中華民國第 54 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組　化學科

第三名

030205

開發葉綠素檢驗微量重金屬的方法

學校名稱：花蓮縣立國風國民中學

作者：	指導老師：
國二 何倚帆	黃耀輝
國一 陳穎宣	徐志豪

關鍵詞：葉綠素、重金屬、螢光

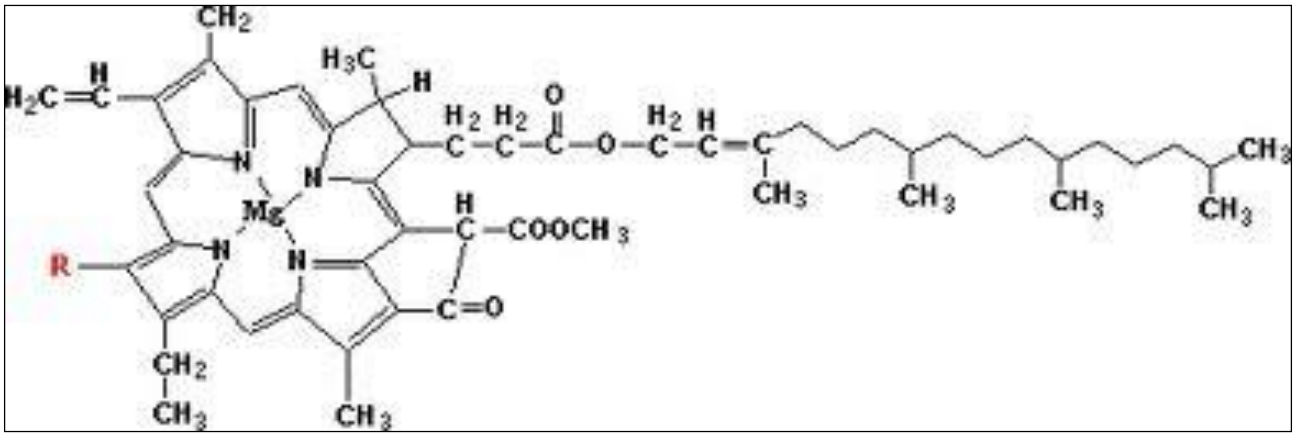
摘要

利用天然含鎂離子葉綠素較不穩定而銅葉綠素穩定的特性，藉由銅與天然葉綠素結合，檢測葉綠素螢光強度的變化來檢驗金屬離子濃度。以相機和自製光源檢測螢光，我們發現葉綠素螢光會隨著銅離子濃度變化，銅與葉綠素反應後螢光會變弱。本研究已成功發展一套極簡易、靈敏的金屬離子檢測系統，達到相當低的偵測極限，目前可以檢測到 1.6 ppm 的銅離子。

壹、研究動機

老師在上課時提到食安問題-混入海苔、橄欖油中的「銅葉綠素」，且說葉綠素在受到光照時會產生螢光，有興趣的同學可以上網查詢相關資料。我們上網查到的資料中發現銅離子容易取代葉綠素的鎂，又在另一筆資料中發現用雷射光照葉綠素，會產生紅色的螢光，因為實驗用雷射價格高，我們想先以 LED 手電筒試做。因為目前檢測銅離子的方法有昂貴的儀器分析方法，或是靈敏度較差的顏色檢驗法，特別是分析儀器不容易取得，所以我們希望以簡單的器材操作，達到相似的目的。想透過了解銅離子與葉綠素結合是否可以發出顏色不同或強度不同的螢光，達到快速的檢測內容物是否含有銅離子。

[2]



葉綠素的結構

貳、研究目的

一.探討葉綠素螢光的特性與螢光的測量方法

二. 探討不同樣品處理方式對萃取效率的影響

三. 水對螢光的影響

四. 銅離子與葉綠素的反應

五. 不同反應條件對反應速率的影響

六.探討銅離子的定量與偵測

參、研究設備及器材

一.設備及器材

樣品瓶 	研缽和杵 	濾紙
燒杯 	過濾器材 	紙箱、燈泡、燈座、相機
手電筒	剪刀	滴管

微量滴管	磁石攪拌器

二.藥品與材料

硫酸銅 ($CuSO_4$)	正己烷	酒精
硫酸鎂($MgSO_4$)	氯化銅($CuCl_2$)	甲醇
氯化鈣($CaCl_2$)	菠菜	鹽酸

三.光源架設、儀器暗室製作

圖 1 實景圖

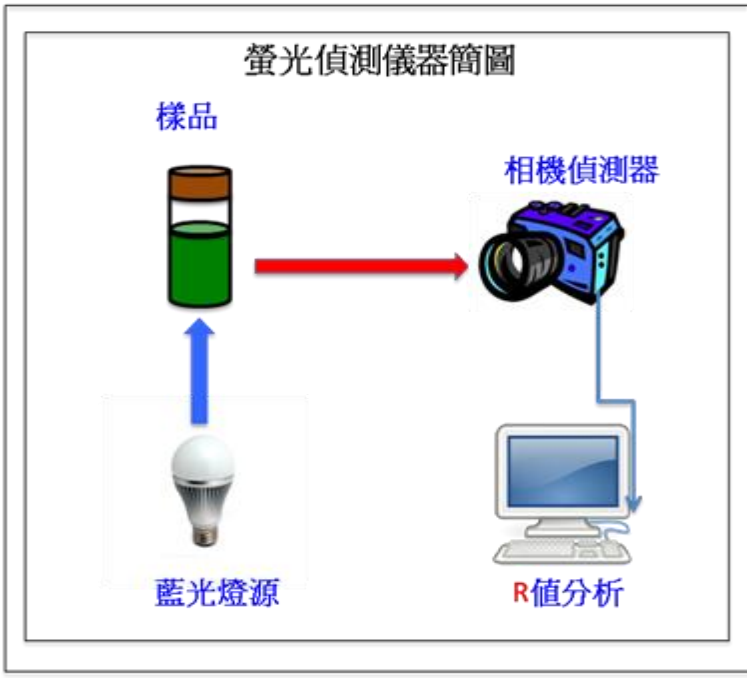


圖 2 示意圖

步驟 1.在空紙盒(被黑布蓋住的部分)中放入燈座、燈泡，以書本墊高。

步驟 2.在空紙盒上切一個大小略小於樣品瓶直徑的圓孔，作為光源出口。

步驟 3.裁切淘汰的黑色上衣，切一個大小與樣品瓶相同的圓孔，蓋住紙盒。(避免藍光溢出)

步驟 4.將大紙箱一端切開，放入紙盒。紙箱尺寸:長 61 cm、寬 26 cm、高 48 cm。

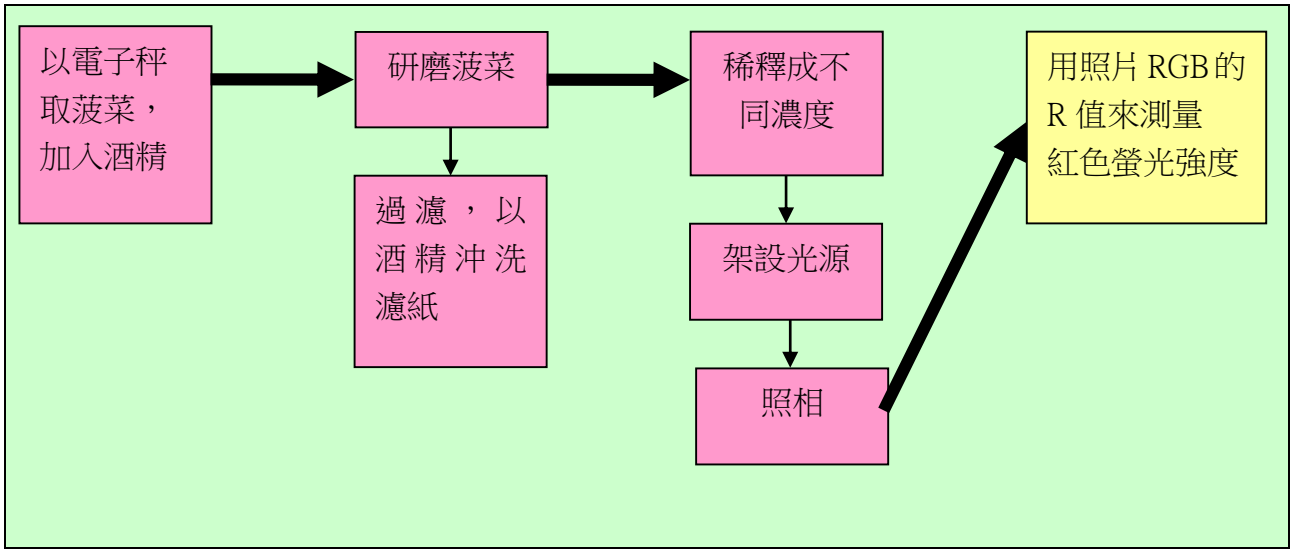
步驟 5.架設腳架、相機，固定位置:相機(感光元件)到樣品瓶放置處距離: 約 68 cm。

肆、研究過程或方法

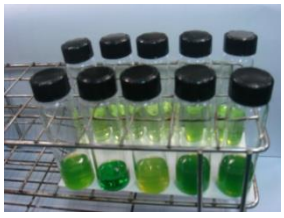
一、葉綠素溶液萃取與螢光的測量方法

我們從菠菜中萃取葉綠素，以相機當作偵測器，並使用照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度。

(一)實驗流程圖：



(二)實驗步驟:

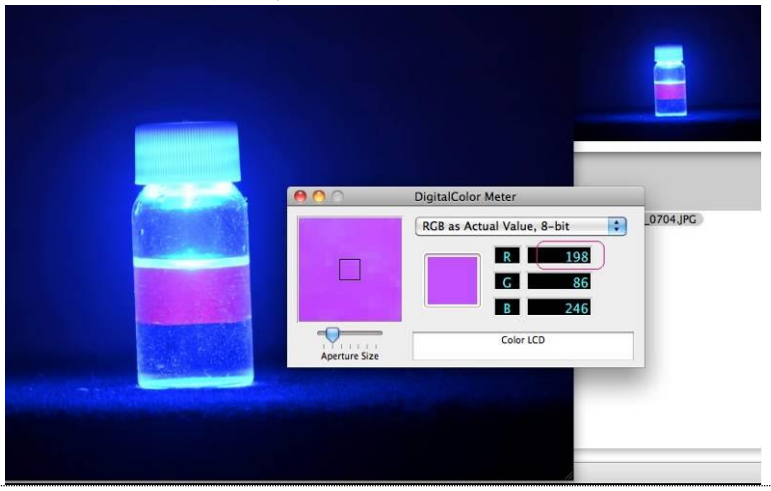
步驟 1. 以電子秤取菠菜，加入酒精 	步驟 2. 研磨菠菜 	步驟 3. 過濾，以酒精沖洗濾紙
步驟 4. 稀釋成不同濃度 	步驟 5.架設光源 1 白光 LED 手電筒 2 架設紙箱藍光 LED 燈座	步驟 6.照相 相機設定: 鏡頭焦距(135 mm) 快門速度(1/13s) 光圈(f5.3) ISO(400)。

7.照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度

(1)使用軟體 Digital Color Meter。

(2)設定:選擇 RGB as Actual Value，8-bit。

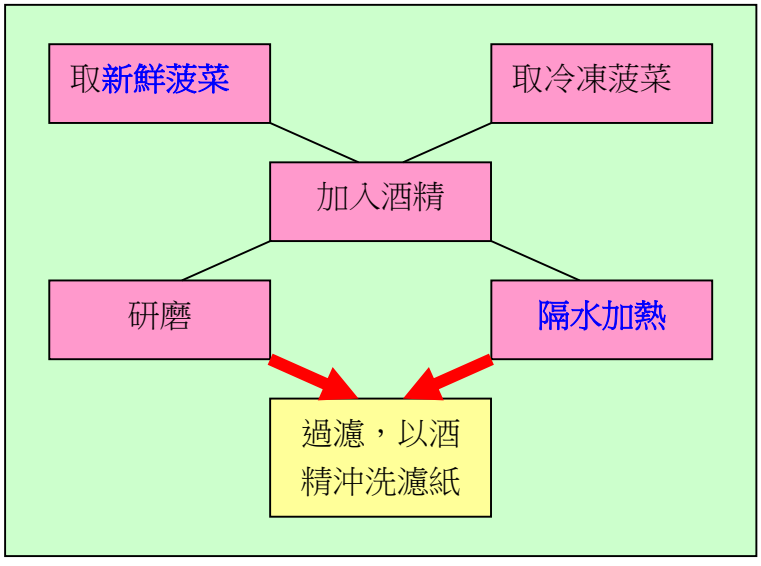
(3)滑鼠移至待測量的照片上，取中點並避開雜訊，軟體會顯示固定面積的 RGB 值，除了另外說明外，每個 R 值為中點附近三個讀數的平均值。



二 、以不同的方法萃取葉綠素

方法\步驟	1	2	3	4
1	**取新鮮菠菜**	加入酒精	隔水加熱	過濾，以酒精沖洗濾紙。
2	取冷凍菠菜	加入酒精	研磨	過濾，以酒精沖洗濾紙。
3	**取新鮮菠菜**	加入酒精	研磨	過濾，以酒精沖洗濾紙。
4	取冷凍菠菜	加入酒精	隔水加熱	過濾，以酒精沖洗濾紙。

架構圖：



三、銅離子(硫酸銅)與葉綠素的反應

實驗步驟：

1.取葉綠素溶液＋硫酸銅水溶液 (10mM，100mM)，控制反應時間（0 min－16 hr 05 min）。

2.去除水份 (因為水會影響葉綠素散發螢光的情形)

(1)加入硫酸鎂，或是

(2)加入氯化鈣，或是

3.加入正己烷，萃取時間為 10 分鐘(連續手搖溶液)。

4.對照組以水代替硫酸銅水溶液。

5.照相，以照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度。

四、銅離子(氯化銅)與葉綠素的反應

1.取葉綠素溶液＋氯化銅水溶液，控制反應時間(0-610 分鐘)。

2.加入正己烷，控制萃取時間 10 min。

3.照相，以照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度。

五、反應條件對反應速率的影響

(1)水對螢光的影響

1.取不同濃度葉綠素溶液。

2.1 加入不同體積之去離子水 或 2.2 加入微量不同體積之去離子水或硫酸銅水溶液。

3.照相，以照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度。

(2)鹽酸對反應速率的影響

1.取葉綠素溶液（濃度 2.5）。

2.加入鹽酸。

3.加入氯化銅，反應 10 分鐘。

4.加入正己烷，萃取 10 min。

5.照相，以照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度。

6.對照組以水代替氯化銅溶液。

(3)連續攪拌對反應速率的影響

1.取葉綠素溶液。

2.加入氯化銅水溶液。

3.以磁石攪拌器不同攪拌速率連續攪拌 15 分鐘。

4.加入正己烷，萃取 10 min。

5.照相，以照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度。

六、探討銅離子的定量與偵測極限

1.取葉綠素溶液。
2.加入氯化銅 (0.025 mM- 100 mM)。
3 攪拌反應。
4.照相，以照片 RGB 的 R 值來測量紅色螢光的強度。

***以上反應，反應瓶都以錫箔紙包覆，避免照光。**

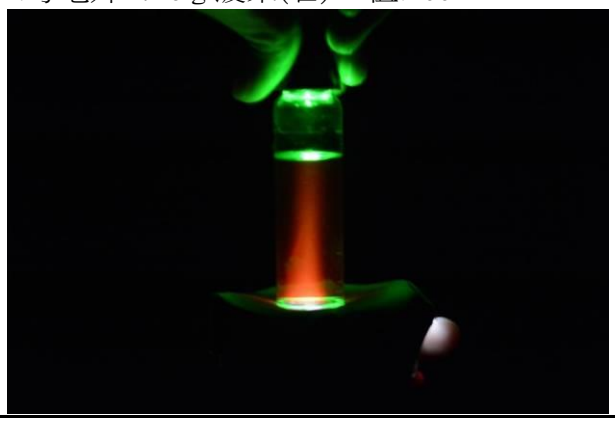
伍、研究結果

實驗目的 1: 探討葉綠素螢光的特性與螢光的測量方法。

實驗 1-1:葉綠素溶液的濃度對螢光強弱影響

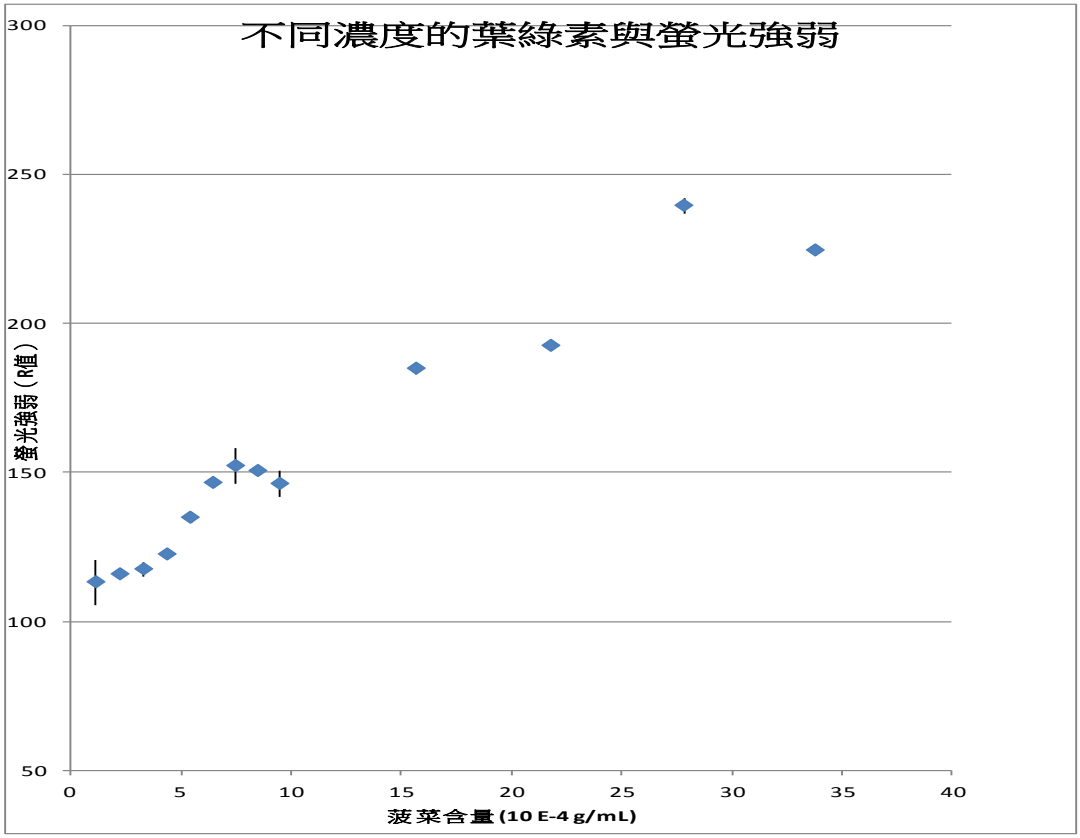
配製不同濃度的葉綠素，以白光 LED 手電筒偵測螢光中的 R 值。

結果：

1.每毫升 1/8 g 菠菜(左) R 值:158	2.每毫升 1/16 g 菠菜(右) R 值:200
	

結果與預期相反，濃度高的葉綠素溶液螢光比濃度較低的弱。

實驗 1-2 :配製不同濃度的葉綠素，因為白光 LED 中含有紅光與其他顏色的光，為避免干擾偵測結果，以藍光 LED 檢測系統分析螢光。



稀釋成不同濃度的葉綠素溶液:

(1) 0.5 g 菠菜+5 ml 95%酒精 (**濃度 1**)

(2) 取(濃度 1) 0.5 ml+4.5 ml 95%酒精 (**濃度 2**)

(3) 取(濃度 2) 0.5 ml+1.5 ml 95%酒精 (**濃度 2.5**)

(4) 取(濃度 2) 0.5 ml+2.5 ml 95%酒精 (**濃度 2.6**)

(5) 取(濃度 2) 0.5 ml+3.5 ml 95%酒精 (**濃度 3**)

(6) 取(濃度 3)1 ml+3 ml 95%酒精 (**濃度 4**)

實驗 1-2 中的葉綠素濃度是以**濃度 3** 稀釋而成。

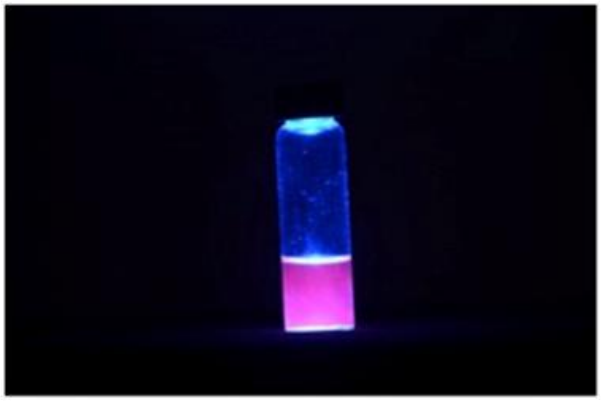
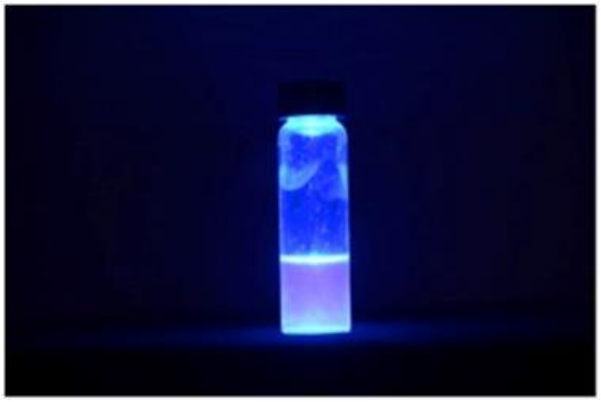
結果：

根據 R 值，的確可以測量葉綠素溶液的螢光。經過實驗，我們發現了一個有趣的現象，螢光會隨著濃度增加而上升，之後又下降 。濃度繼續上升時，R 值會持續下降 (數據未呈現)。

實驗目的 2-1: 探討不同樣品處理方式對萃取效率的影響**--不同濃度的酒精萃取葉綠素對螢光的影響(萃取效率)**

實驗 2-1-1:用不同濃度的酒精萃取葉綠素，以藍光 LED 燈偵測。

結果:

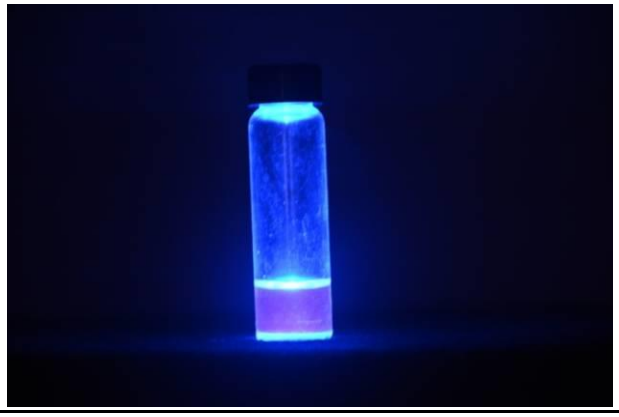
1. 95%酒精（圖 1） R 值:250	2. 66.5%酒精（圖 2）R 值:148
	

比較螢光強度（R 值），95%酒精萃取效率最好，66.5%、47.5%酒精萃取效率普通，其餘的萃取效率都不好。

配製不同濃度的酒精:
(1)95%酒精
(2)66.5%酒精:3.5 ml 酒精(95%)+1.5 ml 水
(3)47.5%酒精:2.5 ml 酒精(95%)+2.5 ml 水
(4)28.5%酒精:1.5 ml 酒精(95%)+3.5 ml 水

之後的實驗發現水會影響葉綠素螢光(實驗目的 3)，萃取葉綠素後立刻照光不能準確檢測螢光強弱。因為在配製不同濃度的酒精時需加入水，或菠菜本身含有的水分都會影響檢測結果。所以我們決定重覆酒精萃取實驗，並以己烷萃取避免水分干擾。

實驗 2-1-2:以 95%、66.5%酒精萃取葉綠素，各取 0.5 ml 並加入 3 ml 己烷萃取 10 分鐘，
取出下層溶液後，樣品瓶中只剩己烷 (己烷不溶於水，會在上層)。
結果:

1. 95%酒精（圖 1） R 值:200	2. 66.5%酒精（圖 2）R 值:138
	

95%酒精萃取效率仍然比 66.5%酒精好。

實驗目的 2-2:探討不同樣品處理方式對萃取效率的影響

實驗 2-2-1:以不同萃取方法與葉綠素(方法 1、2、3、4)，以藍光 LED 燈檢測系統分析螢光。

結果:

都可以看見螢光，並沒有明顯差異，為了減少實驗操作時間，以新鮮菠菜直接研磨的方式萃取葉綠素。

實驗目的 3-1：探討水對葉綠素螢光之影響。

實驗 3-1: 在葉綠素溶液 (濃度 1、2、3、4) 中加入水 (0.25-1.75 ml)，
以藍光 LED 檢測系統分析螢光。

結果:

在不同濃度葉綠素溶液中，逐量加入水，並記錄螢光完全消失時所加的水總量。

葉綠素濃度與水量對螢光影響比較表

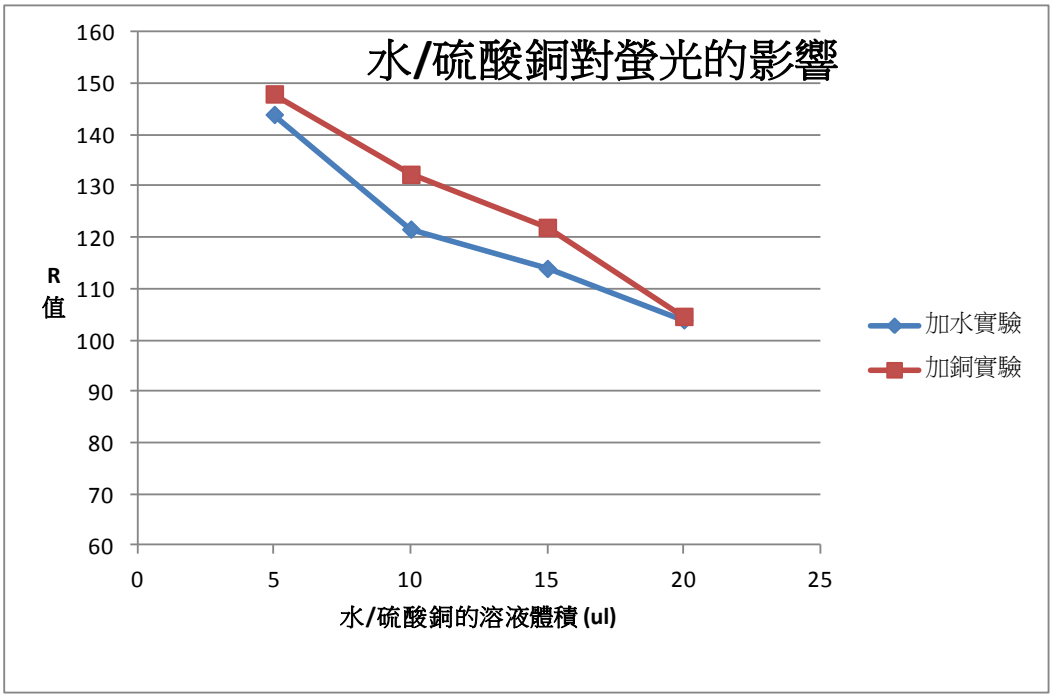
+:有螢光 -:沒有螢光 (空白表示未實驗)

	水（ml）						
葉綠素濃度	0.25	0.5	0.75	1	1.25	1.5	1.75
1	+	+	-				
2	+	+		+	-		
3		+		+		-	
4	+	+		+		+	-

實驗目的 3-2: 水對螢光的影響--探討硫酸銅與水對螢光的影響

實驗 3-2:

在葉綠素(濃度 3)3 ml 中以微量滴管逐量加入水、硫酸銅 (5-25ul)，以藍光 LED 檢測系統分析螢光。



一開始我們先做硫酸銅與葉綠素的反應，螢光隨著硫酸銅的增加而減弱，看似這個實驗可用來檢測硫酸銅。為確定其可行性，又做了水與葉綠素的控制實驗，為比較螢光強弱製作上圖，卻發現水、硫酸銅對螢光的影響差不多。

實驗目的 4-1: 銅離子與葉綠素的反應--探討銅離子(硫酸銅)與葉綠素的反應速率

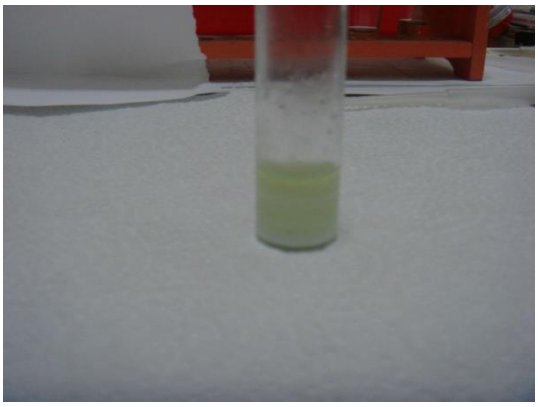
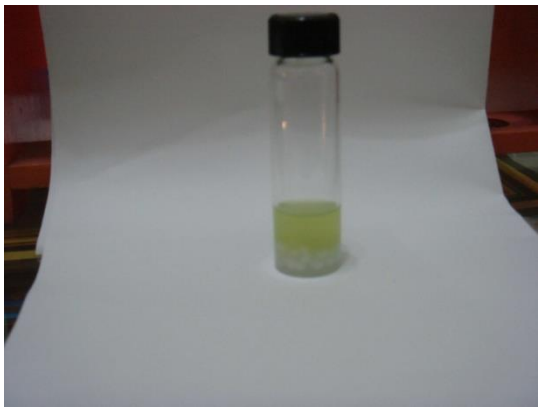
實驗 4-1-1:硫酸銅與葉綠素反應並去除水分

結果:

1.硫酸鎂除水效率不佳，會使溶液混濁，無法檢測螢光，或需長時間沉澱。

2.氯化鈣除水效率不佳，占了大部分的溶液體積，難以取出葉綠素。

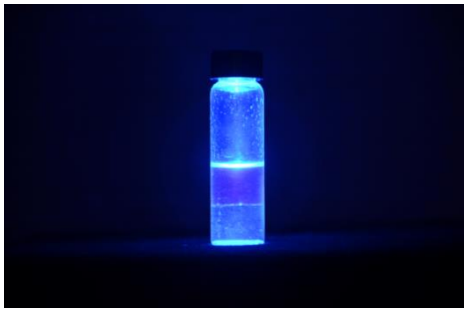
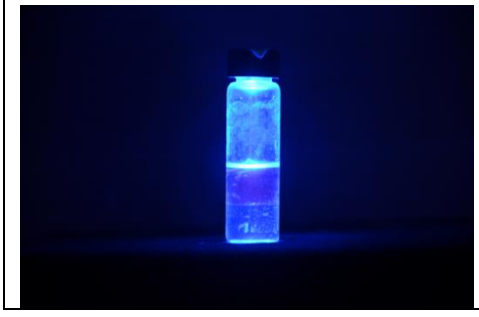
3.加入氯化鈣後再加入正己烷，本來希望 加入與水不互溶的正己烷，體積增加後，能把水趕至氯化鈣，以取出葉綠素；但意外發現正己烷層有紅色螢光，代表葉綠素與正己烷可互溶；因此決定直接以正己烷萃取出葉綠素。

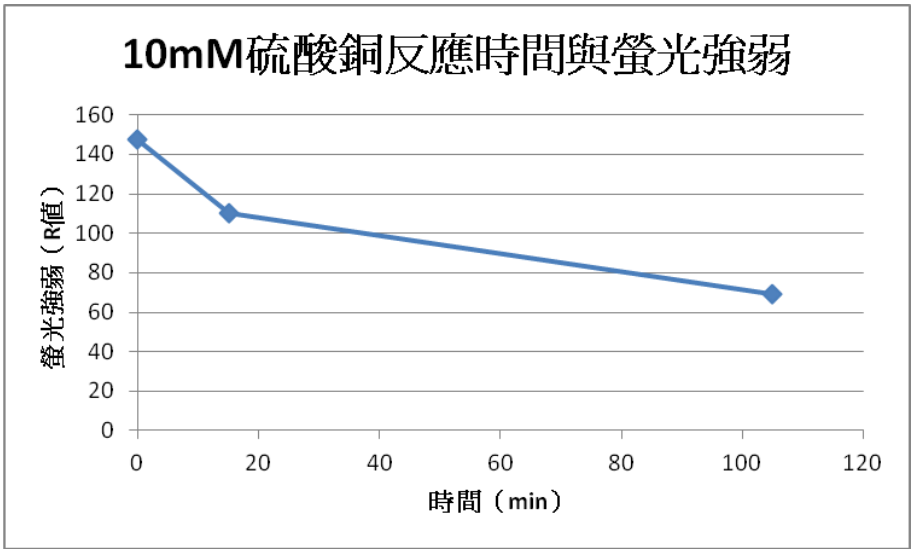
硫酸鎂除水（圖 4-1-1）	氯化鈣除水（圖 4-1-2）
	

實驗 4-1-2:不同濃度的硫酸銅溶液 (10 mM、100 mM)與葉綠素(濃度 3)的反應(0-640 min)，以藍光 LED 檢測系統分析螢光。

結果：

1. 10 mM 硫酸銅反應時間與螢光強弱

0 min (圖 4-2-1) R 值: 148	15 min (圖 4-2-2) R 值:84
	
1 hr 45 min (圖 4-2-3) R 值:68	
	

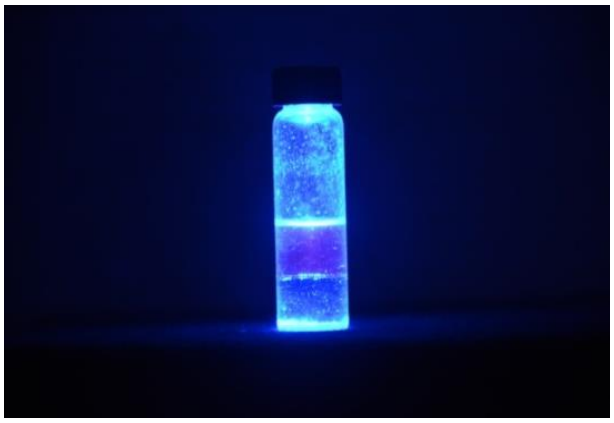
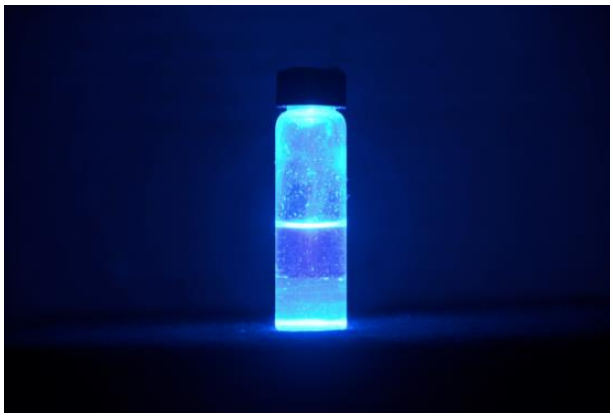
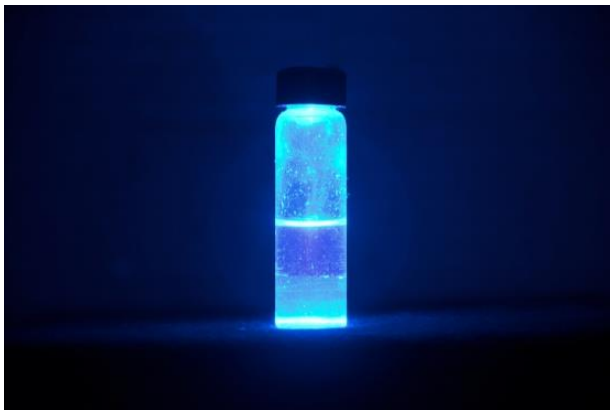


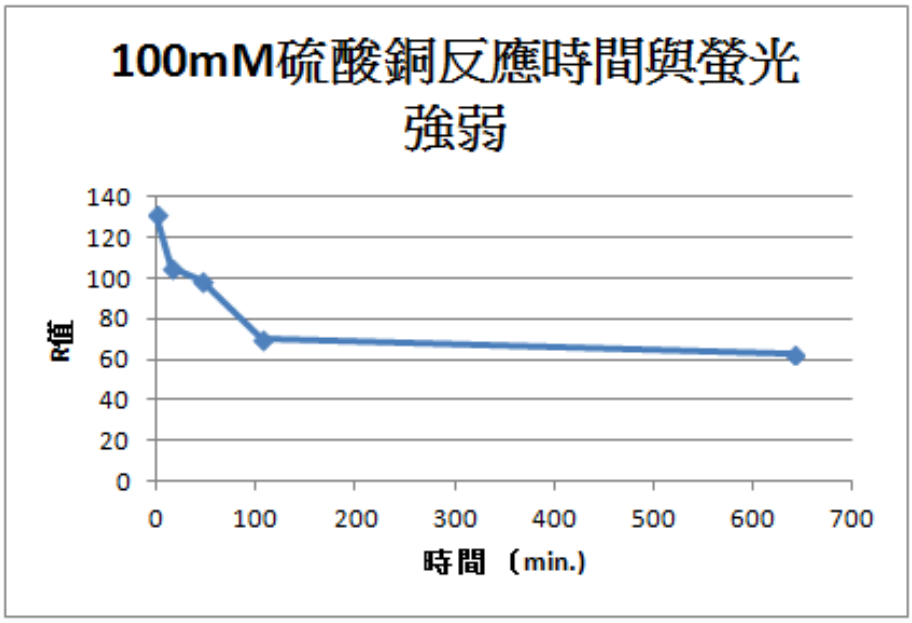
反應時間越久，螢光越弱，表示應該有銅葉綠素的形成，導致螢光減弱。

計算:
1. 1.5 ml 的葉綠素水溶液中，有幾莫耳的葉綠素?
(1)4 ml 的葉綠素溶液中的葉綠素莫耳數
0.005 g×3/100×1/900MW=1.67×10^{-7} mole
(菠菜中葉綠素的含量約 3%)
(2)1.5 ml 的葉綠素溶液中的葉綠素莫耳數
$1.67\times10^{-7}\times1.5/4=6.25\times10^{-8}$mole
可得知葉綠素和硫酸銅的莫耳數為 1:1 時，需要 6.25×10^{-8}mole 的硫酸銅
2. 1.5 ml 的硫酸銅水溶液(10 mM)中，有幾莫耳的硫酸銅?
10×10^{-3}(mole/l)×1.5/1000(l)=1.5×10^{-5}(mole)
可得知 1.5 ml 的硫酸銅水溶液 (10 mM) 是過量反應物。

2. 100 mM 硫酸銅反應時間與螢光強弱

0 min (圖 1) R 值:131	15 min (圖 2) R 值:102

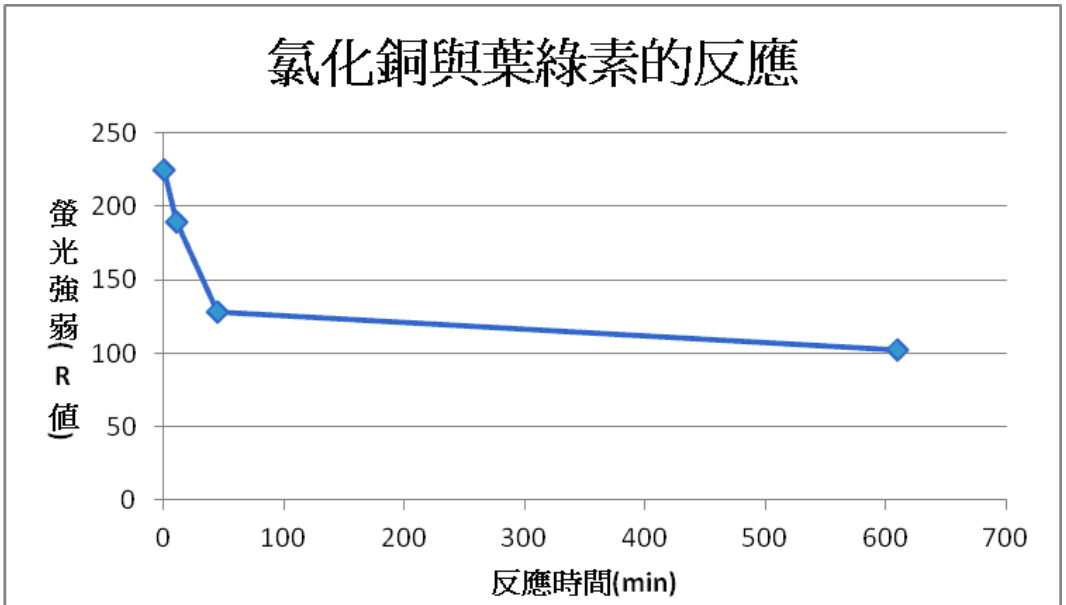
<table>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>45 min (圖 3) R 值:101
  </td><td>1 hr 45 min (圖 4) R 值: 72
  </td></tr>
<tr><td>10hr 40 min (圖 5) R 值:66
  </td><td></td></tr>
</table>



比較 100 分鐘內的螢光變化，發現不同的硫酸銅濃度 (10mM、100mM) 對反應速率的影響不大，推測反應效率只和葉綠素的濃度有關。由於 100 mM 硫酸銅溶液已呈淡藍色，為了了解藍色溶液對螢光偵測的影響，我們也把正己烷層抽出來測螢光，結果螢光值與直接測量的結果沒有不同，證明藍色溶液對螢光偵測沒有影響。

實驗目的 4-2: 銅離子與葉綠素的反應-葉綠素與氯化銅反應時間對螢光的影響

實驗 4-2-1:
在葉綠素中加入氯化銅 (10 mM)，逐漸延長葉綠素 (濃度 2.6) 與銅離子反應時間 (0、10、45、610 分鐘)，以藍光 LED 檢測系統分析螢光。
結果:
RGB 空白實驗: 取酒精(95%)1.5 ml＋氯化銅 1.5 ml (5mM，1mM，0.25mM)，加入正己烷，萃取 10 min。
R 值:17±5



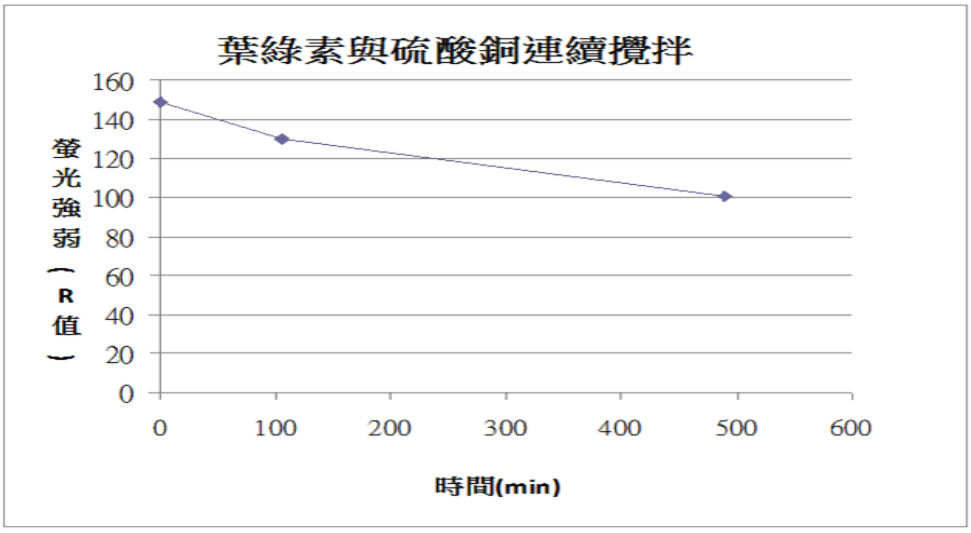
葉綠素與氯化銅反應時間與螢光強度關係圖

發現氯化銅與葉綠素反應速率較硫酸銅快，因為氯化銅與乙醇互溶。

實驗目的 5-1: 不同反應條件對反應速率的影響--探討連續攪拌對反應的影響

實驗 5-1-1:葉綠素 (濃度 3) 與**硫酸銅** (10 mM) 連續攪拌 (0-490 min)，以藍光 LED 檢測系統分析螢光。

結果:

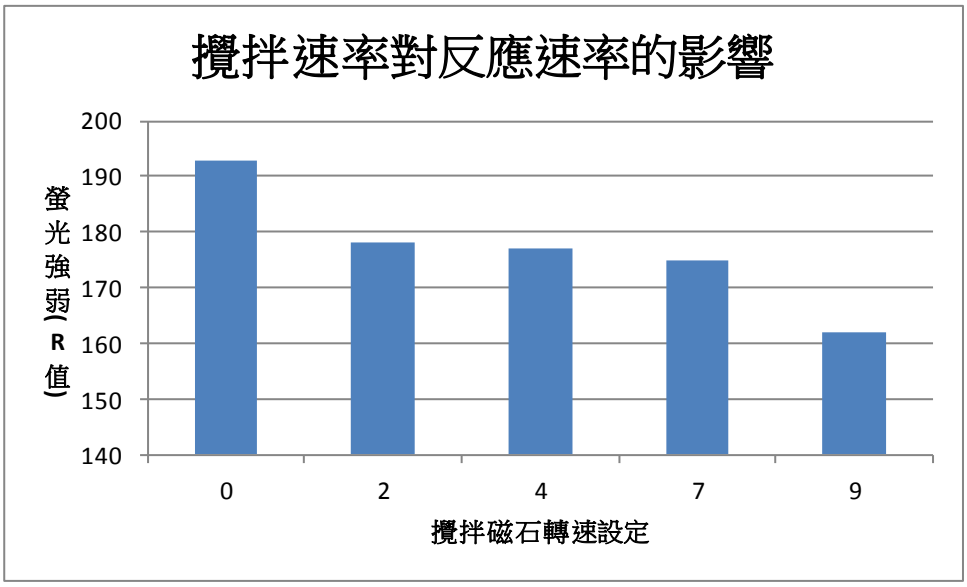


我們之前是連續搖十分鐘，再靜置並控制反應時間，想了解若以攪拌器連續攪拌對反應速率是否有影響。發現連續攪拌對反應速率的影響不大。

實驗目的 5-2：反應條件對反應速率的影響--探討連續攪拌的速率對反應的影響

實驗 5-2：取葉綠素溶液 1.5 ml（濃度 2.6）+**氯化銅** 1.5 ml (10 mM)，分別以不同攪拌速率攪拌 15 分鐘。加入正己烷 3 ml，控制萃取時間 10 min，以藍光 LED 檢測系統分析螢光。

結果：



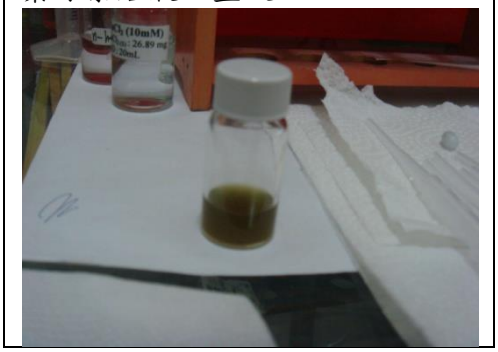
磁石攪拌器設定:轉速設定 1-10 的轉速範圍為 60-1150 rpm/min。
紅光強度隨著設定(0、2、4、7、9)增加而下降，表示反應速率會隨攪拌速率變快而加快，我們選擇轉速設定 7，因為轉速太高時樣品瓶會劇烈晃動。

實驗目的 5-3：反應條件對反應速率的影響--鹽酸對葉綠素與氯化銅反應速率的影響

實驗 5-3：取葉綠素溶液 1.5 ml（濃度 2.5）＋ 鹽酸 (2 M) 4 滴＋氯化銅 1.5 ml (10 mM)，反應 10 分鐘。加入正極烷 3 ml，控制萃取時間 10 min，以藍光 LED 檢測系統分析螢光。對照組以水代替氯化銅。

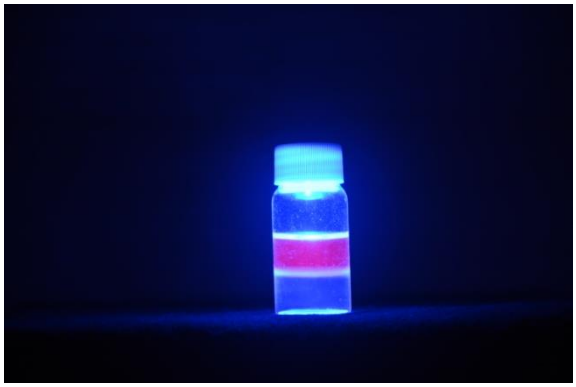
結果：

葉綠素溶液＋鹽酸

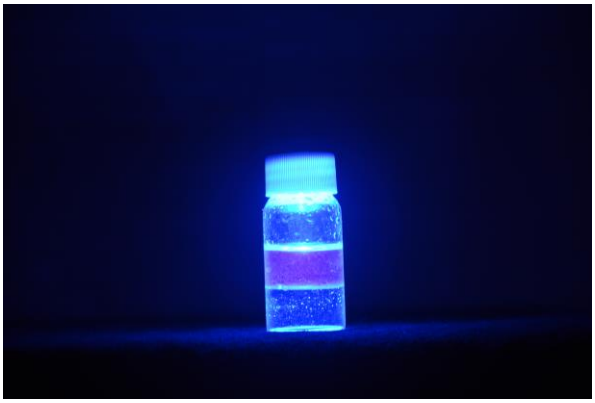


加酸後，葉綠素會呈現棕色。

鹽酸+氯化銅(圖 5-3-1) R 值:209



鹽酸+水(圖 5-3-2) R 值:202

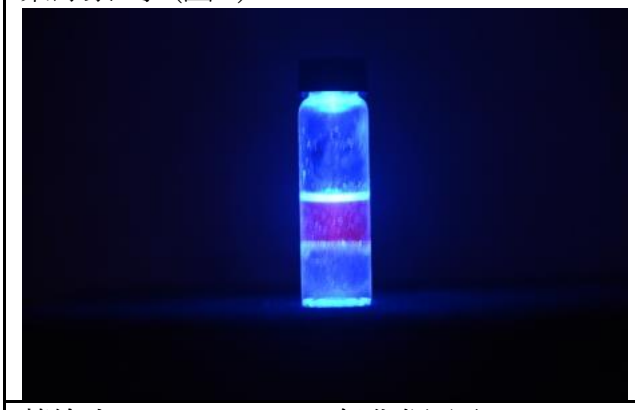


因為酸會使鎂離子脫離葉綠素，我們希望能加速銅葉綠素形成。結果發現加酸的葉綠素無法與氯化銅的反應。

實驗目的 6: 探討銅離子的定量與偵測極限

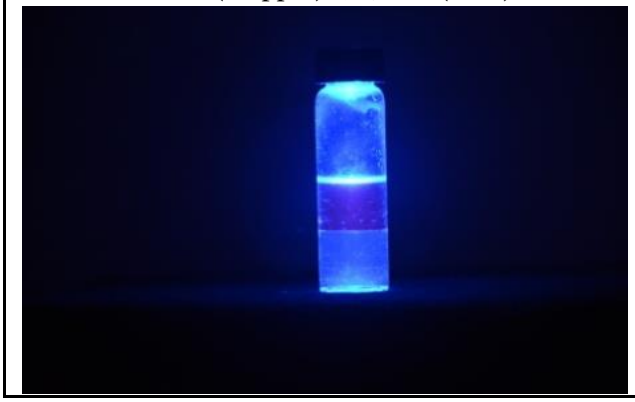
實驗 6-1:葉綠素 1.5 ml (濃度 3)與不同濃度氯化銅 1.5 ml 反應 10 分鐘，加入己烷萃取後以藍光 LED 檢測系統分析螢光。

葉綠素+水 (圖 1)



葉綠素+5 mM (318 ppm) 氯化銅 (圖 2)

葉綠素+1 mM (64 ppm) 氯化銅 (圖 3)



葉綠素+0.25 mM (16 ppm) 氯化銅 (圖 4)

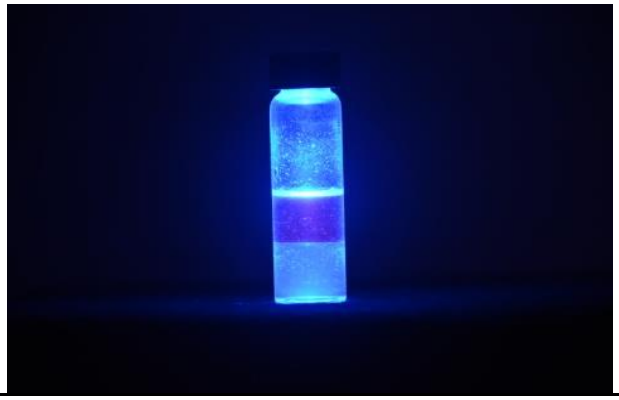
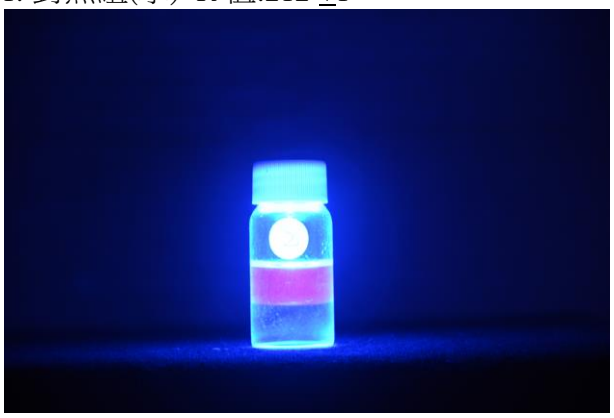
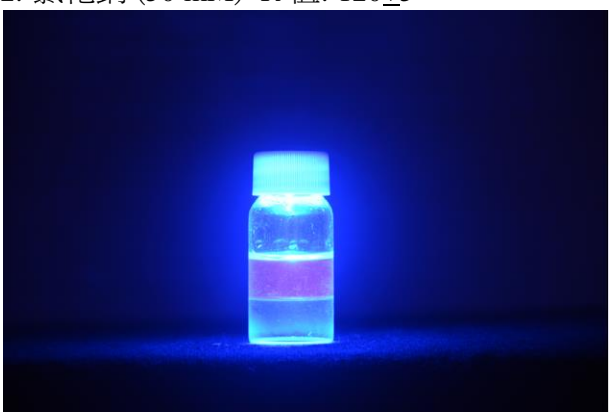
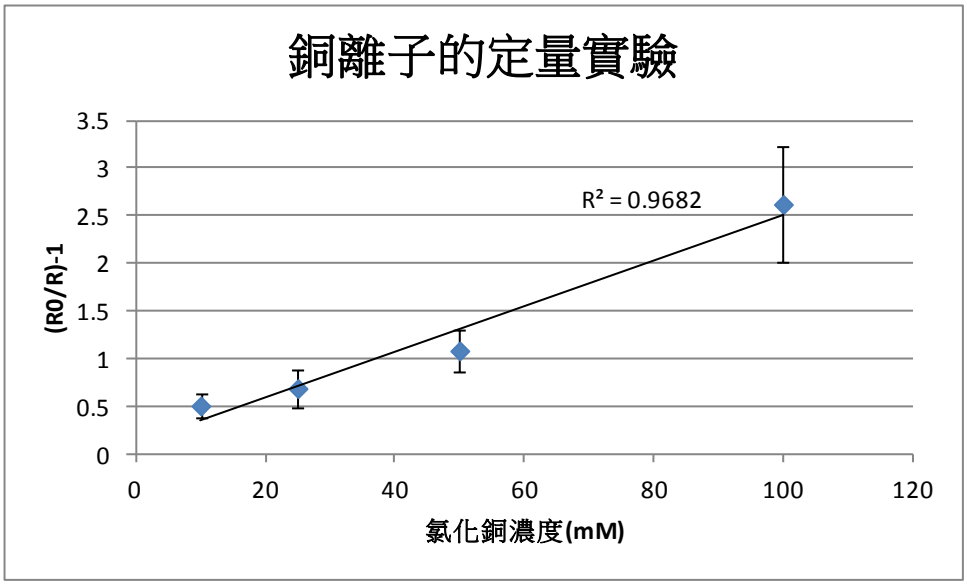


圖 1、2、3、4 R 值依序為:135±15，80±5，88±8，96±6 (此為實驗 3 次所得之數據)
螢光變化不明顯，但仍有下降趨勢。

實驗 6-2: 取葉綠素溶液 1.5 ml (濃度 2.6)＋氯化銅溶液 1.5 ml (10 mM，25 mM，50 mM，100 mM)，反應 150 分鐘。對照組: 葉綠素溶液 1.5 ml (濃度 2.6) + 水 1.5 ml，反應 150 分鐘。

結果:

1. 對照組(水) R 值:212 ±1	2. 氯化銅 (50 mM) R 值: 120±3
	



上表為 3 次重複實驗所得數據。當以 R 值對銅離子濃度做圖時，並沒有線性關係，查資料後，知道假設銅離子與葉綠素結合後螢光會消失，可以用 Stern-Volmer 方程式[5]，計算螢光強度的減弱程度與銅離子濃度之關係。

$$\frac{R_0}{R} = 1 + K \cdot [Q]$$

螢光強度的減弱與反應物[Q]的關係:

R_0：為沒有反應物[Q](銅離子)存在下之螢光強度；R：為銅離子存在之螢光強度；[Q]：為加入銅離子之濃度；K：為 Stern-Volmer 常數。

K 值越大，消光作用越強，表示銅葉綠素越容易形成，在靜態消光的情況下，若以 $(R_0/R)-1$ 當作縱軸而以銅離子濃度 [Q] 當作橫軸可得一線性關係。此一線性關係之斜率即為 Stern-Volmer 常數。

實驗 6-3: 取葉綠素溶液 1.5 ml (濃度 2.6)＋氯化銅溶液 (1.6 ppm) 1.5 ml，反應 650 分鐘，加入 3 ml 己烷。對照組以水代替氯化銅水溶液。

結果:

1. 1.6 ppm R 值:135±2(圖 1)

2. 對照組 R 值:208±3

陸、討論

一.葉綠素螢光的特性

一開始我們以白光 LED 手電筒測量螢光，測量紅光 R 值後，發現濃度高的葉綠素溶液螢光比濃度較低的弱，結果與預期相反，同時也發現濃度高的葉綠素一半有螢光，另一半仍呈綠色，顯示紅光無法穿透葉綠素。因為白光 LED 中含有紅光，為避免紅光影響實驗結果，決定改成使用藍光 LED。發現市面上很少有藍光 LED，只有**藍光 LED 的散光燈泡**，因此光線向四面發射，**為解決光線不是單向的問題，我們在紙板上切割一個與樣品瓶底部面積相似的圓孔，達到固定光源方向的目的**。

為了解葉綠素濃度與螢光的關係，配製一系列不同濃度葉綠素，發現螢光會隨著濃度增加而上升，之後又下降，顯示葉綠素濃度愈高螢光不一定較強。綜合白光與藍光的結果，可以知道葉綠素濃度高時，光源在靠近瓶底部分就會被葉綠素吸收殆盡，以致於光線無法照射到所有的葉綠素，因此葉綠素的上半部沒有紅色螢光出現。測量紅光 R 值後，發現濃度高的葉綠素溶液螢光比濃度較低的弱，表示**高濃度時，吸收藍光的葉綠素周圍的其他未吸光的葉綠素會吸收發出的螢光，使得螢光無法被偵測器測到，造成螢光**

減弱 ，這是「自我吸收」的現象。在低濃度葉綠素時，螢光與濃度則呈線性關係，更進一步證實了葉綠素濃度高時，的確是「自我吸收」的現象。

二.葉綠素的萃取方法與葉綠素螢光的測量方法

了解「自我吸收」的現象後，確定以照相機作為偵測器是可行方法。為了方便金屬的檢測，了解往後是否可用食用酒萃取葉綠素，實驗使用不同濃度的酒精萃取。發現**99.5%酒精萃取效果最好，66.5%酒精萃取效果較差**，得知**用食用酒(高粱)萃取葉綠素效果並不會很好，但仍可以萃取出葉綠素進行實驗**。

為了能準確測量金屬對螢光的影響，須**去除反應溶液中的水，避免水對螢光的干擾**。硫酸鎂會和酒精結合，溶液呈混濁，須長時間沉澱，無法準確檢測葉綠素。氯化鈣除水效率不佳，若要達到除水效果，必須加入大量氯化鈣。氯化鈣會佔據大部分的體積，代表我們必須增加溶液配製量，我們為了取出葉綠素，**加入與水不互溶的正己烷**，體積增加後希望能把水趕至氯化鈣，以取出葉綠素。加入正己烷後，卻**發現正己烷跑到最上層**，正己烷雖然與酒精互溶，但因為水與酒精也互溶，因此導致度正己烷與酒精水溶液分層。照光檢測後，**發現正己烷層有紅色螢光，顯示葉綠素可溶於正己烷**，因此決定不經過除水，**直接以正己烷萃取出銅葉綠素，結果證實萃取效率很好**，因為**銅離子水溶液與葉綠素酒精溶液混合反應後，產生的油溶性的銅葉綠素**；在非極性正己烷中的溶解度應該比水與酒精的溶液大很多。

三.水對螢光的影響

將銅離子水溶液加入葉綠素中直接測螢光時，發現螢光會減弱，剛開始這個發現令人振奮，但是後來也發現**將水加入葉綠素中，螢光也會減弱**，而**螢光全部消失需要加入水的體積，與螢光濃度成反比**，也就是葉綠素濃度越濃時，只要加入較少量的水就能使螢光全部消失，推測其原因應該與葉綠素不溶於水有關，**當葉綠素酒精溶液與水混合時，水會導致葉綠素聚集，使得螢光減弱**，這個現象在葉綠素濃度越濃時，應該越明顯。

四.銅離子與葉綠素的反應

10mM、100mM 硫酸銅與葉綠素反應，發現反應速率差不多，對與此現象有兩種解釋:

1. 此為擬一級反應，所以只跟葉綠素濃度有關。

2. 因為硫酸銅不溶於乙醇，所以溶在乙醇水溶液的量應該是固定的。

解釋 2 比較合理，結果也顯示銅和葉綠素反應並不慢，不需太大的濃度。因為氯化銅溶

於乙醇，為了比較二種解釋的合理性，於是又做了氯化銅與葉綠素的反應時間對螢光的影響 (實驗 4-2)，結果發現葉綠素螢光的變化較快。所以的確是**不同種類銅化合物在乙醇中的溶解度不同，影響與葉綠素的反應**；若溶解度愈大，反應會愈快。

由於較長反應時間後幾乎看不到螢光，推測**銅葉綠素產生的螢光應該很弱或是完全沒有螢光**，這個現象顯示我們應該**可以利用螢光偵測來鑑定食用油品中是否有銅葉綠素，如果是天然葉綠素應該會有紅色螢光，如果是銅葉綠素則看不到螢光。**

五.反應條件對反應速率的影響

我們之前是連續搖十分鐘，再靜置並控制反應時間，想了解若以攪拌器連續攪拌對反應速率是否有影響，在氯化銅的實驗中，紅光強度隨著攪拌速率增加而下降，也就是**反應速率會隨攪拌速率變快而加快**。

因為葉綠素加入酸，鎂離子會脫離葉綠素。在葉綠素溶液中加入鹽酸，將沒有鎂離子的葉綠素與氯化銅反應。在加入銅與沒有銅的螢光實驗中，發現螢光強弱沒有改變，表示沒有銅葉綠素的形成。分析其原因，應該是**被酸化的葉綠素與金屬結合的反應中心被氫離子占據，所以無法與銅離子反應**。

六.探討銅離子的定量與偵測極限

葉綠素與不同濃度的氯化銅反應中，發現螢光有下降趨勢，但是變化較不明顯。在增加葉綠素濃度與反應時間後，將螢光減弱的相對程度(反應前後 R 值比)與銅離子濃度作圖，因為重複實驗是在不同天進行加上簡易的偵測系統，有一些誤差出現，但是圖形仍然呈現不錯的線性關係，證明本方法可以作為銅離子的定量。為了降低偵測極限，我們將反應時間拉長，即使是 1.6 ppm 的銅離子，我們也可以觀測到螢光減弱。

柒、結論

一、我們觀察到一個很有趣的物理現象-**螢光自我吸收**，也就是**葉綠素濃度太高時，螢光會被周圍葉綠素吸收，導致螢光反而下降。**

二、**葉綠素在沒有自我吸收時，葉綠素濃度與螢光強度成正比**。

三、**葉綠素濃度越高，水的出現越容易造成葉綠素聚集**的現象。因此在葉綠素溶液中逐量添加水時，濃度高的葉綠素溶液的螢光容易減弱或消失。

四、**95%酒精萃取效率最好，66.5%酒精萃取效率普通**，47.5%、28.5%酒精萃取效率不好。

五、銅離子與葉綠素反應速率會隨攪拌加快而變大。

六、根據銅與葉綠素反應結果，可利用**紅色螢光產生與否，來初步鑑定食用油中是否有銅葉**

綠素。

七、開發出**利用正己烷萃取，即時偵測追蹤反應螢光的方法**。此方法**可檢測到 1.6 ppm 的銅離子，接近國家飲用水銅的允許濃度 (1 ppm)**。

捌、參考資料及其他

1. 張純偉、劉雙，2007.09.01，重金屬對植物光合作用的影響研究進展

http://www.zhiwutong.com

2.葉綠素結構圖-維基百科

3.葉綠素吸收光譜-維基百科

4.鄭翔仁，2007，. "銅, 鋅, 鎘對菸草吸收重金屬之交互影響."臺灣大學農業化學研究所學位論文 1-84.

5. 朝陽科技大學-應用化學系物理化學實驗 實驗 8.

【評語】030205

同學能結合時事，從葉綠素來看假的橄欖油的問題真的非常好。假如在市場調查時能做更詳盡的紀錄會更好。再往下延伸時，可以討論其他色素的干擾問題，例如花青素。