

# 中華民國第 51 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 化學科

佳作

030213

藍瓶真好“酵”

—亞甲藍對酵母菌呼吸作用之探討

學校名稱：宜蘭縣立復興國民中學

作者：  國二 李庭君  國二 林芷綺  國二 柳宇俊	指導老師：  陳信璉  黃立宇
---	-----------------------------

關鍵詞：亞甲藍、氧化還原、酵母菌

# 藍瓶真好“酵”-亞甲藍對酵母菌呼吸作用之探討

## 摘要

「藍瓶」實驗是利用還原糖加入氫氧化鈉、亞甲藍溶液，使之發生藍色的亞甲藍變成無色的亞甲藍的氧化還原反應。

本實驗以葡萄糖、果糖、半乳糖等還原劑，將藍色的亞甲藍還原為無色的亞甲藍，並利用分光光度計測量反應中亞甲藍的透光度，以其數值判斷反應時間，再以分光光度計測量固定時間內藍色亞甲藍的變化量（反應速率），藉此探討不同種類的糖類、不同濃度的糖類和不同濃度的酸鹼影響其反應速率的程度。

因酵母菌呼吸作用為氧化反應，實驗中也發現，呼吸作用的速率和亞甲藍的變色有相關，因此可利用亞甲藍的變色測定呼吸作用的速率。最後以澄清石灰水、二鉻酸鉀和硫酸測得酵母菌在此狀況下是進行呼吸作用而非發酵作用。

## 壹、研究動機

有一天我們無意在科學雜誌上發現一個有趣的實驗，也就是我們俗稱的「藍瓶實驗」，它可以由藍色變無色，再由無色變為藍色，我們便請教老師這是否可作為研究題材。

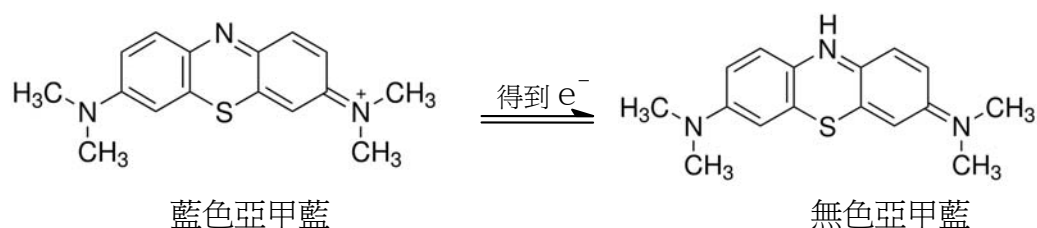
老師告訴我們：「藍瓶」實驗，是一個化學中常見的介紹氧化還原及反應速率的實驗，只要利用葡萄糖加入NaOH，再置入亞甲藍溶液，以前的科展，已經討論有關過濃度、溫度對亞甲藍反應速率的探討，因此在我們這次的實驗中，必需往其它方向討論，因為國一生物有教過，酵母菌的呼吸作用也是一種氧化反應，我們想要探討亞甲藍變色和酵母菌呼吸作用之間的關係，作為此次研究的主題。

## 貳、研究目的

- 一、探討葡萄糖、果糖及半乳糖對亞甲藍還原速率的影響。
- 二、利用酵母菌及葡萄糖的有氧呼吸作用，還原亞甲藍。
- 三、探討酸鹼對還原亞甲藍的影響。
- 四、由以上的實驗結果，推論出亞甲藍和葡萄糖之間的關係，並以亞甲藍的變色推測酵母菌呼吸作用的狀況。

## 參、研究原理

### 一、亞甲藍變色的原理



### 二、利用其它還原劑或方式還原亞甲藍

在本實驗中，測量的反應速率是亞甲藍(又稱亞甲基藍)由藍色變為無色的時間，亞甲藍平時是藍色(氧化態)，葡萄糖是一種還原糖，因此可用來還原亞甲藍。我們想到酵母菌也會有呼吸作用或發酵作用，討論是否可還原亞甲藍，故在亞甲藍中加入酵母菌及葡萄糖，利用酵母菌氧化葡萄糖使亞甲藍被還原。

## 肆、研究設備及器材

- 一、實驗器材：電子秤、碼表、溫度計、刮杓、量筒、滴管、稱量紙、試管刷、分光光度計、血糖檢測器(血糖計)。
- 二、實驗藥品：蒸餾水、亞甲藍、氫氧化鈉、葡萄糖、半乳糖、果糖、醋酸、酵母菌。

## 伍、研究過程或方法

依照研究目的，我們分別設計出以下實驗：

### 一、不同濃度的糖類及不同濃度的NaOH對速率的影響

- (一)配製 100 ppm 的亞甲藍溶液。
- (二)分別以葡萄糖 0.1 M、0.4 M、0.7 M、1.0 M 各 10 ml，以及 NaOH 0.25 M、0.5 M、1 M、2 M、3 M、4 M、5 M 各 10 ml 分別加入 1 ml 亞甲藍，配成 21 ml 的溶液。
- (三)搖動試管二十下，此時水溶液會變藍色(搖動時，手要握在試管塞兩側，避免手溫影響變色時間)。
- (四)利用碼表測量變為無色所需時間，再重複步驟(二)開始至步驟(三)重複9次，並紀錄之。
- (五)以半乳糖，重覆步驟(一)~(三)。
- (六)以果糖，重覆步驟(一)~(三)。

## 二、亞甲藍的變色推測酵母菌氧化葡萄糖的速率

- (一)將酵母粉 2 g 加入 300 ml 的水，另外分別配製不同濃度葡萄糖濃度 0 %、3 %、6 %、9 %、12 %、15 % 各 100 ml，加入上述酵母菌溶液 10 ml，最後加入 1 ml 的亞甲藍液。
- (二)每隔6至12小時，以分光光度計測量亞甲藍顏色變化(波長 620 nm)，並記錄其吸收度。
- (三)以血糖計檢測步驟(一)中葡萄糖的含量。

## 三、酸鹼對於酵母菌氧化葡萄糖的速率的影響

- (一)配置 0.00001 M、0.0001 M、0.001 M、0.01 M、0.1 M 的醋酸，加入實驗二所配置酵母菌溶液 10 ml，最後加入 1 ml 的亞甲藍液。
- (二)每隔 6 至 12 小時，以分光光度計測量亞甲藍顏色變化(波長 620 nm)，並記錄其吸收度。
- (三)配置 0.00001 M、0.0001 M、0.001 M、0.01 M、0.1 M 的 NaOH，加入實驗二所配置酵母菌溶液 10 ml，最後加入 1 ml 的亞甲藍液。
- (四)每隔 6 至 12 小時，以分光光度計測量亞甲藍顏色變化(波長 620 nm)，並記錄其吸收度。

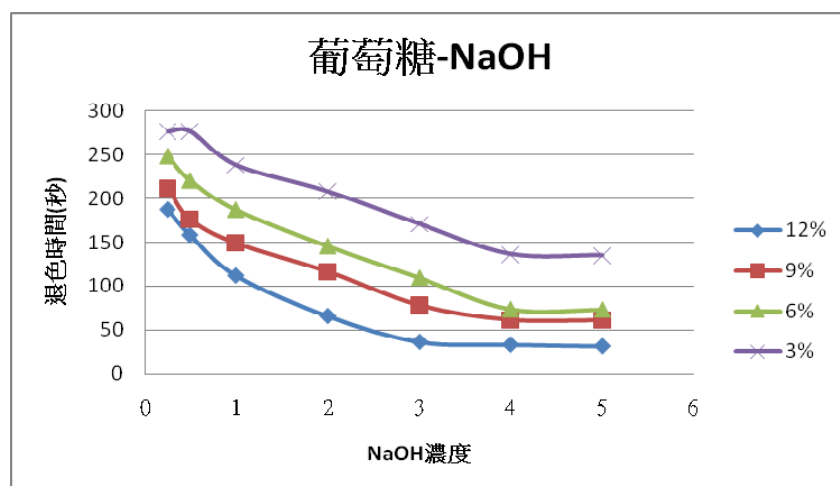
## 四、檢驗反應後的產物

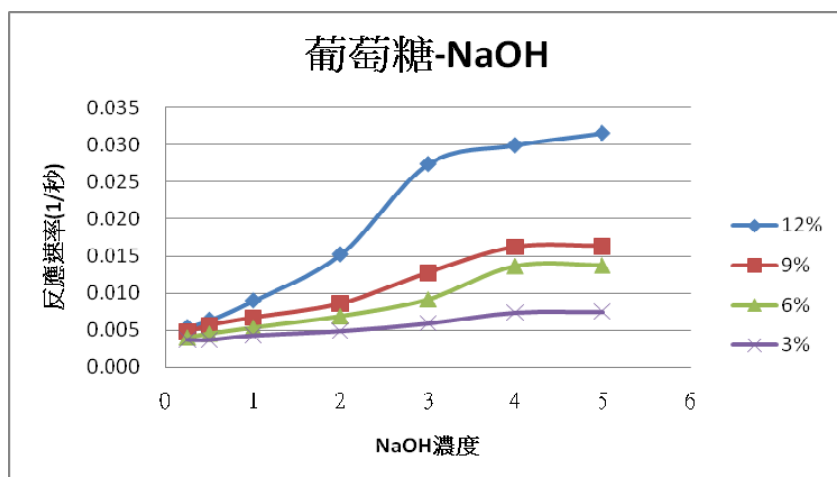
- (一)收集實驗二的試管中所產生的氣體，以澄清石灰水檢驗是否含有二氧化碳。
- (二)取還原後的亞甲藍澄清液 100 ml，以 0.01 M 硫酸 10 ml 及 0.01 M 二鉻酸鉀 10 ml 檢驗是否含有乙醇。

## 陸、研究結果

### 一、不同濃度的糖類及不同濃度的NaOH對速率的影響

#### (一)葡萄糖對不同濃度的 NaOH 對速率的影響

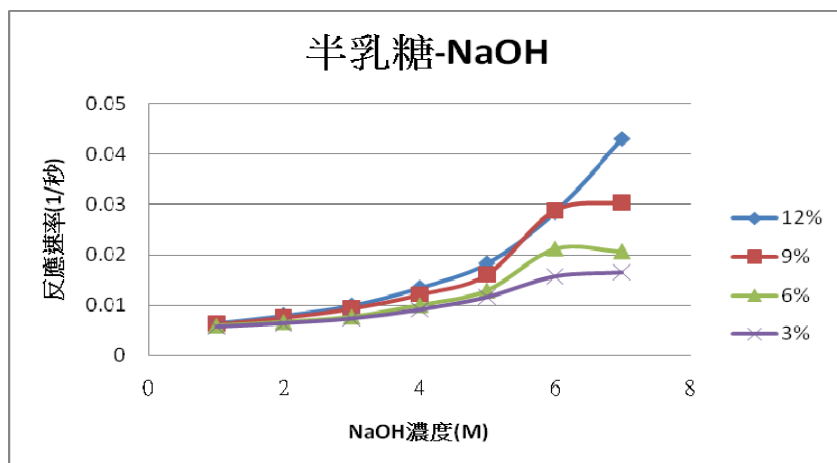
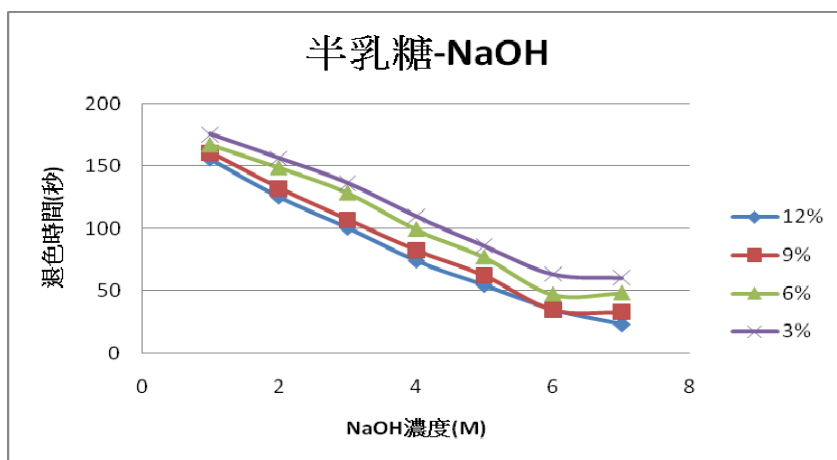




討論：

1. 糖類常用重量百分濃度(%)表示，酸鹼常用容積莫耳濃度(M)表示，但是亞甲藍很微量，因此我們採用百萬分之一(ppm)表示。
2. 在相同濃度的葡萄糖溶液中，NaOH 溶液的濃度越大，反應速率越快。
3. 在相同濃度的 NaOH 溶液中，葡萄糖溶液的濃度越大，反應速率越快。

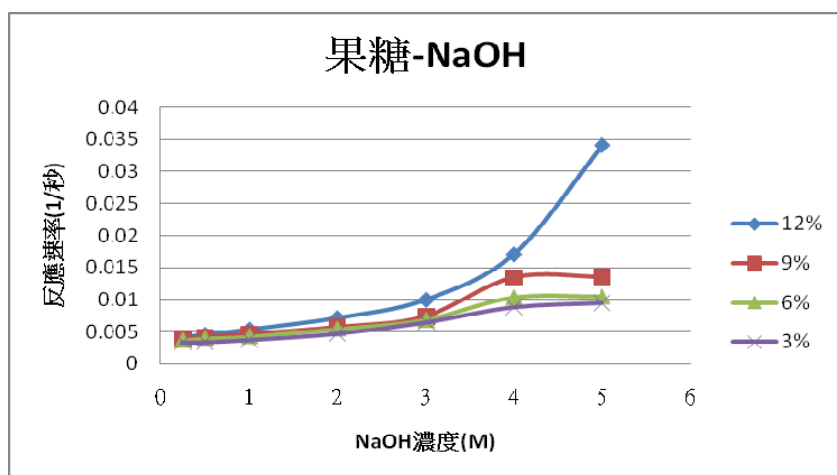
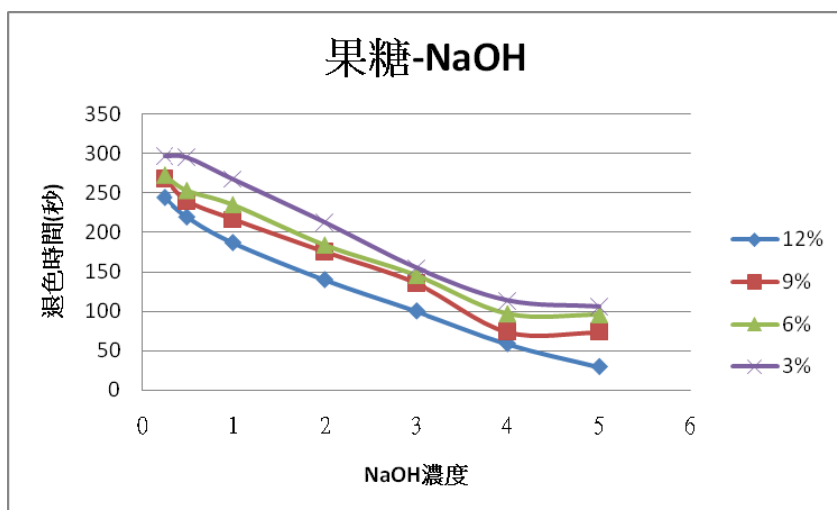
(二)半乳糖對不同濃度的 NaOH 對速率的影響



討論：

- 1.在相同濃度的半乳糖溶液中，NaOH 溶液的濃度越大，反應速率越快。
- 2.在相同濃度的 NaOH 溶液中，半乳糖溶液的濃度越大，反應速率越快。

(三)果糖對不同濃度的 NaOH 對速率的影響

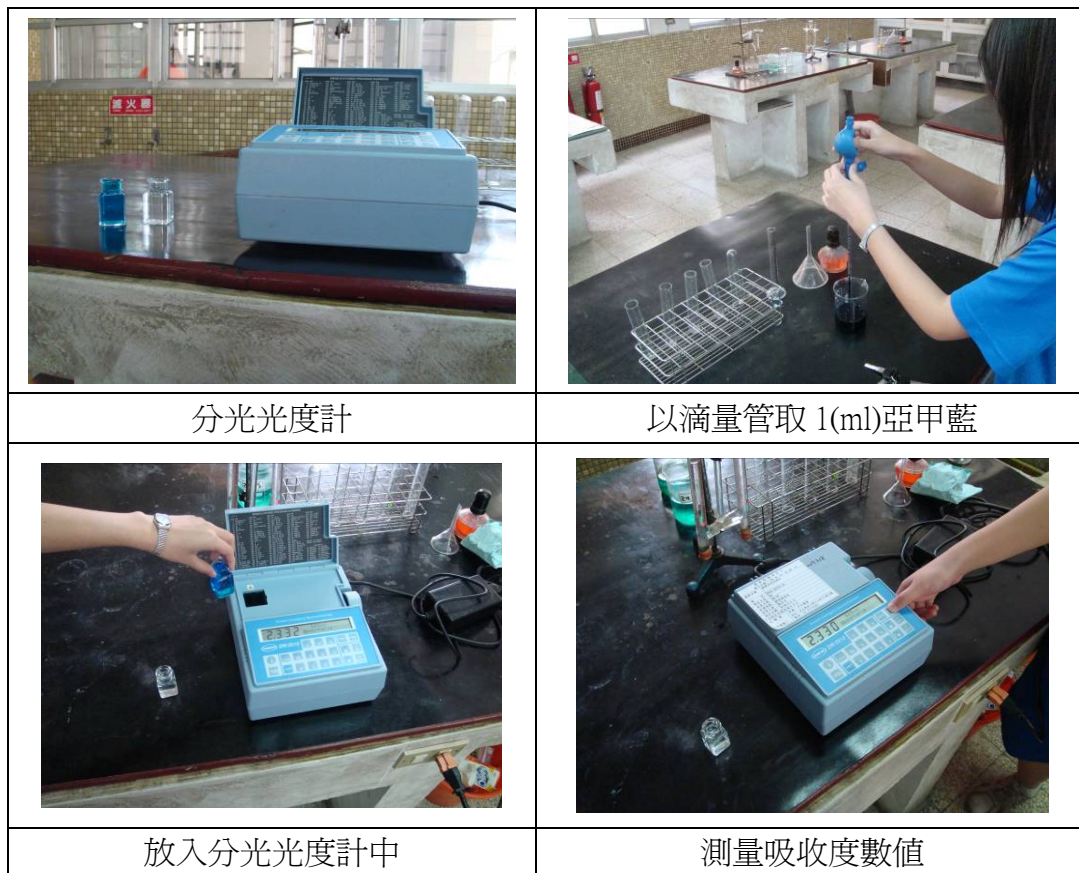


討論：

- 1.在相同濃度的果糖溶液中，NaOH 溶液的濃度越大，反應速率越快。
- 2.在相同濃度的 NaOH 溶液中，果糖溶液的濃度越大，反應速率越快。

## 二、亞甲藍的變色推測酵母菌氧化葡萄糖的速率

### (一)亞甲藍濃度與分光光度計吸收度的關係



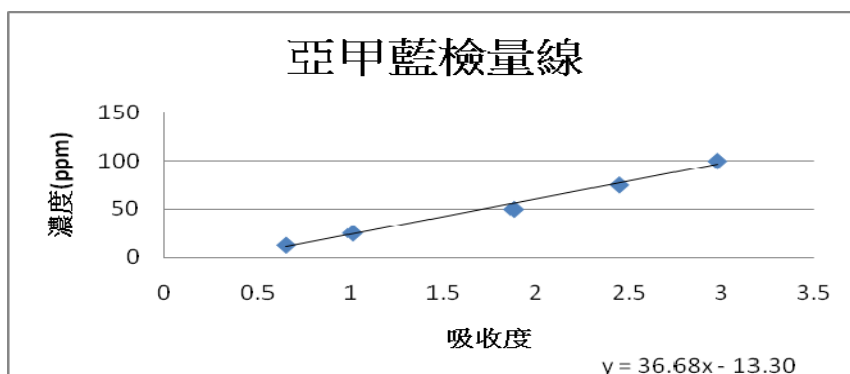
分光光度計

以滴量管取 1(ml)亞甲藍

放入分光光度計中

測量吸收度數值

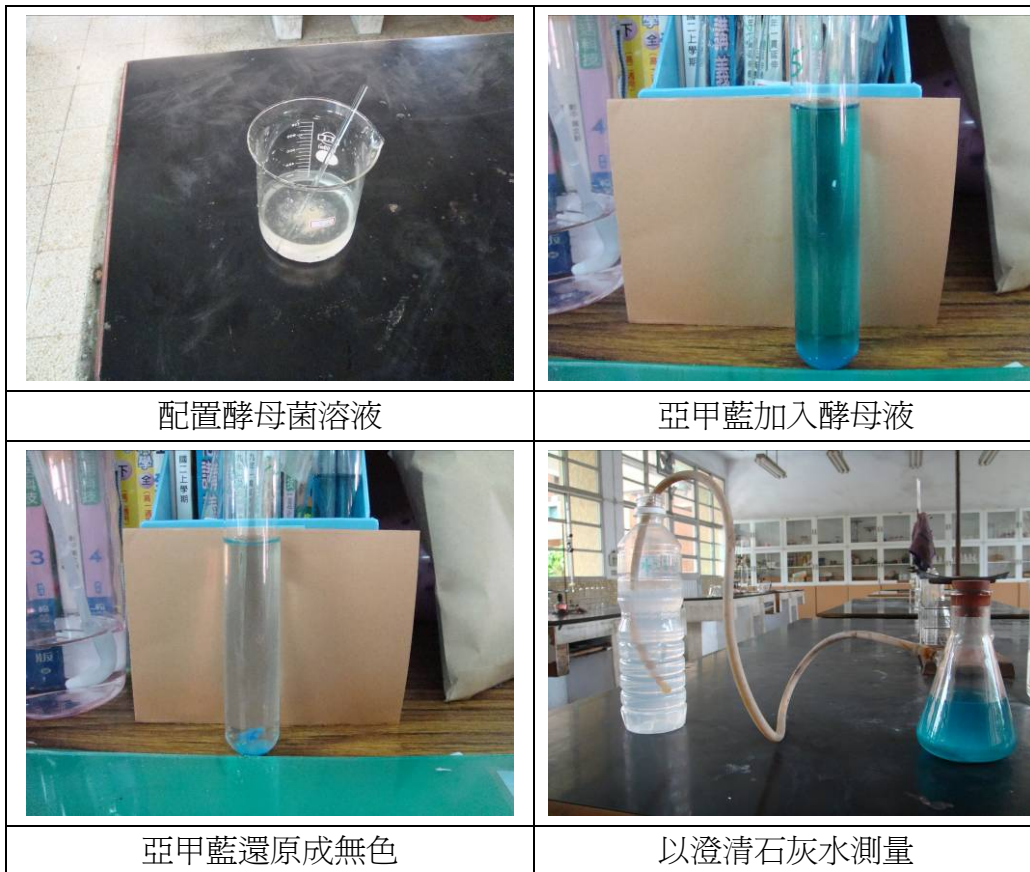
濃度 ppm	100	75	50	25	12.5
吸收度	2.98	2.45	1.88	1.01	0.65



討論：

- 1.由以上的結果可得出  $y=36.68x-13.30$ ，其中將  $x$  代入吸收度， $y$  值為濃度 ppm，由以上的式子，便可將分光光度計的數值，轉換成亞甲藍濃度。

2.亞甲藍濃度越大時，分光光度計的吸收度越大，亞甲藍濃度和分光光度計的吸收度成正比，利用這二者的關係，可推測亞甲藍被還原的程度，進而得知葡萄糖氧化的速率。



配置酵母菌溶液

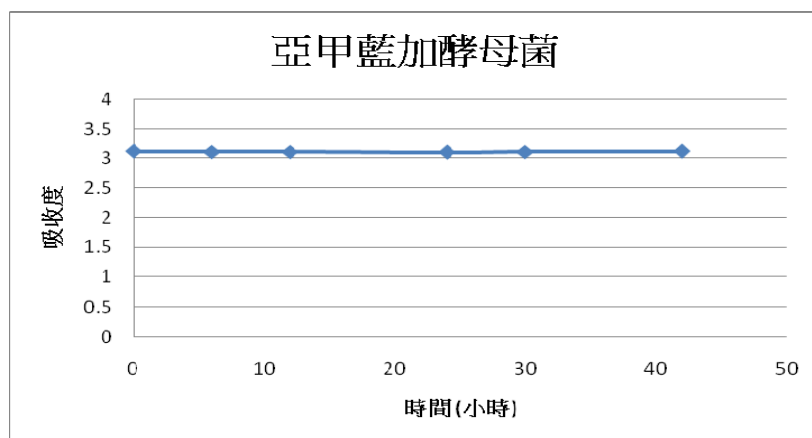
亞甲藍加入酵母液

亞甲藍還原成無色

以澄清石灰水測量

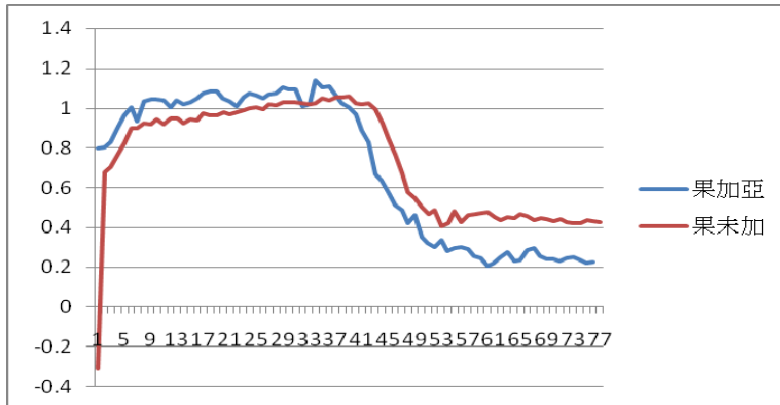
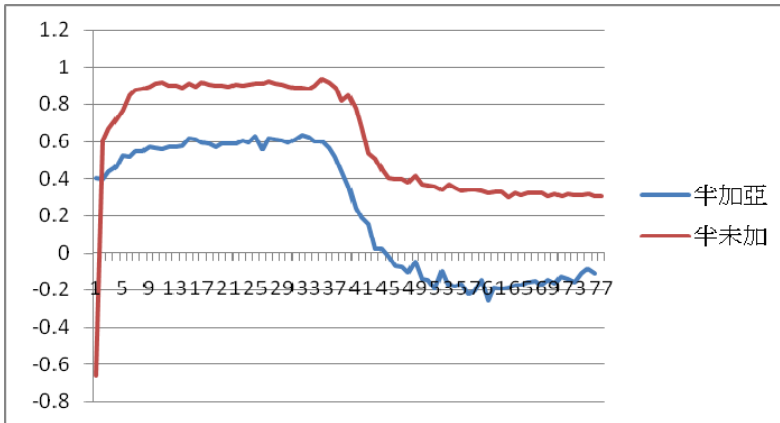
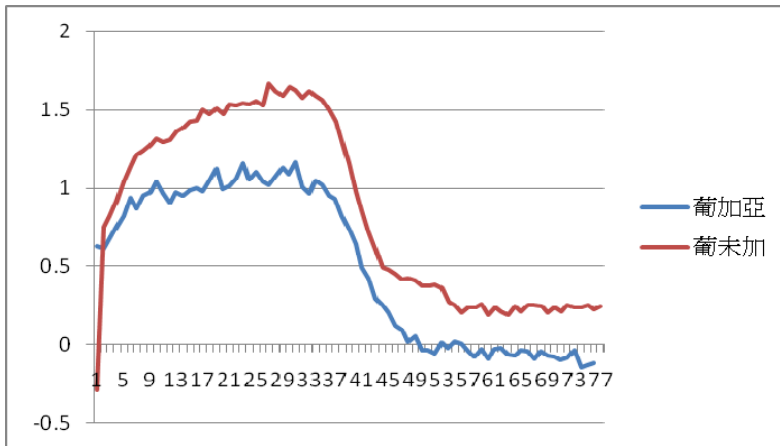
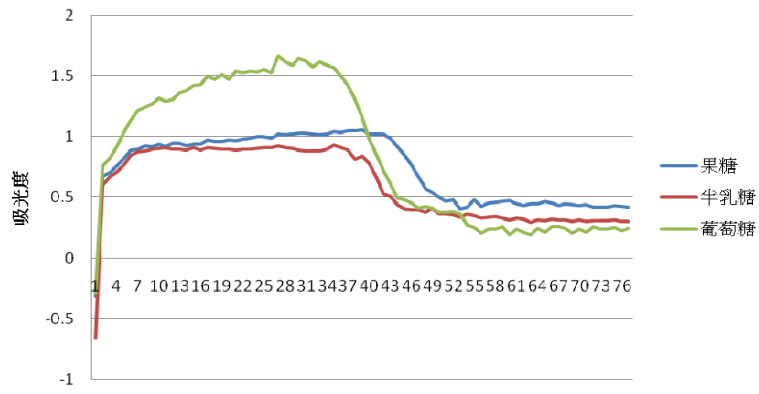
(二)酵母菌對亞甲藍的影響

時間	0 小時	6 小時	12 小時	24 小時	30 小時	42 小時
吸收度	3.21	3.21	3.21	3.21	3.21	3.21





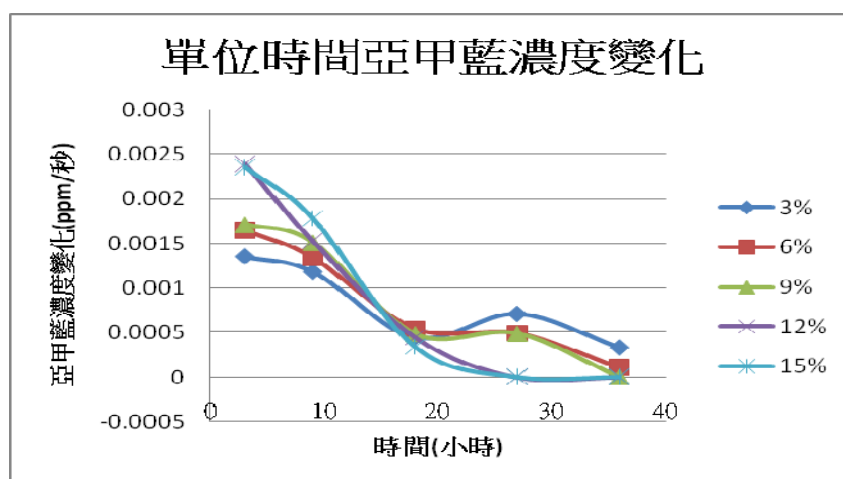
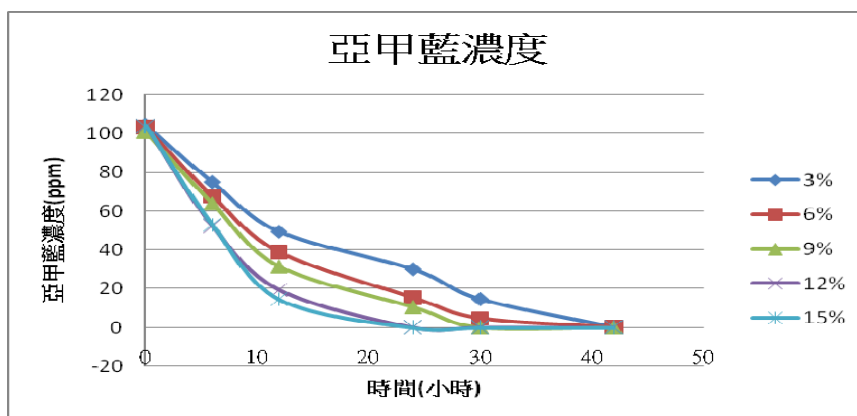
酵母菌生長曲線



討論：

- 1.在酵母菌溶液中，亞甲藍的顏色變化，即酵母菌對亞甲藍沒有還原作用。
- 2.在半乳糖、葡萄糖、果糖的實驗對照過後，發現有加亞甲藍與未加亞甲藍其酵母菌生長曲線大致雷同，所以可得知亞甲藍對酵母菌之生長並無太大的影響。

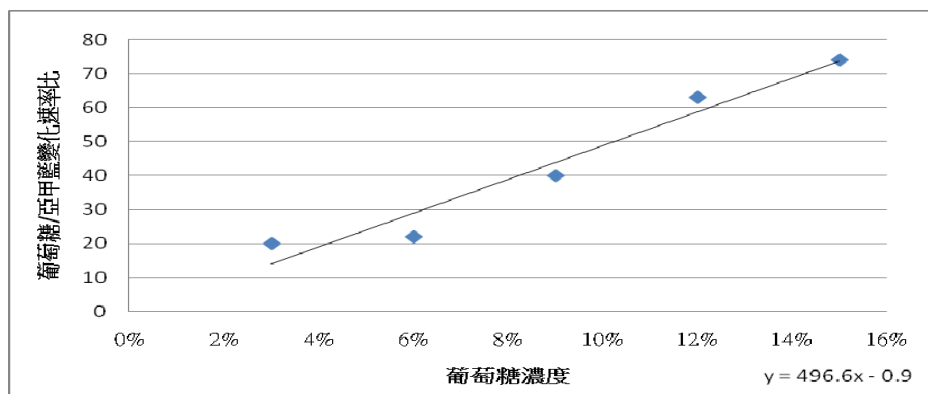
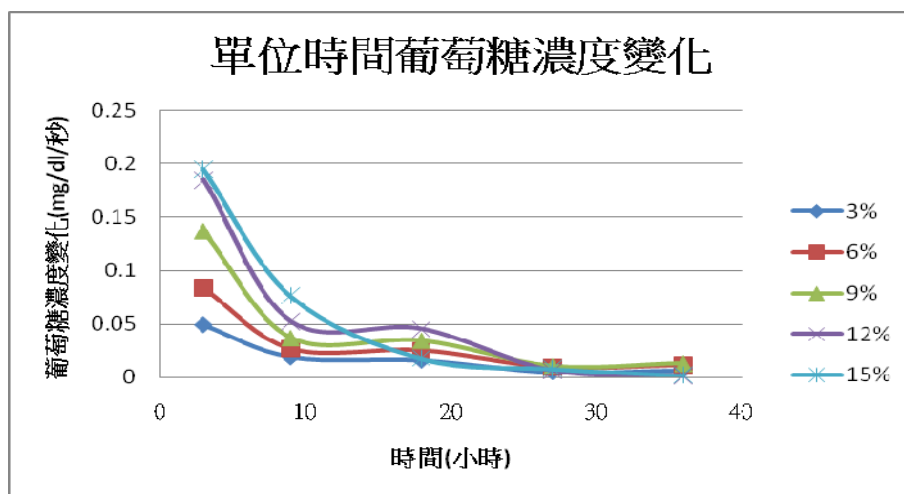
(三)亞甲藍的變色推測酵母菌氧化葡萄糖的速率



討論：

- 1.在酵母菌和葡萄糖溶液中，亞甲藍濃度發生變化，顏色變淡，推測亞甲藍發生還原反應。
- 2.在酵母菌溶液中，亞甲藍和葡萄糖的反應速率明顯比在 NaOH 溶液中較慢。
- 3.在本實驗中發現，葡萄糖的濃度越大，反應之後在單位時間內，亞甲藍溶液的濃度越小，即亞甲藍的反應量越多。
- 4.在本實驗中發現，葡萄糖的濃度越大，亞甲藍溶液反應所需的時間越短。
- 5.作完以上的實驗後，我們發現：在酵母菌溶液中，葡萄糖的濃度越大，亞甲藍溶液的濃度變化也越大，即反應的速率越快。

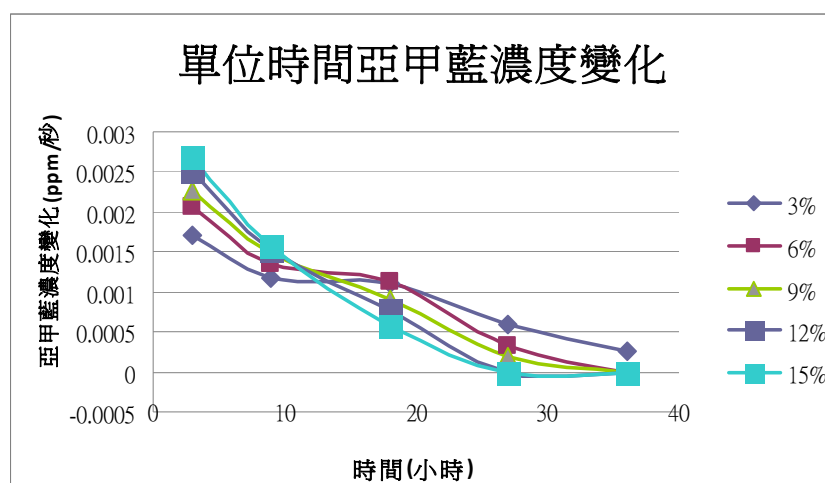
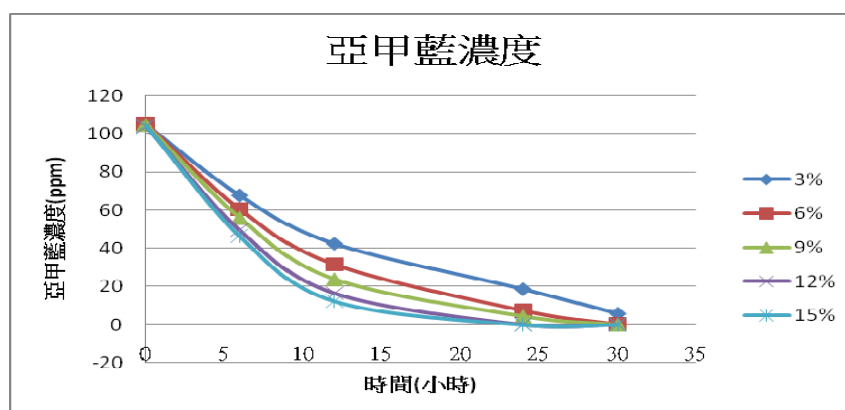
#### (四)以血糖計檢測葡萄糖含量



討論：

- 1.以血糖計檢測在酵母菌和亞甲藍溶液中，葡萄糖濃度發生變化，推測葡萄糖發生氧化反應。
- 2.在本實驗中發現，在酵母菌溶液中，葡萄糖的濃度越大，葡萄糖溶液的濃度變化也越大，即反應的速率越快。
- 3.以血糖計檢測和分光光度計檢測的結果一致，即葡萄糖的濃度越大，反應的速率越快。
- 4.由上圖可以知道，不同葡萄糖濃度會影響葡萄糖濃度變化量，葡萄糖濃度越大，亞甲藍變化量越大。
- 5.上圖中 X 代表葡萄糖濃度，我們可代入  $y=496.6x-0.9$ ，求出該葡萄糖濃度，葡萄糖/亞甲藍變化的比率，此比率可以亞甲藍的變化量推測出葡萄糖的變化量，就可以藍瓶實驗推算葡萄糖的氧化速率。

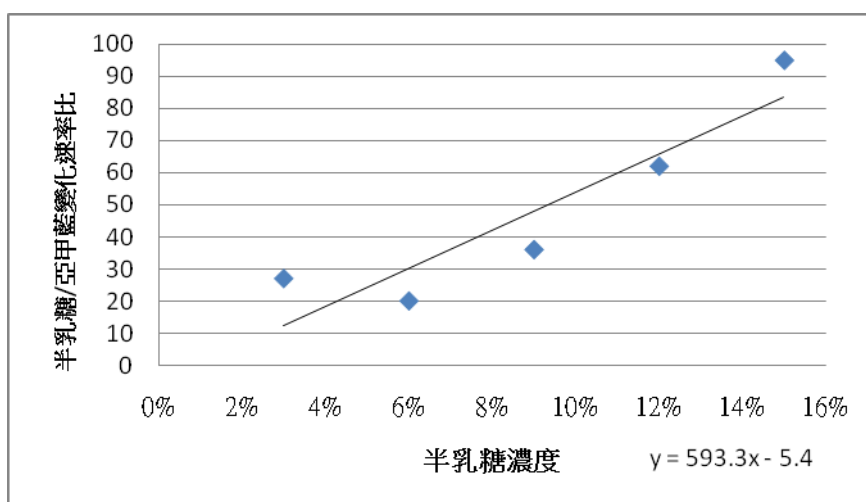
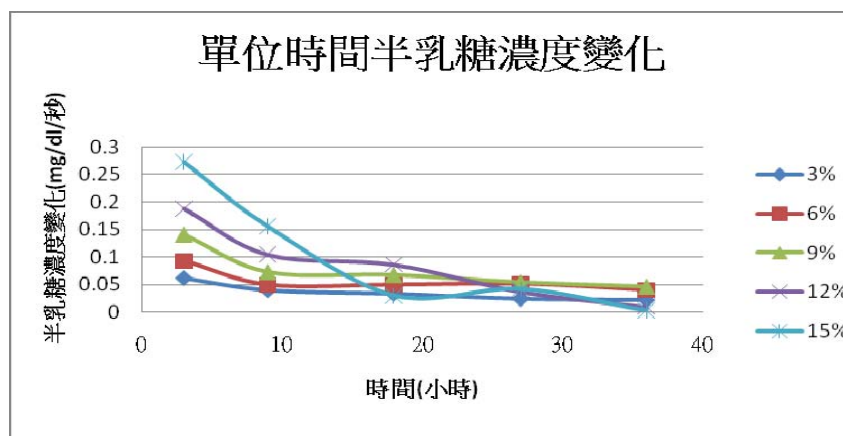
### (五)亞甲藍的變色推測酵母菌氧化半乳糖的速率



討論：

- 1.在酵母菌和半乳糖溶液中，亞甲藍濃度發生變化，顏色變淡，推測亞甲藍發生還原反應。
- 2.在酵母菌溶液中，亞甲藍和半乳糖的反應速率明顯比在 NaOH 溶液中較慢。
- 3.在本實驗中發現，半乳糖的濃度越大，反應之後在單位時間內，亞甲藍溶液的濃度越小，即亞甲藍的反應量越多。
- 4.在本實驗中發現，半乳糖的濃度越大，亞甲藍溶液反應所需的時間越短。
- 5.作完以上的實驗後，我們發現：在酵母菌溶液中，半乳糖的濃度越大，亞甲藍溶液的濃度變化也越大，即反應的速率越快。

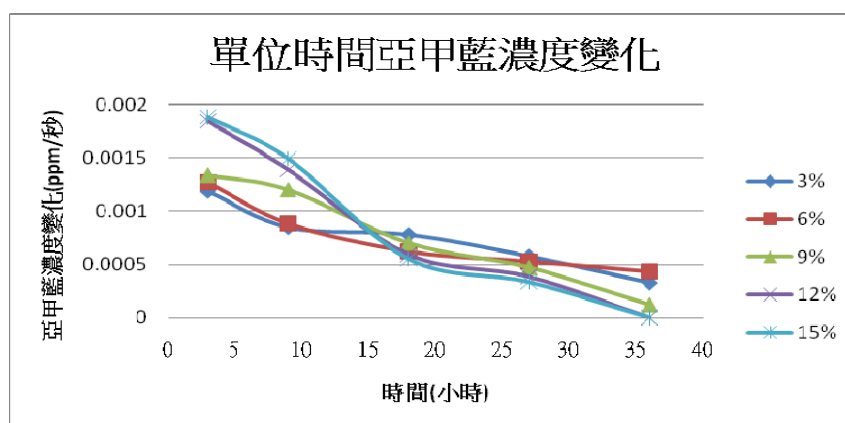
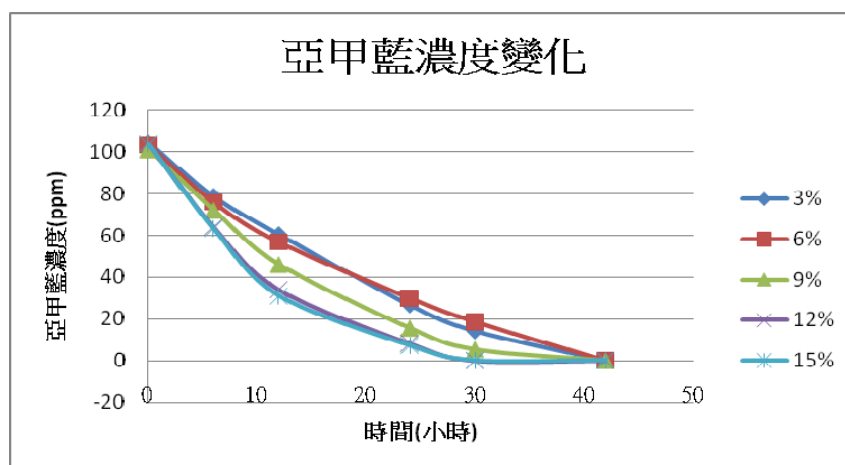
(六)以血糖計檢測半乳糖含量



討論：

- 1.以血糖計檢測在酵母菌和亞甲藍溶液中，半乳糖濃度發生變化，推測半乳糖發生氧化反應。
- 2.在本實驗中發現，在酵母菌溶液中，半乳糖的濃度越大，半乳糖溶液的濃度變化也越大，即反應的速率越快。
- 3.以血糖計檢測和分光光度計檢測的結果一致，即半乳糖的濃度越大，反應的速率越快。
- 4.由上圖可以知道，不同半乳糖濃度會影響半乳糖濃度變化量，半乳糖濃度越大，亞甲藍變化量越大。
- 5.上圖中 X 代表半乳糖濃度，我們可代入  $y=593x-5.4$ ，求出該半乳糖濃度，半乳糖/亞甲藍變化的比率，此比率可以亞甲藍的變化量推測出半乳糖的變化量，就可以藍瓶實驗推算半乳糖的氧化速率。

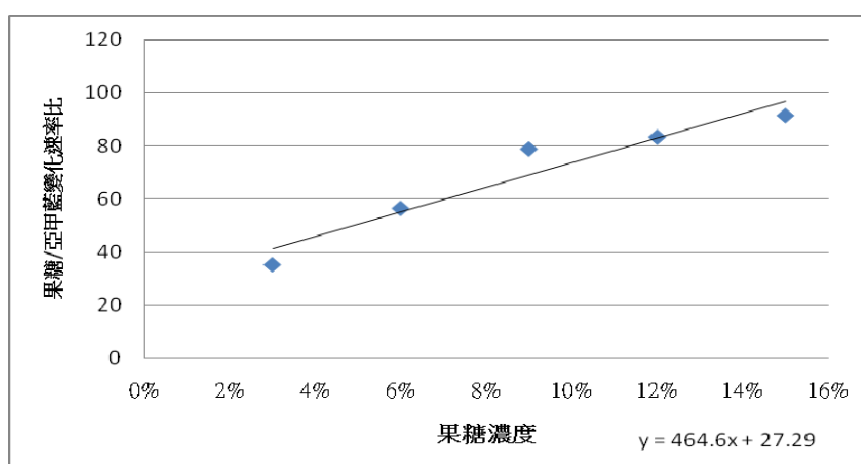
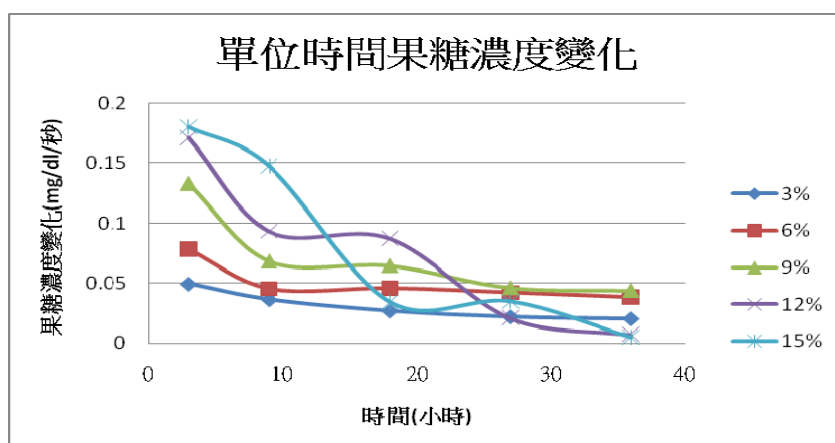
(七)亞甲藍的變色推測酵母菌氧化果糖的速率



討論：

- 1.在酵母菌和果糖溶液中，亞甲藍濃度發生變化，顏色變淡，推測亞甲藍發生還原反應。
- 2.在酵母菌溶液中，亞甲藍和果糖的反應速率明顯比在 NaOH 溶液中較慢。
- 3.在本實驗中發現，果糖的濃度越大，反應之後在單位時間內，亞甲藍溶液的濃度越小，即亞甲藍的反應量越多。
- 4.在本實驗中發現，果糖的濃度越大，亞甲藍溶液反應所需的時間越短。
- 5.作完以上的實驗後，我們發現：在酵母菌溶液中，果糖的濃度越大，亞甲藍溶液的濃度變化也越大，即反應的速率越快。

(八)以血糖計檢測果糖含量

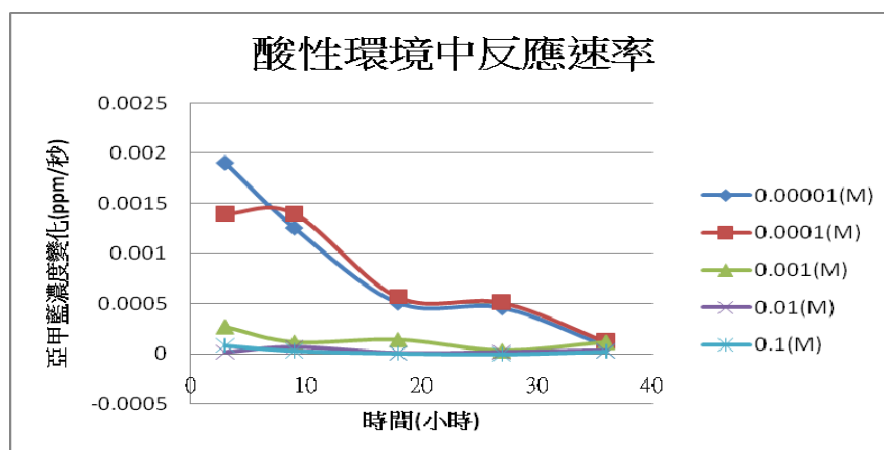
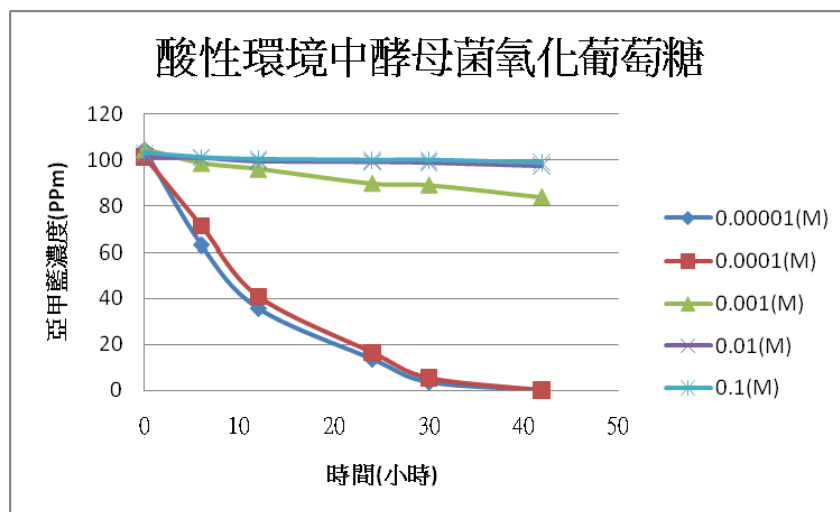


討論：

- 1.以血糖計檢測在酵母菌和亞甲藍溶液中，果糖濃度發生變化，推測果糖發生氧化反應。
- 2.在本實驗中發現，在酵母菌溶液中，果糖的濃度越大，果糖溶液的濃度變化也越大，即反應的速率越快。
- 3.以血糖計檢測和分光光度計檢測的結果一致，即果糖的濃度越大，反應的速率越快。
- 4.由上圖可以知道，不同果糖濃度會影響果糖濃度變化量，果糖濃度越大，亞甲藍變化量越大。
- 5.上圖中 X 代表果糖濃度，我們可代入  $y=464.6x-27.29$ ，求出該果糖濃度，果糖/亞甲藍變化的比率，此比率可以亞甲藍的變化量推測出果糖的變化量，就可以藍瓶實驗推算果糖的氧化速率。

### 三、酸鹼對於酵母菌氧化葡萄糖的速率的影響

#### (一)醋酸對於酵母菌氧化葡萄糖的速率的影響

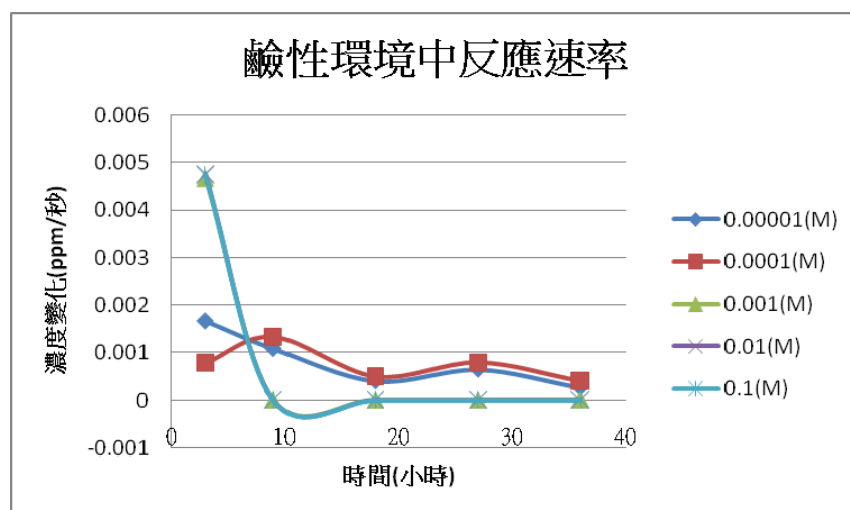
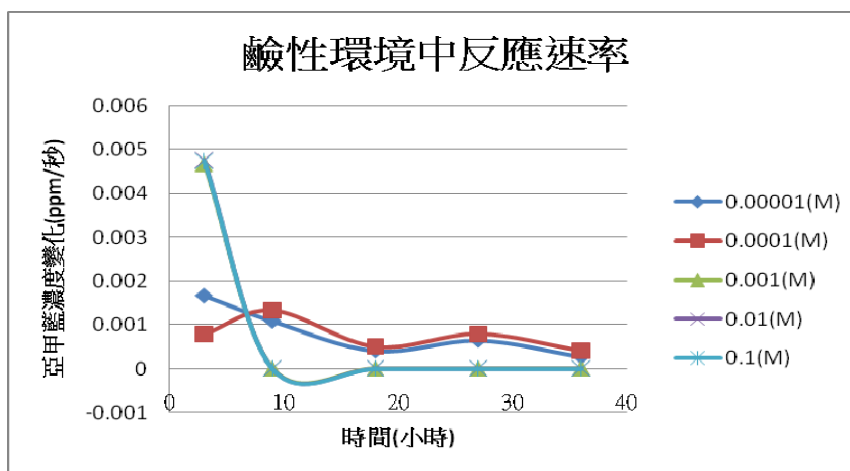


討論：

1. 爲了避免酵母菌受到強酸影響而大量死亡，因此本實驗採用醋酸控制 pH 值。
2. 在本實驗中發現，醋酸的濃度越大，反應之後在單位時間內，亞甲藍溶液的濃度越大，即亞甲藍的反應量越少。
3. 作完以上的實驗後，我們發現：在酵母菌溶液中，醋酸的濃度越大，pH 值越小，亞甲藍溶液的濃度變化也越小，即反應的速率越慢。



## (二)NaOH 對於酵母菌氧化葡萄糖的速率的影響



討論：

- 1.在本實驗中發現，在 0.001M~0.1M 的 NaOH 溶液中，亞甲藍溶液的濃度在單位時間內的變化最大，推測在鹼性較強的溶液中，亞甲藍和葡萄糖的氧化還原反應很快，受到酵母菌的影響很小。
- 2.在本實驗中發現，在酵母菌溶液中，在單位時間內亞甲藍溶液的濃度變化，0.00001M 之 NaOH 溶液比 0.0001M 的 NaOH 溶液較大。

#### 四、檢驗反應後的產物

葡萄糖濃度	石灰水是否混濁	二鉻酸鉀+硫酸
0 %	否	橙色
3 %	是	橙色
6 %	是	橙色
9 %	是	橙色
12 %	是	橙色
15 %	是	橙色

討論：

1. 酵母菌在行呼吸作用時的產物是二氧化碳和水，發酵作用則是二氧化碳及乙醇。
2. 二氧化碳能以澄清石灰水檢驗之，若含有二氧化碳，則澄清石灰水會產生白色混濁。
3. 乙醇能以二鉻酸鉀及濃硫酸檢驗，若含有乙醇，則二鉻酸鉀將會被還原變色。
4. 取還原後的亞甲藍澄清液，其中的亞甲藍分子也會和硫酸及二鉻酸鉀發生氧化還原作用，但亞甲藍含量極少(約 1 ppm)，故不影響乙醇與二鉻酸鉀的氧化還原作用，因此可以檢驗是否含有乙醇。
5. 爲了證明我們所假設酵母菌在此狀況下是進行呼吸作用，就將上述亞甲藍溶液放入錐形瓶中，並將其所產生的氣體通入澄清石灰水，發現都有混濁產生，所以產生的氣體是CO<sub>2</sub>。另外我們再以二鉻酸鉀及硫酸放入上述的溶液中，發現溶液還是呈橘黃色，由此可以推論溶液中並沒有產生乙醇。

#### 柒、結論

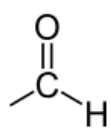
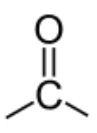
- 一、在相同濃度的葡萄糖、半乳糖、果糖溶液中，NaOH溶液的濃度越大，反應速率越快。在相同濃度的NaOH溶液中，葡萄糖、半乳糖、果糖溶液的濃度越大，反應速率越快。
- 二、在背景實驗中可以了解，僅加上亞甲藍和葡萄糖，亞甲藍不會變色，僅加上亞甲藍和酵母菌，亞甲藍也不會變色，即亞甲藍對酵母菌之生長並無影響。
- 三、實驗的結果發現，酵母菌分別加入葡萄糖、果糖、半乳糖後，也可使亞甲藍還原成無色，反應速率是半乳糖 > 葡萄糖 > 果糖。
- 四、在酵母菌溶液中，亞甲藍和葡萄糖、半乳糖、果糖的反應速率明顯比在NaOH溶液中較慢。葡萄糖、半乳糖、果糖的濃度越大，反應的速率越快。pH值越小，亞甲藍溶液反應的速率越慢。

五、由於亞甲藍的氧化態為藍色，還原態為無色，非常容易觀察，在此實驗中我們也發現，酵母菌可以還原亞甲藍，溶液中藍色的深淺可以代表氧化態亞甲藍的多寡。故我們可以亞甲藍的顏色變化快慢來推估酵母菌在行呼吸作用時的快慢。

六、酵母菌的呼吸作用也可將亞甲藍還原成無色，且放置一段時間後反應速率慢了許多。

七、由酵母菌的生長曲線圖可以了解，經過一段時間後，酵母菌的數量下降，我們也發現亞甲藍的變色的速度也降低。

八、經由我們討論及查詢資料的結果發現，半乳糖和葡萄糖都是醛糖

$(-\text{CHO})$  ，果糖則是酮糖  $(\text{CO})-$  。而果糖會發生化學鍵的重組反應，將“酮”轉化成“醛”（酮醣  $\rightleftharpoons$  烯醇  $\rightleftharpoons$  醛醣）。因此果糖還是可將亞甲藍還原成無色。但需要轉化的時間，因此變色時間較葡萄糖和半乳糖時間為長。

九、由實驗結果得知酵母菌在還原亞甲藍時，產生二氧化碳，沒有乙醇的產生，推論是呼吸作用。亞甲藍會變色是因為酵母菌在進行呼吸作用，並使亞甲藍還原而成無色。

## 捌、參考資料

- 一、國中自然與生活科技第四冊（氧化還原、反應速率）。
- 二、高中物質科學化學篇（化學反應速率、氧化還原）。
- 三、<http://blog.udn.com/Gabriel33/4626564>

## 【評語】 030213

本作品利用藍瓶實驗還原糖在 NaOH 鹼性條件下，還原亞甲藍由藍色變無色的原理，改以酵母菌代替 NaOH 鹼性條件，然而此改變使得亞甲藍反應變慢，酵母菌會與糖進行發酵反應，產生系列發酵產物，在此條件下，亞甲藍是否與亞甲藍反應，或者是與發酵產物反應而褪色，並無法由實驗得知，此點是本作品的主要問題。但綜合說本作品仍屬優秀作品。