片採集時，天氣狀況或時間影響植物葉片水分多寡)，還可排除北台灣季節差異，形成的空氣濕度的變化。
- 三、用研鉢裝以研磨杵磨碎成小細片或蔬果研磨機等速分段磨碎葉片(分次在 5 秒內絞碎，避免高速旋轉軸心，造成溫度上升過高破壞葉片細胞成分)，以撈油網或泡茶專用濾網再次過篩選掉大葉片與殘留的葉脈，來去除葉片以外的部分(在我們實驗中視為雜質)結果乾燥後葉子可捏碎並用研鉢或機器磨小，越小的葉片粉末可越縮短溶劑溶出色素的時間並提高萃取色素濃度，還有少量植物葉片，靠微波爐高功率分次，直接在盤子上加熱(需墊著廚房紙巾吸水，縮短乾燥時間，並易擺放溫度計以控制溫度，也可適時替代烘箱長時間的乾燥。一方面省電也省時，可以在提升葉片濾液色素濃度時，找到節能減碳又環保的方法。
- 四、選定實驗材料時，我們認為民間常食用的野菜植物龍葵，比分析化學或生物實驗常用的綠色植物:菠菜，含有更高濃度的植物色素，可以在未來用其他定量分析方式，進一步求證龍葵葉片中高濃度比例的光合色素量，並加以探討色素濃度高低，在生物演化適應有無其存在原因，可以提供國人適當的天然綠色食材外，也提供一個另類新選擇---天然植物龍葵的綠色素，找到低價替代法，避免銅葉綠素的食安危機發生，杜絕再用廉價人工色素來加工食品的恐怖食安事件。
- 五、不須高貴分析儀器或超高速離心機，找出國中生在有限校園實驗器材設備中，取材最佳的色層分析法定量，用來探討未來我們想知道，對於同種植

物夏天生長的高溫與冬天的低溫，是否會改變其色素的組成，設法尋找最佳攝取綠色植物或建立獲取較高量葉黃素的正確種植作物的溫度條件，並建議能否考量將龍葵葉納入學童營養午餐的菜色，做成炒飯或炒蛋的配料或蔬菜湯食材，來維護學子的視力健康，避免大量視電教學雖能活化教學，卻犧牲掉靈魂之窗的使用期限。

六、關於溶劑極性大小對萃取色素的影響：在色層分析的實驗中，萃取液(溶劑)的角色是將葉子的色素萃取出來，而親油性的色素(胡蘿蔔素、葉黃素)容易被極性小的溶劑(石油醚)萃取出來，親水性的色素(葉綠素 a、葉綠素 b)容易被極性大的溶劑(水、乙醇)萃取出來。

在實驗一我們已經了解到溶劑對萃取的色素有極大的影響，像是乙酸的高酸度會嚴重的破壞色素；丙酮和乙酸乙酯的中極性可以將各種色素都萃取出來；乙醇的高極性則能萃取大量的葉綠素 a,b，但葉黃素和胡蘿蔔素萃取量則較少；而低極性的石油醚在中只能萃取出葉黃素、去鎂葉綠素和胡蘿蔔素和少許的葉綠素 a、葉綠素 b。較特別的實驗組，就是石油醚+乙醇組，它兼有兩種溶劑的特性，所以它的極性算是不高也不低，可以將各種色素都萃取出足夠的量。但是，在其他實驗中，我們不用石油醚+乙醇的原因，是因為石油醚(戊烷與己烷)和乙醇不能非常良好的互溶，擔心影響色素分析實驗結果。



▲由左到右分別為(色素極性大小由大到小，紫色標出可產生氫鍵的部分)：

葉綠素 b，葉綠素 a，葉黃素， α -胡蘿蔔素， β -胡蘿蔔素(α -胡蘿蔔素和 β -胡蘿蔔素極性一樣)

七、色素被破壞的可能因素有四個：

- 1.烘乾葉子時，色素遭高溫破壞
- 2.萃取色素時，色素遭溶劑破壞
- 3.萃取色素時，再浸泡 5 天的過程遭光分解
- 4.在滴色素時，色素被吹風機的高溫破壞

不過，第 3 個因素與第 4 個因素已經被我們排除掉了，因為我們在浸泡 5 天的過程，我們用鋁箔將試管包覆住，再放入暗箱，而用吹風機時，我們溫度調最低，用溫度計測量吹 10 秒，溫度從 18 度升高到 28 度，而在第 2 個因素的明顯範例，實驗一的乙酸組最能展現此因素的破壞程度，不過在石油醚組，我們有發現到去鎂葉綠素，而會出現去鎂葉綠素的因素只剩兩個：

- 1.烘乾葉子時，色素遭高溫破壞
- 2.萃取色素時，色素遭溶劑破壞

但若只有因素 2 的話，石油醚組應該只會出現胡蘿蔔素與葉黃素（因為這樣葉子裡只會有葉黃素、胡蘿蔔素、葉綠素 a,b，而石油醚只能萃取出極性低的色素，所以展開出來因該只會出現胡蘿蔔素與葉黃素）所以，產生去鎂葉綠素絕對是由因素 1 影響，而丙酮與石油醚會不會破壞色素就不得而知了，因此在 45 度下就已經足以破壞色素了。

八、在實驗五我們已經了解到韭菜含有大量的各種色素，而韭黃只含有少量的色素，因此，如果想要攝取到大量的葉黃素，還是攝取有照光的蔬菜（如：韭菜、菠菜……），所以我們不因該因為韭黃看起來很黃就認定它的胡蘿蔔素與葉黃素較多，而韭菜看起來很綠就認定它的胡蘿蔔素與葉黃素較少。比較韭菜與韭黃所含色素時，有照光的韭菜，代表光合作用效率高的植物，其中葉片色素含量經實驗證實，會比沒有有效光合作用的韭黃多。該在天氣好時採收葉菜植物並趁鮮取食，以得到較高的營養成分。

九、從實驗一的乙酸組，可以發現色素遭到非常嚴重的破壞，失去它原有的外觀、顏色；而在實驗五，也可以發現酸性的樣本，不論是石油醚還是丙酮，也都改變了原有的顏色，但是實驗五的鹼性樣本中，色素卻未遭到任何壞，只是含量變少，而含量變少的原因是因為我們只有加 3 毫升的丙酮或石油醚，而「先用飽和碳酸鈉溶液處理葉片，再用丙酮萃取葉片的色素」的實驗組與「先用丙酮萃取葉片的色素，再以飽和碳酸鈉溶液處理浸液」的實驗組，和實驗一的丙酮組非常類似；而「先用飽和碳酸鈉溶液處理葉片，再用石油醚萃取葉片的色素」的實驗組與「先用石油醚萃取葉片的色素，再以飽和碳酸鈉溶液處理浸液」的實驗組，則和實驗一的石油醚組十分類似。

但是，在實驗一的石油醚組只能萃取出葉黃素與胡蘿蔔素，而實驗五的「先用純乙酸處理葉片，再用石油醚萃取葉片的色素」組卻萃取出很多色素，而且顏色都相當詭異，有三種可能的因素：

- 1.色素先被乙酸破壞後，才被石油醚萃取出來

2.色素先被石油醚萃取出來後，才被乙酸破壞

3.其他變質的色素是被乙酸破壞與萃取出來，而非石油醚萃取出來

不過，若只是因素 2 的話，那乙酸+石油醚組只會有被破壞的葉黃素與被破壞的胡蘿蔔素，而不會有如此多樣的色素(在「先用石油醚萃取葉片的色素，再以純乙酸處理浸液」的實驗組已印證了)；而若只是因素 3 的話，變質的色素只會萃取出少量，不會如此的多。而且在實驗裡我們也有發現，因酸性而變質的色素 Rf 值偏高(極性小)，因此，它也應可被石油醚萃取出來，所以，因素 1 是絕對有的，因素 2 和 3 則是可能也有的。

鹼對色素沒有太大的影響，所以微量的鹼對色素是有益的，因為它可以中和酸，防止色素被破壞。

十、我們人體的消化系統中，食物會先經過口腔初步磨碎後再進入消化道，並暫儲在胃，而胃裡的消化液含鹽酸是強酸，若食物並沒有先經過鹼性處理，我們從葉菜類的食物中只能攝取到少量的葉黃素，甚至是性質已經改變的植物色素。廣告上面的葉黃素保健食品，也必須在小腸中才發揮作用，才可以達到最大的效果，否則，它在胃裡就會被破壞了。當葉黃素被製成腸衣錠，才能在小腸消化與吸收，所以能攝取人體需要的量，但要注意，若要避免短時間大量的葉黃素或許引起其他身體不適的副作用時，選用長效性的緩慢釋放藥效，在設計葉黃素或其他光合色素藥錠時將會安全許多。

柒、 結論

- 一、對於進行色層分析實驗前，葉子的材料可先在高於室溫也不得更高溫的烘箱乾燥，再進行色素萃取。
- 二、對於脂溶性光合色素的萃取，最好的選用溶劑為乙酸乙酯或是丙酮，但若是針對胡蘿蔔素與葉黃素，選用溶劑中含有石油醚可得到更多的溶解量。
- 三、取得葉子色素時，對於葉片乾燥過程中，烘乾的溫度控制對色素的化學結構特性是絕對有關係的。烘乾時溫度越高，雖然乾燥速度較快，但色層分析時展開的效果使判讀性變差，對於色素的結構都會有改變。
- 四、在色層分析實驗，如果使用價格低的普通濾紙須用細的毛細管把萃取色素濾液滴在濾紙的工具，控制濾液滴落的大小與濃度可提升展開效果。使用價格高的分析專用濾紙，分析時光合色素展開的不受毛細管管徑大小所影響，濾液滴落的大小與展開效果及色素結構無關。
- 五、同種葉菜類植物比較色素時，自然環境下較有照光，可能光合作用效率高的植物，其中葉片色素含量經實驗證實，會比沒有有效光合作用的植物多。
- 六、若要自飲食中獲的葉黃素須謹慎挑選食材，不該只偏食刻意選擇黃顏色的葉菜類食物，萃取植物色素實證實，從黃色葉菜類的食物中只能攝取到少量的葉黃素。
- 七、大量媒體推廣的葉黃素不僅有視力保健保健食品，必須先搭配其他食物攝

食或在葉黃素食品中添加保護色素的構造這樣在經消化後進入小腸吸收後才能發揮其視力保護作用，才可以達到最大的效果。

捌、參考資料

1. 認識類胡蘿蔔素(PDF):
<https://www.ntuh.gov.tw/DD/education/DocLib6/%E8%AA%8D%E8%AD%98%E9%A1%9E%E8%83%A1%E8%98%BF%E8%94%94%E7%B4%A0.pdf>
2. 葉綠素-學習加油站:
http://content.edu.tw/junior/bio/tc_wc/textbook/ch03/supply3-06.htm
3. 葉黃素:
<http://blog.tmu.edu.tw/d301090006/lutein.pdf>
4. 光合色素的色層分析:
<http://www.ck.tp.edu.tw/~bio/pdf/02020004.pdf>
5. 眼見不為憑：光合色素的濾紙層析分離:
<http://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/47/senior/040716.pdf>
6. 光合色素之層析分離:
<http://163.23.139.2/ezfiles/0/1000/img/51/629221415.pdf>
7. 胡蘿蔔素-維基百科，自由的百科全書
<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%83%A1%E8%90%9D%E5%8D%9C%E7%B4%A0>
8. 葉黃素-維基百科，自由的百科全書
<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%91%89%E9%BB%83%E7%B4%A0>
9. 葉綠素-維基百科，自由的百科全書
<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E5%8F%B6%E7%BB%BF%E7%B4%A0>
10. α -胡蘿蔔素-維基百科，自由的百科全書
<http://zh.wikipedia.org/wiki/%CE%91-%E8%83%A1%E8%98%BF%E8%94%94%E7%B4%A0>
11. β -胡蘿蔔素-維基百科，自由的百科全書
<http://zh.wikipedia.org/wiki/%CE%92-%E8%83%A1%E8%90%9D%E5%8D%9C%E7%B4%A0>
12. 溶劑（Solvent） - 國科會高瞻自然科學教學資源平台 - 國立臺灣大學
<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=4613>
13. 溶劑萃取
<http://59.78.108.100/download/de4c3ccf-9b0c-4271-b900-dfee63af0082.pdf>
14. 光合色素的色層分析
<http://www.ck.tp.edu.tw/~bio/pdf/02020004.pdf>
15. 超臨界、超音波及微波萃取法在生物資源 - 南台科技大學知識分享平台
<http://eshare.stust.edu.tw/View/170578>
http://eshare.stust.edu.tw/EshareFile/2013_6/2013_6_63578df9.pdf