

中華民國第 58 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國中組 化學科

佳作

030210

建立可溶性澱粉定量法應用於辨別蜂蜜優劣

學校名稱：臺南市私立瀛海高級中學(附設國中)

作者： 國三 施柔安 國三 方彩丞 國三 鄭宇廷	指導老師： 黃勤展 薛 龍
---	-----------------------------

關鍵詞：澱粉、水解、真蜂蜜

摘要

過去教材檢驗澱粉，皆討論其與碘液結合所生成藍色錯合物為主，然混合溶液中過量的碘液將會干擾藍色的呈現，不論在目視或是使用分光計都難以比較實際澱粉含量多寡，研究中，發現藉由控制碘液的濃度能迫使藍色錯合物以固體方式自碘液中析出，即推論澱粉與碘液的系統中存在溶解平衡 $K_{sp}(\text{I}_2\text{-starch}(s)) = [\text{I}_2(\text{aq})]^m[\text{I}_2\text{-starch}(\text{aq})]^n$ 關係。將各種澱粉來源所得之藍色錯合物均以此法純化後，經過歸納法找到 $\lambda_{\text{max}}=610\text{nm}$ ，搭配本研究建立之澱粉檢量線 $A=23.669x-0.0413$ ，對 30 種市售餅乾的澱粉作定量，發現乖乖的澱粉含量高達 40%；將純化後藍色固體溶於水可得自製澱粉酶檢測液，賣點在於能更準確將澱粉水解曲線數據化；使用標準品 $\alpha\text{-amylase}$ 繪製水解網格以對應蜂蜜的澱粉水解曲線，就能大致判定蜂蜜所含澱粉酶濃度。

壹、研究動機

在我們的生活中，常看到報紙或新聞的健康專欄中寫道：「如果人的生理機能可以正常運作，人就不會常常為病痛所苦。」而我們看到這幾則消息後，決定上網查資料及向老師提問，我們在這過程中得知，人體生理機能運作的好壞除了與生活作息有關聯外，就是以能量的攝取為主，而能量來源大部分來自於熱量的攝取，人類能從中攝取熱量的物質主要為澱粉，其次則是脂質及蛋白質，因此我們選用澱粉為主要成分的食品來進行實驗，想得知我們平常生活中常吃的零食、食品能為我們的人體補充多少能量，藉以維持每日適當的攝取量也同時為身體補充足夠的能量。

近年來，由於氣候的變遷及人類的過度開發，蜜蜂的數量日趨降低，產蜜量也越來越少，因此市面上流通著許多摻雜假蜂蜜的「蜂蜜」，國中的課本也有補充道：「在台灣的市場流通的蜂蜜，有許多都並不全是蜂蜜，而是化學下的產物。」在看到了這篇文章後我們便想利用實驗來分辨蜂蜜的優劣，藉以得知日常生活中所攝取的蜜是否天然。

貳、研究目的

1. 建立可溶性澱粉標準萃取程序
2. 建立檢測水中可溶性澱粉含量的方法
3. 探討市售餅乾中可溶性澱粉含量比較
4. 探討溫度對澱粉水解速率的影響
5. 探討口水對澱粉的水解速率
6. 建立標準品 $\alpha\text{-amylase}$ 之水解曲線
7. 探討市售蜂蜜的優劣

參、研究設備及器材

一、藥品

名稱	學名	化學式	來源
可溶性澱粉	Soluble starch	$(C_6H_{10}O_5)_n$	立統
碘化鉀	Potassium iodide	KI	立統
碘酸鉀	Potassium iodate	KIO ₃	立統
硫酸	Sulfuric acid	H ₂ SO ₄	立統
樹薯粉	Tree Flour	-	超商
玉米粉	Corn Starch	-	超商
高筋麵粉	High-gluten flour	-	市場
中筋麵粉	Medium flour	-	市場
低筋麵粉	Soft-gluten flour	-	市場
pH6.5 緩衝液	Buffer solution	NaH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄	立統
澱粉酶	α -amylase enzyme	-	立統
去離子水	Deion water	H ₂ O	立統

二、設備或器材

名稱	學名	名稱	學名
燒杯	Beaker	洗滌瓶	Wash bottle
漏斗	Funnel	定量瓶	Graduated flask
滴管	Drop	試管架	Tube holder
濾紙	Filter paper	酸鹼計	pH meter
試管	Tube	超音波震盪器	Ultrasound oscillator
秤量紙	Weight paper	鑷子	Tweezers
防風電子秤	Balance	微量吸量管	Pipette
分光光度計	Spectrophotometer	光度計樣品槽	Test cell
離心管	Centrifuge	離心機	Centrifuge tube
恆溫槽	Thermostatic water bath	研鉢、研杵(杵臼)	Mortar and pestle
量筒	Graduated cylinder	樣品瓶	Sample bottle

圖示			
說明	玻璃容器(燒杯漏斗試管量筒定量瓶)及耗材(滴管秤量紙)以及洗滌瓶、試管架	磁石加熱攪拌器及攪拌子	分光光度計

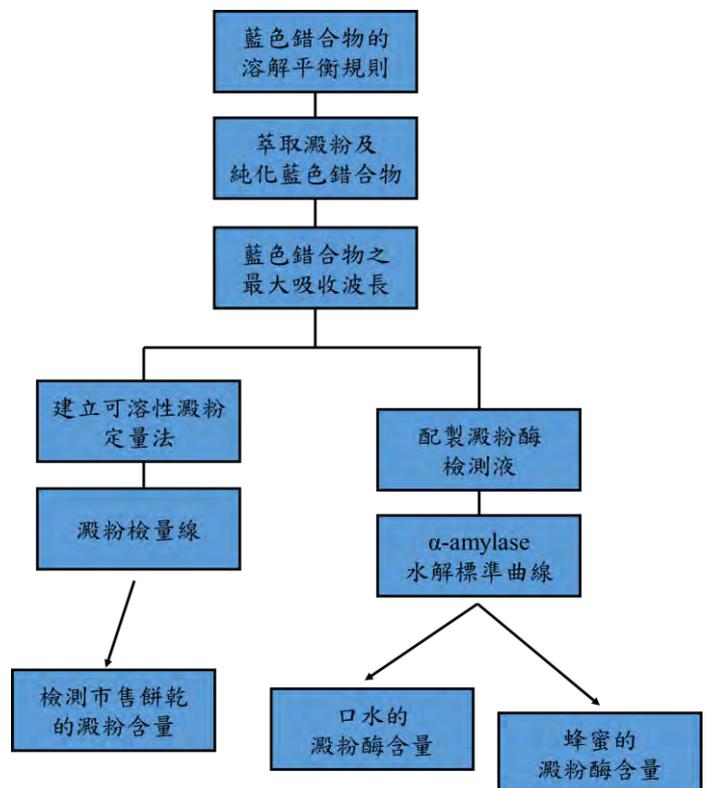
圖示			
說明	刻度吸量管	三位數防風天平	酸鹼計
圖示			
說明	研鉢、研杵(杵臼)	長型試管架	離心機
圖示			
說明	微量吸量管	濾紙	鑷子

肆、實驗原理

一、實驗架構

為建立並定量食品中可溶性之澱粉含量，研究以實驗澱粉與碘結合形成藍色錯合物，並在碘液的滴定下發現兩者結合產生 I_2 -starch 固體沉澱過程具有「飽和規則性」，利用此規則性從而自原混合溶液中有效分離 I_2 -starch 藍色固體，此即為本研究建立之「可溶性澱粉分離法」。接著，實驗將坊間澱粉食品均以定量熱水萃取並與過量碘結合，並善用上述藍色固體分離方法，移除碘分子對吸收光譜之干擾，繪出不同來源之純 I_2 -starch 的吸收光譜圖，進而歸納得到 I_2 -starch 錯合物的最大吸收波長。以此波長為偵測手段，並搭配可溶性澱粉分離法，就可以對市售餅乾的可溶性澱粉含量進行「數據化」的比較。

利用以上研究所建立之方法，可以使用適量去離子水稀釋並配製出 1.0 A 的自製澱粉酶檢測液，用於測定口水或是市售蜂蜜對澱粉的水解速率，除了可以推知澱粉水解速率外，以 α -amylase 標準品製作水解標準曲線，就可以推知待測物中的澱粉酶含量，作為簡易評辨蜂蜜品質的手段。



二、濃度計算

(一) 體積莫耳濃度 C_M

1. 定義：每公升的溶液中含有溶質的莫耳數。
例如 0.1 M 的氫氧化鈉水溶液代表每 1 公升的水溶液中含有 0.1 莫耳的 NaOH。
2. 公式： $C_M = \frac{\text{溶質莫耳數 (mole)}}{\text{溶液公升數 (L)}}$ 。單位：莫耳/公升(簡單記為 M)，念作 Molar。

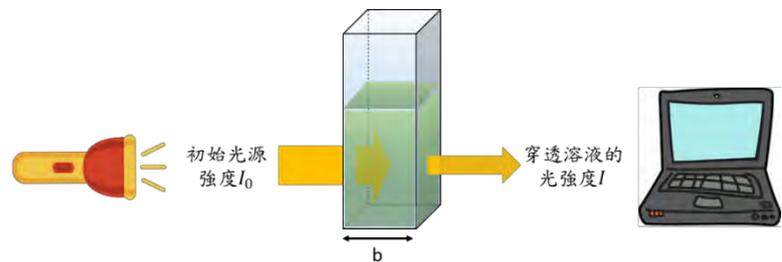
(二) 百萬分點濃度 ppm

1. 定義：每公斤的溶液中含有溶質的毫克數。
例如 10 ppm 的銅離子水溶液代表每 1 公斤的水溶液中含有 10 毫克的銅離子。
2. 公式： $C_{ppm} = \frac{\text{溶質毫克數 (mg)}}{\text{溶液公斤數 (kg)}} \approx \frac{\text{溶質毫克數 (mg)}}{\text{溶液公升數 (L)}}$ 。單位：ppm = parts per million。

三、比爾定律

(一) 穿透率

$$T = I/I_0$$



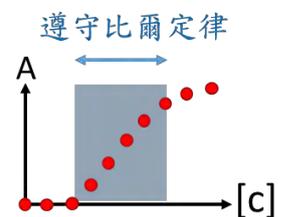
經過數學轉換

定義吸收度 $A = -\log T$

例如 $A=1$ 與 $A=2$ 表示兩個不同濃度的溶液其吸光程度差 10 倍

(二) 吸收度(Absorbance)

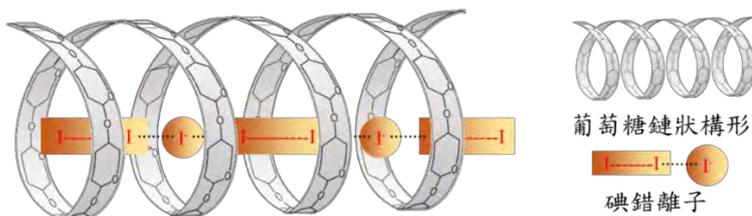
1. 公式 $A = \epsilon b [c]$ ：吸收度在特定濃度範圍與物質濃度成正比
 ϵ 稱為吸光係數：與物質種類有關
 b 稱為光徑：通常為 1 cm
 $[c]$ 是物質的濃度：單位通常為體積莫耳濃度 M
2. 當吸收度與物質濃度呈現正比關係稱為比爾定律(Beer's law)
 - ✓ 當物質濃度過高會使物質吸收度偏離正比關係
 - ✓ 物質的吸收度低於儀器的偵測極限時會導致實驗誤差
 - ✓ 遵守比爾定律者才適合做為檢驗物質濃度的光度檢量線



四、澱粉與 I_3^- 螯合形成紫色錯合物

(一) 配位情形

葡萄糖以鏈狀構形將碘液分子環繞螯合在中心，形成的化合物稱為配位化合物，又稱錯合物，根據文獻約每 20~30 個葡萄糖環纏繞在碘分子周圍。



(二) 配位效應

當澱粉與 I_3^- 結合之後，會改變分子原本的顏色以及吸光值，本實驗利用 I_2 -starch 藍色錯合物的顯色特性，提高分光計偵測水中無色澱粉濃度的靈敏度。

為方便記錄，將澱粉(starch)與碘液($I_{2(aq)}$)結合之錯合物稱為 $[I_2\text{-starch}]$ 。

五、溶度積常數 K_{sp}

(一) 溶解平衡的概念

定溫下，當固體物質在水中的溶解度受到水中特定物質濃度影響時，就可以建立一個數學等式用於描述該固體物質溶解情況與水中其他物種存在的平衡關係。

(二) 澱粉與碘形成之錯合物在水中溶解度與碘液濃度關係

伍、研究過程與方法

一、實驗一、配製不同濃度的碘液

(一) 步驟

步驟 1-1 校正天平，調整天平兩個前腳使平衡氣泡回歸到圈內。

步驟 1-2 秤取 5.53 g 碘化鉀與 0.71 g 碘酸鉀，分散於 50 mL 水中並攪拌溶解。(呈淡黃色)

步驟 1-3 以 0.01 M 硫酸調整 pH=7.0，再使用 100 mL 定量瓶配製成 0.100 M 之深棕色碘液。

步驟 1-4 依此比例稀釋或是配製其它濃度的碘液。(0.002、0.004、0.006、0.008、0.010、0.020、0.040、0.060、0.080、0.100、0.200、0.300 M)

(二) 圖例說明



步驟 1-1
校正過程



步驟 1-2
溶解 KI 及 KIO_3



步驟 1-3
調整呈中性



步驟 1-4
配製成特定濃度

二、實驗二、探討碘液對生成藍色錯合物的影響

(一) 步驟

步驟 2-1 校正天平，調整天平兩個前腳使平衡氣泡回歸到圈內。

步驟 2-2 秤取 0.200 g 可溶性澱粉，分散於 50 mL 熱水中。

步驟 2-3 以重力過濾法取得澱粉澄清液。

步驟 2-4 使用微量滴管吸取 1.000 mL 澄清液分別置於 13 支離心管內。

步驟 2-5 第 1 支加入 0.500 mL 的去離子水為對照組，而在另外 12 支離心管內依序加入

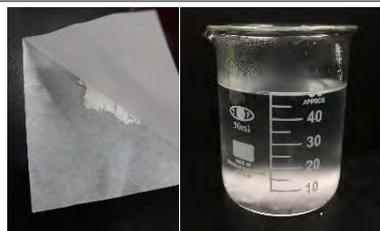
0.500 mL 不同濃度之碘液。(0.002、0.004、0.006、0.008、0.010、0.020、0.040、0.060、0.080、0.100、0.200、0.300 M)

步驟 2-6 搖晃後將 12 支離心管置入離心機(90 rpm)轉動 30 秒後，觀察結果。

(二) 圖例說明



步驟 2-1
秤取澱粉



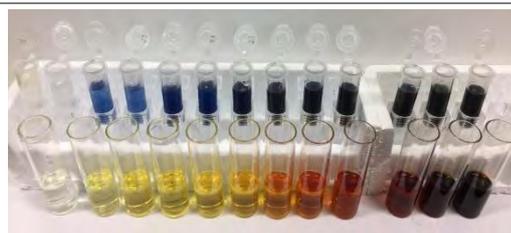
步驟 2-2
熱水溶解澱粉



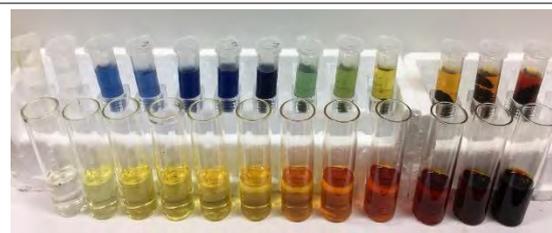
步驟 2-3
過濾得澱粉澄清液



步驟 2-4
移動至離心管



步驟 2-5
加入碘液後的實驗組



步驟 2-6
離心後的實驗組

0.002、0.004、0.006、0.008、0.010、0.020、0.040、0.060、0.080、0.100、0.200、0.300 M

三、實驗三、藍色錯合物的純化並繪製其吸收光譜

(一) 步驟

步驟 3-1 將離心後含有 I₂ 的濾液與藍色沉澱固體(I₂-starch 錯合物)分離。

步驟 3-2 將藍色固體加入水中溶解、震盪並稀釋至適當的濃度。

步驟 3-3 將稀釋液裝入分光槽，以去離子水為背景值，繪出 400~800 nm 的吸收度曲線。

步驟 3-4 重複實驗二~三，並得到高筋、中筋、低筋麵粉、樹薯粉、玉米粉的吸收度曲線。

(二) 圖例說明



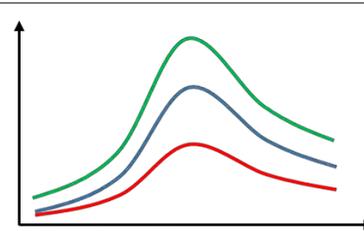
步驟 3-1
分離藍色固體



步驟 3-2
溶解藍色固體



步驟 3-3
測量吸收光譜



步驟 3-4
尋找最大吸收波長

四、實驗四、以最大吸收波長偵測 I₂-starch 飽和溶液中沉澱物的量

(一) 步驟

步驟 4-1 將離心後含有 I₂ 的濾液與藍色沉澱固體(I₂-starch 錯合物)分離。

步驟 4-2 各別收集 1~12 號離心管中藍色固體加入水中溶解並稀釋至 10 mL。

步驟 4-3 各別取 2 mL 稀釋液裝入分光槽，以去離子水為背景值，測量在 610 nm 的吸收度。

(二) 圖例說明



步驟 4-1
各別分離藍色固體

步驟 4-2
溶解藍色固體

步驟 4-3
測量吸收度

五、實驗五、利用本研究建立之方法”比較”市售餅乾中的可溶性澱粉含量

(一) 步驟

步驟 5-1 製作實驗澱粉之檢量線。(將澱粉 0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 g 以 50 mL 熱水溶解並取出 2 mL 轉換成藍色沉澱物後補水至 2 mL，測量檢量點吸收度。)

步驟 5-2 磨製各式餅乾樣本，本研究選用 10 種市售餅乾。

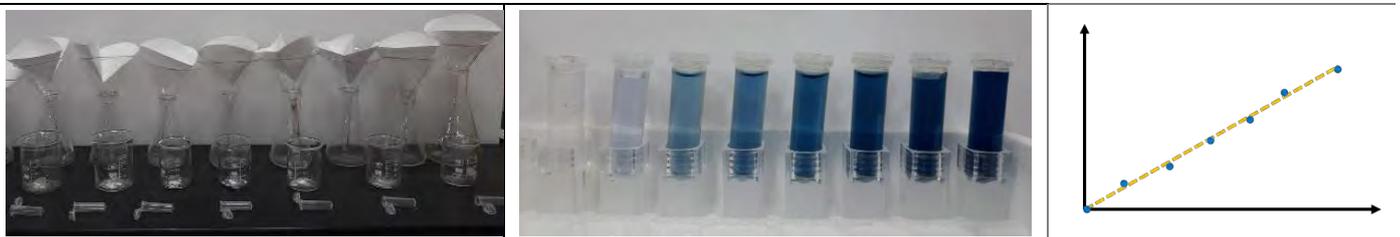
步驟 5-3 秤取餅乾 0.20 g，使分散於 50 mL 熱水，並以重力過濾法取得澄清液。

步驟 5-4 使用微量滴管吸取 1.00 mL 澄清液置於離心管內，並加入 0.50 mL 的 3.0 M 碘液。

步驟 5-5 離心分離藍色沉澱物，以棉花吸取含碘的上層液後，補水至 2.00 mL 成為待測液。

步驟 5-6 將待測液裝入分光槽，以 610 nm 波長偵測其吸光值。並與檢量線對照。

(二) 圖例說明



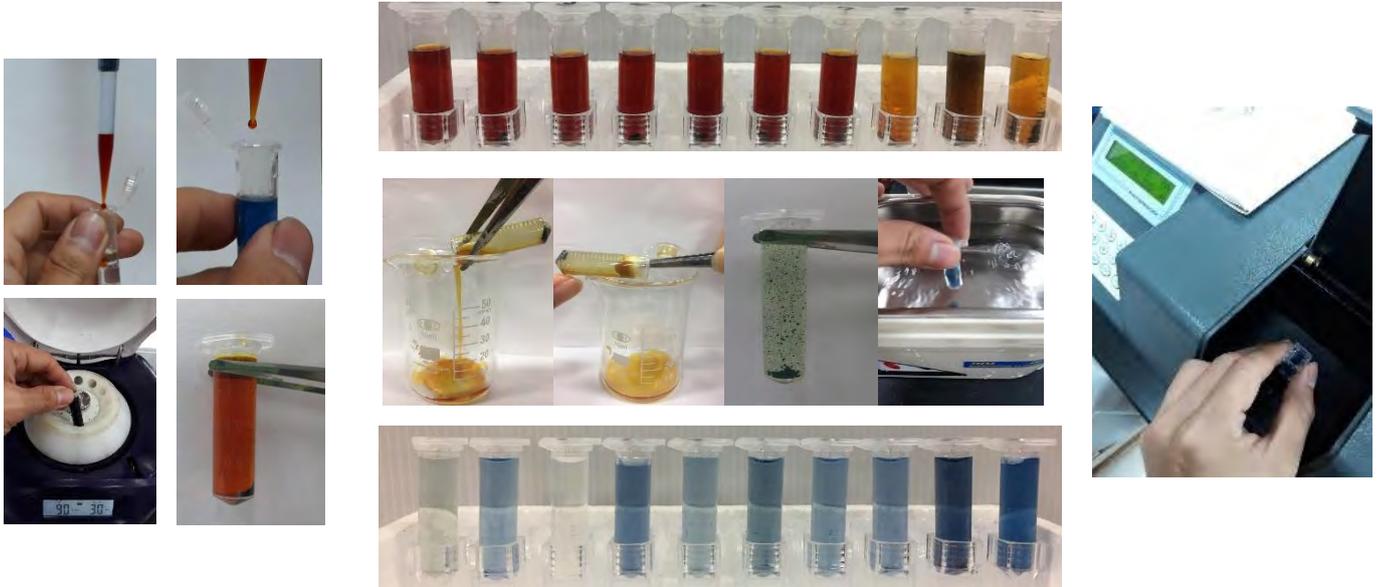
步驟 1
製備澱粉之檢量線



步驟 5-2
準備各式餅乾樣本

步驟 5-3
秤取餅乾

步驟 5-3
熱水配製餅乾的澱粉萃取



步驟 5-4

使澱粉與過量碘液沉澱

步驟 5-5

移除上層碘濾液並製備待測液

步驟 5-6

測量其吸收度

六、實驗六、運用本研究建立之純化法配製吸收度為 1.0 A 的自製澱粉酶檢測液

(一) 步驟

步驟 6-1 秤取可溶性實驗澱粉 0.20 g，使分散於 50 mL 熱水，並以重力過濾法取得澄清液。

步驟 6-2 使用微量滴管吸取 1.00 mL 澄清液置於離心管內，並加入 0.50 mL 的 3.0 M 碘液。

步驟 6-3 離心分離藍色沉澱物，以棉花吸取含碘的上層液後，添加適量去離子水調整溶液吸收度為 1.0 A 成為自製澱粉酶檢測液。

(二) 圖例說明



步驟 6-1

使用熱水配製
實驗澱粉萃取液

步驟 6-2

使澱粉與過量碘液沉澱後
收集藍色固體溶於適量水

步驟 6-3

以分光計監控並調整待測
液吸收度成 1.0 A 附近

七、實驗七、探討澱粉酶標準品(α -amylase)使澱粉水解的降解趨勢圖

(一) 步驟

步驟 7-1 配製 α -amylase 澱粉酶溶液：將 α -amylase 加入 pH6.5 緩衝液稀釋成 0%、1%、2%、4%、6%、8%、10% 水溶液。

步驟 7-2 使用微量滴管吸取 3.00 mL 自製 1.0 A 澱粉酶檢測液分裝於試管，是為 0~5 號，並分別加入 0.05 mL 的 0%、1%、2%、4%、6%、8%、10% 水溶液。

步驟 7-3 常溫下，使試管中澱粉液發生自由水解，以 610 nm 波長偵測 7 支試管，經過約 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 分均測量一次吸收度。

(二) 圖例說明



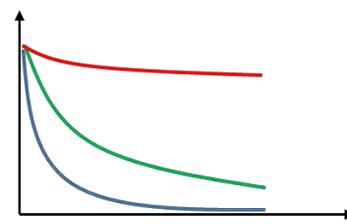
步驟 7-1

配製不同 α -amylase
濃度之澱粉酶溶液



步驟 7-2

調製不同酶濃度之實驗組
並以水作為控制組



步驟 7-3

將數據以 Exel
繪製水解曲線

八、實驗八、探討不同溫度對澱粉酶作用的影響

(一) 步驟

步驟 9-1 配製 α -amylase 澱粉酶溶液：將 α -amylase 加入 pH6.5 緩衝液稀釋成 0%(pH6.5 緩衝液作為對照組)、6%澱粉酶水溶液。

步驟 9-2 使用微量滴管吸取 3.00 mL 自製 1.0 A 澱粉酶檢測液分裝於試管，是為 1~4 號，1、3 號加入 0.05 mL 的去離子水；而 2、4 號加入 0.05 mL 的 6%澱粉酶水溶液。

步驟 9-3 將 1、2 號置於常溫 25°C 下，而 3、4 號置於 37°C 恆溫槽中，使試管中澱粉液發生自由水解，以 610 nm 波長偵測 4 支試管，經過約 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 分均測量一次吸收度。

(二) 圖例說明



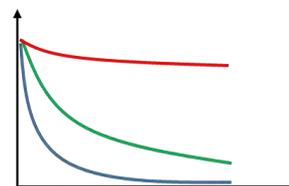
步驟 9-1

配製濃度 0%、6%之
 α -amylase 澱粉酶溶液



步驟 9-2

將配製好的實驗組分別置於室溫中以及恆
溫槽 37°C 裡，並各搭配一水控制組以對照



步驟 9-3

繪製不同溫度下之
水解曲線

九、實驗九、探討口水澱粉酶降解澱粉的水解速率

(一) 步驟

步驟 8-1 配製口水溶液：將口水加入 pH6.5 緩衝液稀釋成 0%、20%、40%、60%、80%水溶液。

步驟 8-2 使用微量滴管吸取 3.00 mL 自製 1.0 A 澱粉酶檢測液分裝於試管，是為 0~5 號，並分別加入 0.5 mL 的 0%、20%、40%、60%、80%的口水溶液。

步驟 8-3 常溫下，使試管中澱粉液發生自由水解，以 610 nm 波長偵測 5 支試管，經過約 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 分均測量一次吸收度。

(二) 圖例說明



十、實驗十、使用本研究建立之檢測法探討蜂蜜的優劣

(一) 步驟

步驟 10-1 配製蜂蜜溶液：挑選市售 4 種蜂蜜配成 0%、20%、40%、60% 之水溶液。

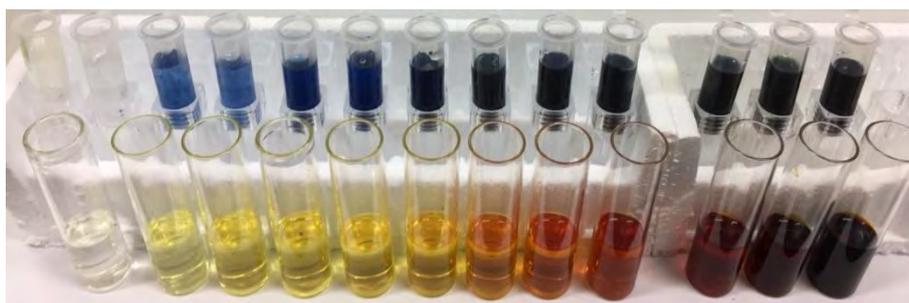
步驟 10-2 使用微量滴管吸取 3.00 mL 自製 1.0 A 澱粉酶檢測液分裝於試管，是為 0~3 號，並分別加入 0.05 mL 的 0%、20%、40%、60% 蜂蜜溶液。

步驟 10-3 常溫下，使試管中澱粉液發生自由水解，以 610 nm 波長偵測 4 支試管，經過 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 分均測量一次吸收度。

陸、實驗結果與討論

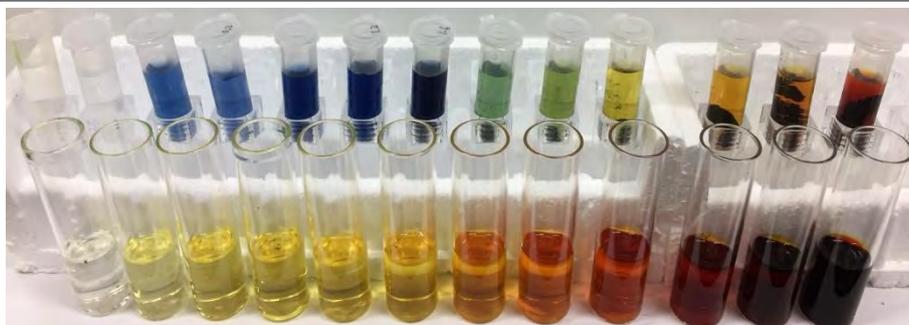
討論一、探討以不同濃度碘液滴定澱粉水溶液對生成藍色錯合物的影響

如圖為在澱粉溶液中添加不同濃度碘液，進行離心前後的實驗結果。如圖離心前，溶液隨碘液的增加而從淡藍色逐漸轉成藍黑色，與課本敘述吻合，但在如圖離心後，溶液呈現繽紛的漸層色彩，並且在 $[I_2]=0.040\text{ M}$ 時，出現大量藍色沉澱物，推測：在離心前，高濃度碘液所造成澱粉溶液呈黑色，是由於大量懸浮粒子阻擋並吸收光線的結果，所以既有課程使用碘來檢測澱粉存在，即運用此現象。



【圖】離心前的滴定結果

左而右(0.002、0.004、0.006、0.008、0.010、0.020、0.040、0.060、0.080、0.100、0.200、0.300 M)。



【圖】 離心後的滴定結果

實驗表示溶液隨碘濃度上升，溶液會先從淡藍轉深藍(但此期間沒有沉澱生成，表示此時的 I₂-starch 錯合物尚可溶在水中)，碘液濃度持續增加，溶液會自深藍色突然變成“淡”綠色(推測產生綠色是過量的黃色碘與原溶液殘存的 I₂-starch 藍色進行混色)，同時底部出現大量藍色沉澱物是造成顏色突然變淡的原因(後來也透過收集固體稱重的實驗證實，原本溶解於溶液中的 I₂-starch 錯合物會因為碘液濃度的增加而自溶液中析出形成底部的藍色固體之一，也就是系統中[I₂]會影響 I₂-starch 錯合物的溶解平衡。即推測存在 $K_{sp}(I_2\text{-starch}(s)) = [I_{2(aq)}]^m [I_2\text{-starch}(aq)]^n$ 關係，且濃度[I_{2(aq)}]與[I_{2-starch(aq)}]為負相關)，碘液濃度持續增加，會使綠色轉成黃色(推測此時溶液中的 I₂-starch 已經幾乎沉澱，所以造成溶液中的藍色物理色消失)，當碘液濃度持續增加，溶液的黃會逐漸加深形成棕色(這是因為溶液中碘濃度增加的關係)。如表，是證明[I₂]會影響 I₂-starch 溶解平衡的證據：

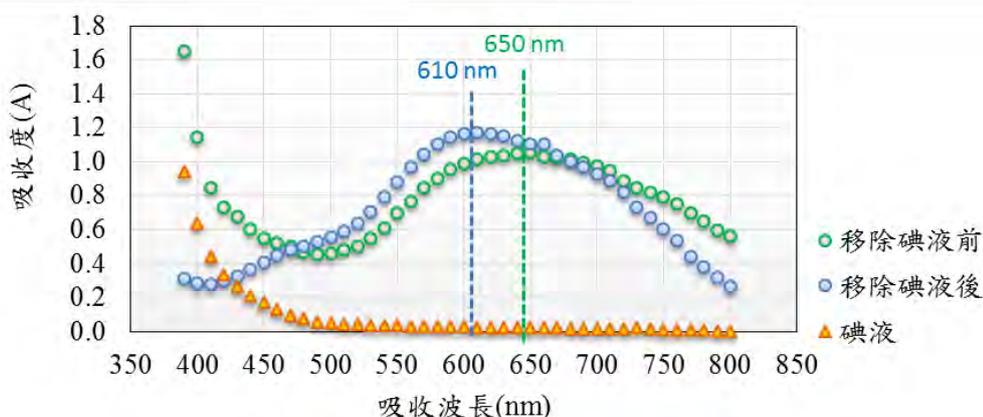
[I ₂]/M	0.00	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	2.00	3.00
沉澱(mg)	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1

結論是：在溶液中添加碘，可以使溶解於水中的澱粉與碘結合形成 I₂-starch 錯合物溶於水呈藍色；當增加碘的濃度，可以使 I₂-starch 形成藍色沉澱物，而透過控制碘的濃度，可以自原溶液中有效分離 I₂-starch 藍色固體，並且此固體的含量將直接對應水中可溶性澱粉含量，水中溶解的澱粉含量越高，則藍色固體越多。

討論二、繪製 I₂-starch 吸收光譜並找出最大吸收波長

利用討論一所得到的溶解平衡規則，可以將藍色固體自原過量碘溶液中分離，即有效純化 I₂-starch 錯合物，能移除碘液對 I₂-starch 吸收的干擾。

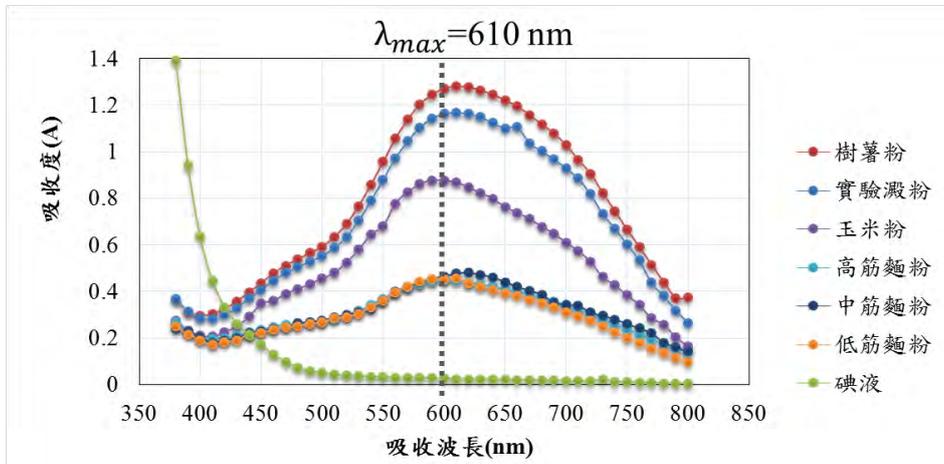
如圖，溶液中黃色碘與藍色錯合物的物理混色會使得溶液吸收峰出現偏移(從 610 nm 反射藍光偏移到 650 nm 反射綠光)，由於最大吸收波長的移動，導致溶液在 610 nm 波長的吸收度下降，將會嚴重影響後來實驗使用光度法檢測 I₂-starch 濃度以對應可溶性澱粉含量的結果。



【圖】 移除碘液前後，I₂-starch 錯合物溶液的吸收光譜

移除碘液後：左
移除碘液前：右

如圖，藉由實驗經驗歸納法得知：水溶性澱粉與碘結合形成的錯合物之最大吸收長是 610 nm。實驗收集市面可能含有可溶性澱粉的食品，例如樹薯粉、玉米粉、高中低筋麵粉等，使過量碘液與其澱粉水溶液結合並產生藍色沉澱後，將藍色沉澱物溶於水測得吸收光譜圖，以實驗澱粉以及碘液作為對照組，發現可溶性澱粉與碘結合所形成的 I₂-starch 錯合物都在 610 nm 有較強吸收，藉由實驗歸納法，推論只要食物中可溶性澱粉能與碘形成 I₂-starch 藍色沉澱物，其水溶液會在 610 nm 有最大吸收，以此波長作為偵測波長能提高分光光度計儀器檢測 I₂-starch 的靈敏度。

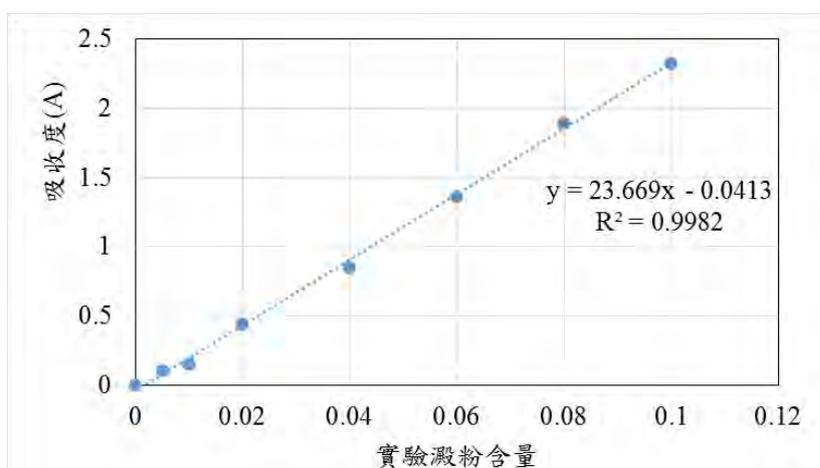


【圖】 使用不同澱粉來源所配製成的 I₂-starch 溶液的吸收光譜

備註：澱粉本身是由 200 個葡萄糖以上不等所形成的聚合物的混合物，根據文獻提到澱粉的葡萄糖鏈長會影響到其與碘液形成 I₂-starch 錯合物的吸收波長進而改變其顏色，例如糊精(約 20~50 個葡萄糖)會與碘液形成酒紅色，而支鏈澱粉則會與碘液形成藍紫色(藍色由直鏈與碘液錯合+紅色由側短鏈與碘液錯合)，但由本研究建立之方法所得 I₂-starch 沉澱溶解所形成的藍色溶液，不論澱粉來源為何，均呈現 600~620 nm 有最大吸收，故實驗選擇 610 nm 作為之後檢驗可溶性澱粉含量的手段。

討論三、利用本研究建立之方法”比較”市售餅乾中的可溶性澱粉含量

以下為使用實驗澱粉所製作出的澱粉檢量線，假設所有實驗澱粉的鏈長均符合與碘液結合形成藍色錯合物的條件，即 100%水溶性澱粉萃取液(事實上不會是理想狀態)，使用本研究開發之方法將水溶性澱粉以過量碘液使其以藍色沉澱物形式析出，加水溶解後再利用分光計讀取吸光值，結果如下：



澱粉量(g)	平均吸光度 (A)
0	0
0.005	0.103
0.010	0.148
0.020	0.441
0.040	0.852
0.060	1.36
0.080	1.897
0.100	2.324

【圖】 以實驗澱粉配製成藍色錯合物溶液的檢量線

檢量線方程式為：吸收度 A=23.669x -0.0413，x 對應水中所溶解的澱粉含量(g)。



本研究使用的餅乾所得之吸光值與檢量線對照，得到對應的澱粉含量如表：

餅乾種類	科學麵	樂事	多力多滋	浪味仙	真魷味	滿天星	營養口糧	寶咖咖	乖乖	小饅頭
三次吸收度	0.123	0.443	0.002	0.601	0.241	0.520	0.394	0.488	1.818	1.134
(A)	0.118	0.432	0.004	0.630	0.333	0.534	0.380	0.436	1.920	1.060
	0.110	0.426	0.009	0.617	0.272	0.512	0.372	0.450	1.854	1.127
平均吸收度(A)	0.117	0.433	0.005	0.616	0.282	0.522	0.382	0.458	1.864	1.107
換算之澱粉量(g)	0.0067	0.0200	0.0020	0.0278	0.0137	0.0238	0.0179	0.0211	0.0805	0.0485
澱粉比例(%)	3.34%	10.02%	0.98%	13.89%	6.83%	11.90%	8.94%	10.55%	40.25%	24.26%

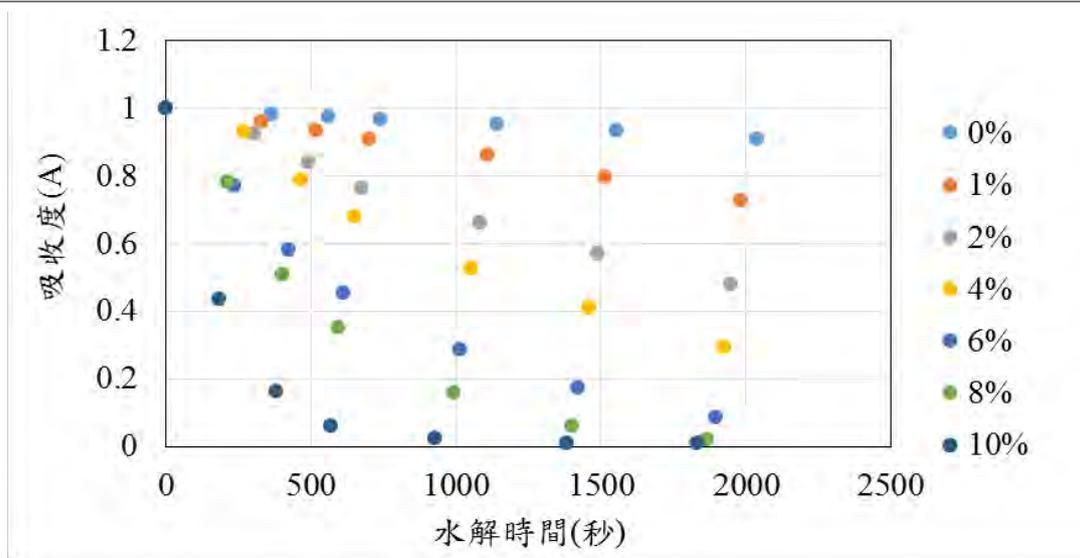
各種餅乾萃取溶液經過檢量線方法換算後，得到不同的澱粉重量，也可以算出該餅乾的澱粉比例，從實驗所選用的十種餅乾之中，發現澱粉比例最高的前二名為乖乖、小饅頭。

其他餅乾的澱粉比例依序為：

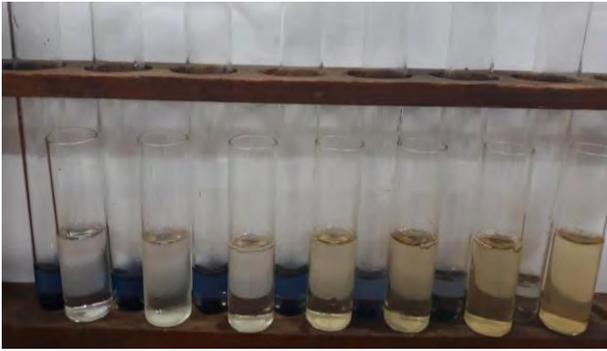
「乖乖」>「小饅頭」>「浪味仙」>「滿天星」>「寶咖咖」>「樂事」>「營養口糧」>「真魷味」而「科學麵」與「多力多滋」所含可溶性澱粉極少。

討論四、探討標準品 α -amylase 酶的澱粉水解曲線

不同濃度標準品(α -amylase)水解澱粉的曲線



【圖】標準品 α -amylase 澱粉酶 0%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10% 溶液在 1A 檢測液中的水解曲線



【圖】由左而右為 0%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10% 澱粉酶溶液與其對應的待測溶液



【圖】各別計時以緩衝測量時的時間歷程



【圖】水解時間 20 分時

由左而右為 0%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10% 澱粉酶溶液在 1A 檢測液中的水解情況



【圖】水解時間 60 分時

由左而右為 0%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10% 澱粉酶溶液在 1A 檢測液中的水解情況

由水解曲線可知，沒有添加澱粉酶的藍色錯合物在水中仍有水解趨勢，只是水解速率極為緩慢，當水解曲線的斜率較大時，溶液中澱粉酶的含量也較多，水解速率快，不過隨著水解時間增加而消耗溶液中澱粉的同時，水解速率逐漸下降，斜率也隨之遞減。

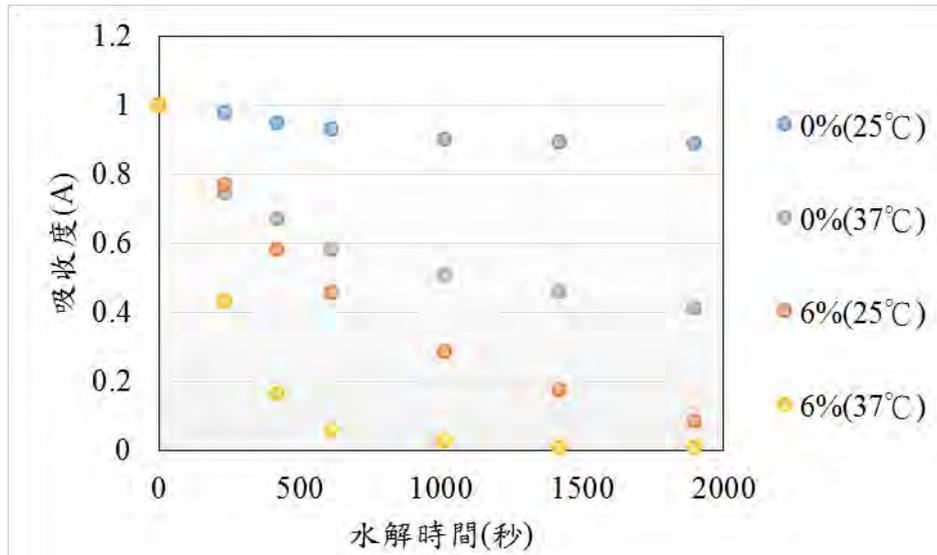
其中，水解速率最快的是 10% 標準品的溶液，其次則是 8% 的，但兩者完全水解的時間卻差不多，最慢的是 1% 的，4 分鐘時吸收度為 0.6~0.8A，推論澱粉酶愈多，則水解越快，效果也較佳。

從 α -amylase 標準品的水解曲線可大致看出澱粉水解速率與澱粉酶濃度為正相關，利用標準品水解曲線所繪出的網格，就可以大致定量出溶液中的澱粉酶濃度。

討論五、探討不同溫度下的澱粉水解曲線

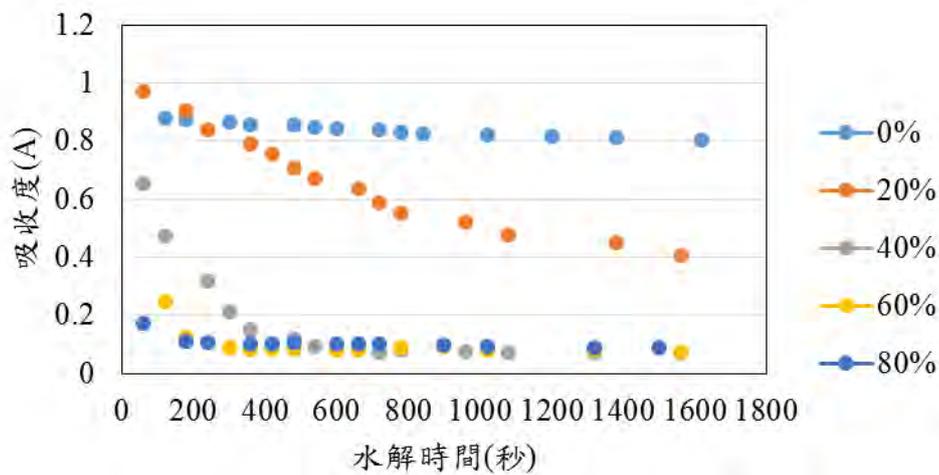
溫度會影響水解速率。由此圖可知，沒有添加澱粉酶的溶液在常溫下的降解並不明顯，但還是有小幅度褪色，37°C 下，沒有添加澱粉酶的溶液褪色速率變快，推測是由於外界給予的能量夠大，使澱粉水解加速。在原本就有添加 6% 標準品 α -amylase 澱粉酶的實驗組裡，水解速率也有加快的趨勢。

經過溫度參數的實驗結果，經小組討論後，認為作為對照組的 0% 澱粉酶溶液不應該有太大水解趨勢，為了提升往後實驗對於澱粉酶濃度的檢測鑑別度，決定往後實驗仍以室溫 25°C 作為實驗條件。



【圖】 不同溫度時藍色自製檢測液的褪色趨勢

討論六、探討在室溫下，口水酶的澱粉水解曲線



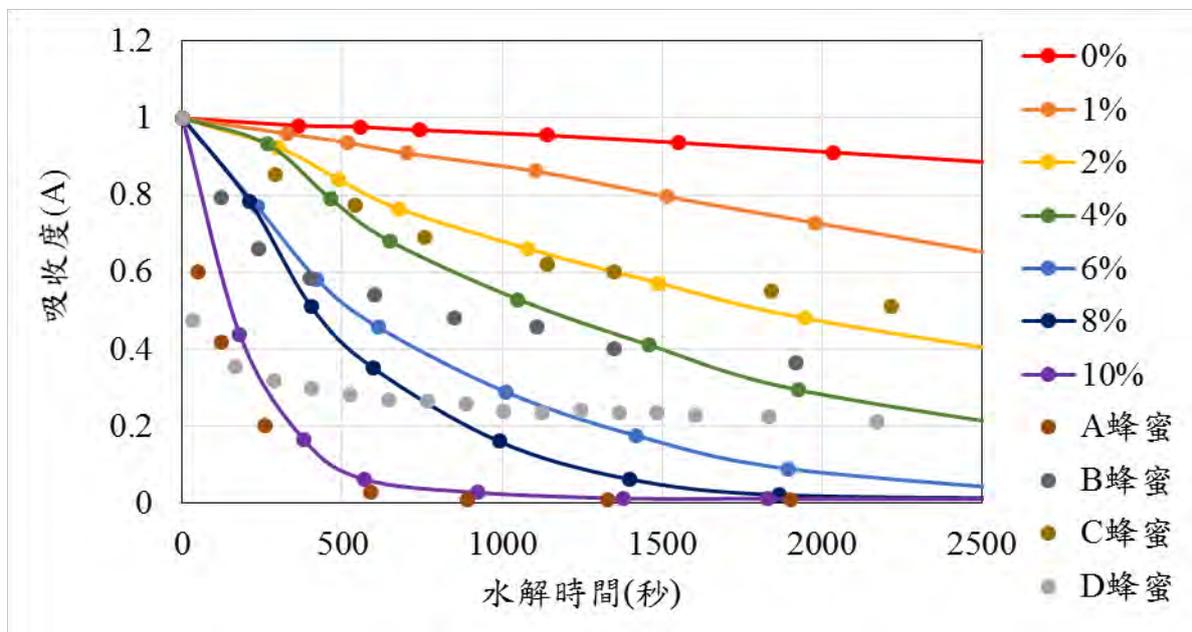
【圖】 不同口水濃度在藍色自製檢測液中的褪色趨勢

以上為實驗結果，由圖可知 0%待測液雖然未加澱粉酶而只有加水，但隨著時間增加還是有小幅度的降解褪色，而 20%、40%、60%、80%皆有明顯的降解，以 60%為例，其降解趨勢隨時間減緩，證實水解速率與澱粉濃度有關。

討論七、以本研究建立之方法探討蜂蜜之優劣

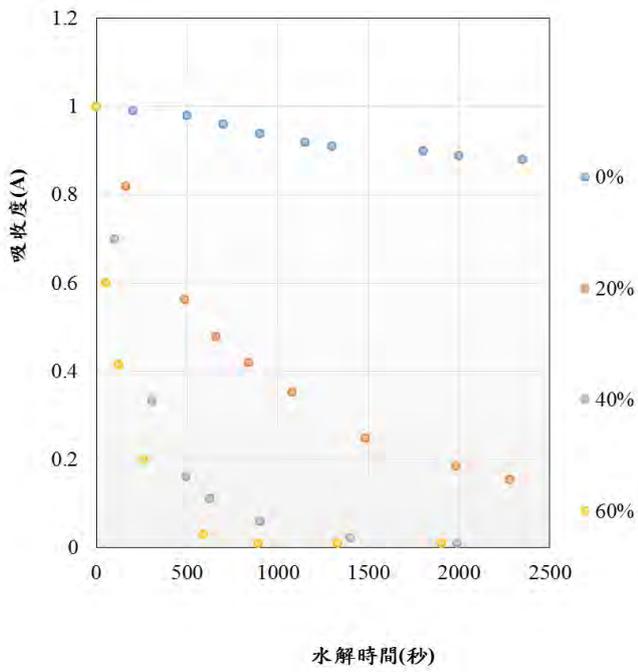
實驗選擇之蜂蜜 A~D 如下表

			
<p>A 蜂場直達蜂蜜</p>	<p>B 賣場龍眼蜜</p>	<p>C 市場鳳梨伯蜂蜜</p>	<p>D 超商台灣蜂蜜</p>
<p>老師的媽媽在市場的朋友有經營蜂場，特地過去拿的。</p>	<p>奶奶家裡的。</p>	<p>家裡現有的。</p>	<p>老師買的。</p>

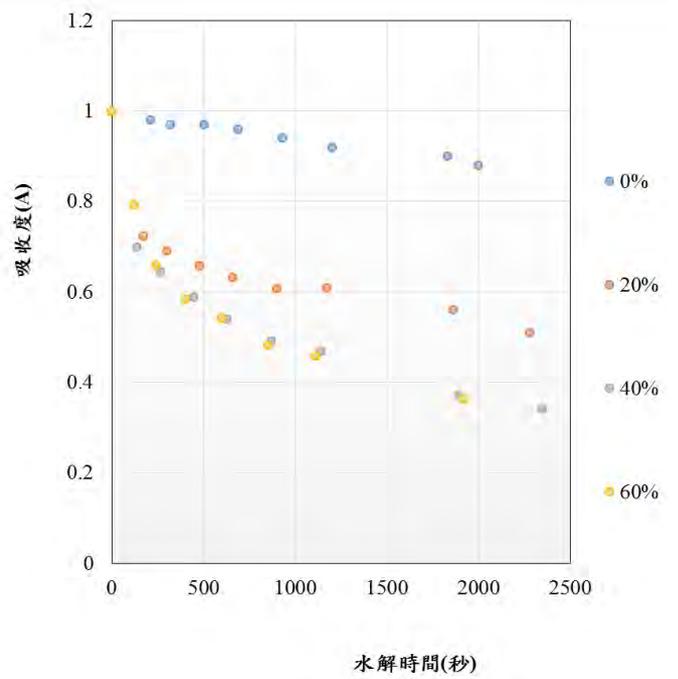


【圖】市售蜂蜜水解曲線與討論四之 α -amylase 水解標準曲線疊圖

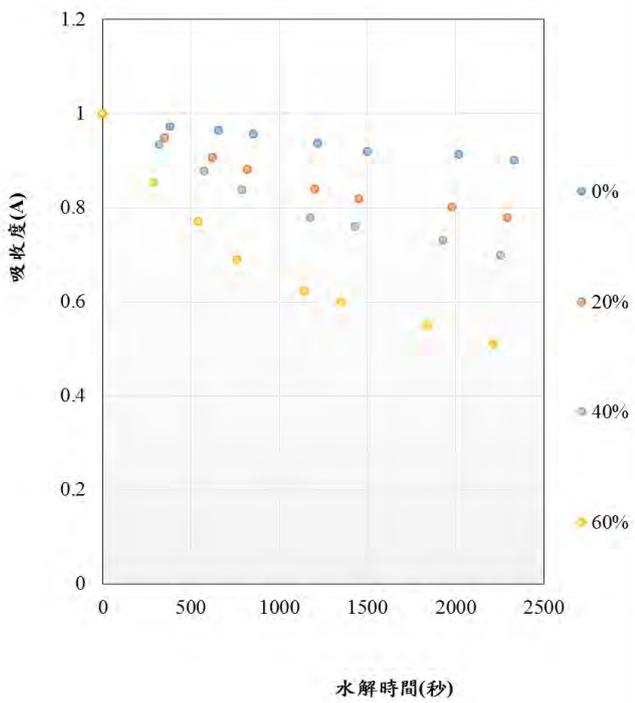
實驗選擇四種不同品牌的蜂蜜，將各個蜂蜜稀釋至 0%、20%、40%、60%後，加入吸收度為 1A 的澱粉酶測量液後，經過一段時間後進行測量，**實驗發現 A 蜂蜜的水解曲線斜率最大，代表它所含的澱粉酶含量最大，而 D 品牌的蜂蜜不管哪一個濃度，水解曲線皆無太大的差距，以此得知影響其溶液吸收度下降的主要原因不是因為澱粉酶濃度而是其他因素，因此我們推測 D 品牌的蜂蜜可能是假蜂蜜，因為添加了大量可能使藍色錯合物分解的物質，以致於在不同濃度的參數中沒有趨勢性，而 A、B、C 品牌的蜂蜜水解速率依序為 A>B>C，以 A 牌為對照組(老師從養蜂場帶回來)，蜂蜜優劣為 A>B>C>D。**



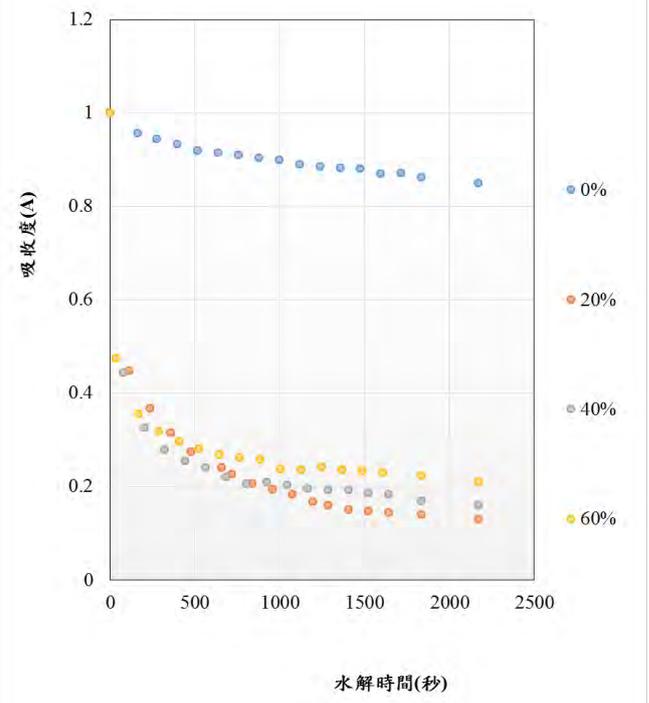
【圖】 A 牌蜂蜜之澱粉水解曲線



【圖】 B 牌蜂蜜之澱粉水解曲線



【圖】 C 牌蜂蜜之澱粉水解曲線



【圖】 D 牌蜂蜜之澱粉水解曲線

柒、結論

1. 本研究發現可溶性澱粉與碘液所形成的藍色錯合物，其在水中的溶解度受到碘液濃度影響，藉由控制碘液濃度，可以使原本溶解於水中的藍色錯合物以固體沉澱的方式自碘液中析出。
2. 利用上述溶解平衡 $K_{sp}(I_2\text{-starch}_{(s)}) = [I_{2(aq)}]^m [I_2\text{-starch}_{(aq)}]^n$ 關係，適當提高碘液濃度可使原本溶解於水中的藍色錯合物都形成固體析出，達到純化藍色的效果(移除碘液物理色干擾造成的吸收峰偏移現象)。透過不同澱粉來源(樹薯、玉米粉、麵粉)所得到的藍色錯合物，配合實驗歸納法，得知藍色錯合物的最大吸收波長在 610 nm 附近。
3. 純化後的藍色錯合物可用來製作「可溶性澱粉檢量線 $A = 23.669x - 0.0413$ 」以探討食品中的澱粉含量，在實驗選擇市售的十種餅乾中，澱粉比例最高的為乖乖。
4. 純化後的藍色錯合物配合 α -amylase 標準品可用來製作「澱粉水解標準曲線」。
5. 可透過口水對澱粉的水解曲線大約了解口水中的澱粉酶濃度。
6. 以本研究建立之方法辨別市售蜂蜜的優劣，在實驗選擇的四種蜂蜜中具有良好的鑑別度，蜂蜜中澱粉酶含量最高的是 A 牌。

捌、晉級全國賽後續研究之結果

1. 嘗試探討溶解平衡 $K_{sp}(I_2\text{-starch}_{(s)}) = [I_{2(aq)}]^m [I_2\text{-starch}_{(aq)}]^n$ 關係中的 m 與 n 值。

由右圖可知圖(一)為剛完成的可溶性澱粉之配入不同濃度碘液實驗，可用肉眼看出具有顏色漸層。我們利用其吸收度與碘液濃度針對「有沉澱」的綠色溶液做計算，列出：

$$K_{sp}(I_2\text{-starch}_{(s)})$$

$$= [I_{2(aq)}]^m [I_2\text{-starch}_{(aq)}]^n$$

$$= [0.033+0.017 \cdot 2]^m [1.899A]^n$$

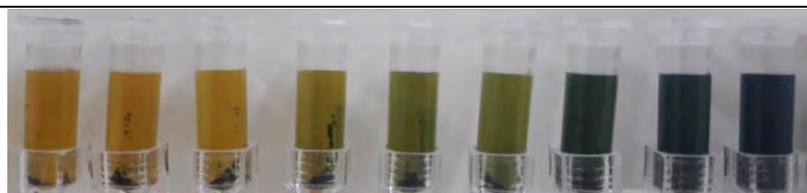
$$= [0.033+0.017 \cdot 3]^m [1.348A]^n$$

$$= [0.033+0.017 \cdot 4]^m [0.602A]^n \text{ 之算式}$$

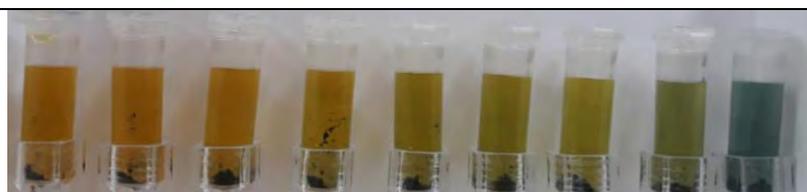
，試圖從此數據當中尋找 m 與 n 最適當的數值，老師教我們使用對數方法得到 m:n 約為 7.5:1，在希望以更多數據證明此結果時，卻發現每次實驗所計算出的數值都不盡相同。並且意外觀察到經一段時間後，不管任何一種顏色的溶液，只要當中有出現沉澱，後來原本溶於溶液中的其餘澱粉也必會沉澱，轉為類似圖(四)溶液裡只剩下碘液的情況。因此我們推論，溶解平衡公式在此實驗是不成立的，而是當碘液與澱粉溶液濃度相匹配時，就會開始



【圖一】1 mL 澱粉液添加 0.5 mL 碘液 0.05 M~0.033 M 結果



【圖二】上圖經過 30 分後



【圖三】上圖經過 60 分後



【圖四】

上圖經過半天後，幾乎所有的藍都沉降，碘液越濃沉降越快

出現藍色錯合物沉澱，其餘的澱粉也必會沉澱，只是時間長短的問題。而由藍到黃的漸層則是未完全沉降錯合物與碘液反射光線所製造的假象。

2. 對市售 30 種民眾常買餅乾中，建置可溶性澱粉比例資料庫 database，供大家參考



【圖】各式餅乾粉末



【圖】餅乾位置



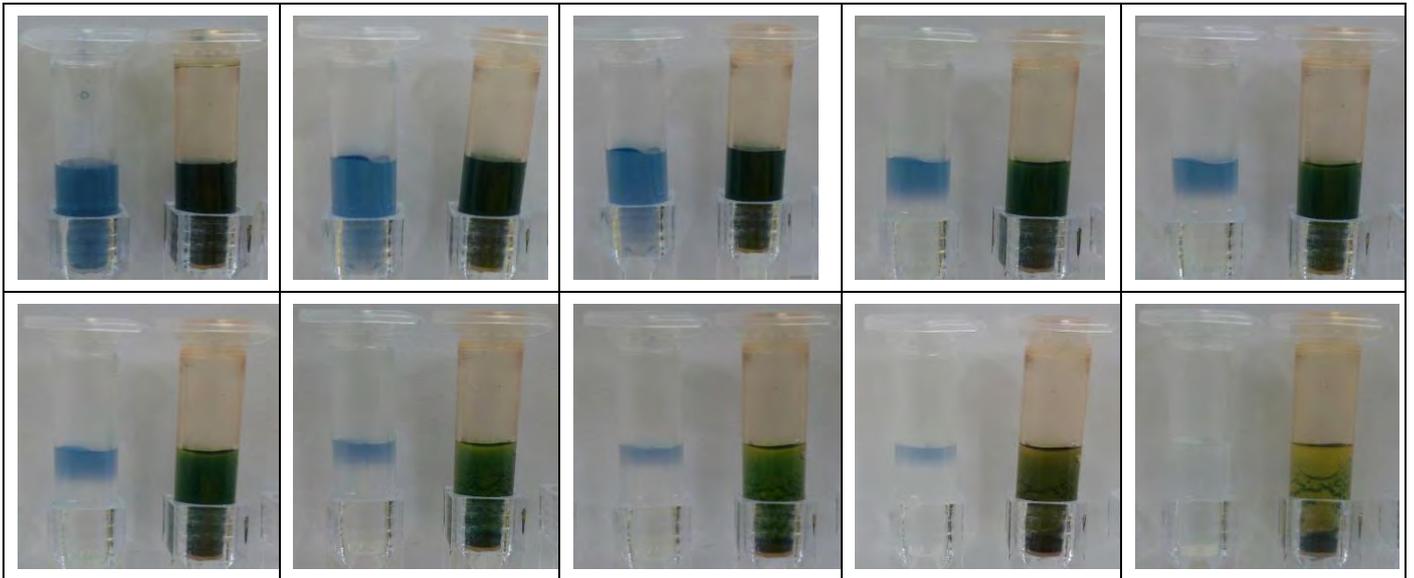
【圖】轉換成的餅乾藍色待測液 (每次做兩管，做三次平均)

表為市售常見 30 種餅乾的可溶性澱粉含量

餅乾種類	孔雀香酥	張君雅妹	寶卡卡	金牛角	雪燒	科學麵	鱈魚香絲	方塊酥	洋芋條	旺旺仙貝
三次吸收度 (A)	0.210	0.015	1.191	0.010	0.002	0.165	0.006	0.513	0.734	0.004
	0.211	0.012	1.193	0.008	0.001	0.166	0.003	0.517	0.737	0.007
	0.207	0.014	1.189	0.011	0.003	0.162	0.005	0.516	0.740	0.006
平均吸收度 (A)	0.208	0.013	1.190	0.009	0.002	0.164	0.004	0.515	0.738	0.005

換算之 澱粉量 (g)	0.0105	0.0023	0.0520	0.0021	0.0018	0.0087	0.0019	0.0235	0.0329	0.002
澱粉比 例(%)	5.25%	1.15%	26.0%	1.05%	0.90%	4.35%	0.95%	11.75%	16.45%	1.00%
餅乾 種類	可口 奶滋	玉米棒	蚵仔煎	蘇打餅	德州 薯條	可樂果	營養 口糧	孔雀 餅乾	樂事	奇多
三次 吸收度 (A)	0.014 0.010 0.009	0.009 0.008 0.012	0.427 0.424 0.423	0.103 0.106 0.105	0.751 0.752 0.749	0.380 0.378 0.383	0.126 0.124 0.123	0.111 0.113 0.116	0.241 0.243 0.242	0.010 0.012 0.013
平均吸 收度(A)	0.011	0.010	0.425	0.104	0.750	0.381	0.125	0.114	0.242	0.011
換算之 澱粉量 (g)	0.0164	0.0022	0.0197	0.0061	0.0334	0.0178	0.0070	0.0066	0.0120	0.0022
澱粉比 例(%)	8.20%	1.10%	9.85%	3.05%	16.7%	8.90%	3.50%	3.30%	6.00%	1.10%
餅乾 種類	真鮭味	蝦味鮮	乖乖	蛋捲	小丁丁	小林 煎餅	紅麴 餅乾	菜餚餅	品客 洋芋	模範生 點心
三次 吸收度 (A)	0.0643 0.0639 0.0637	0.003 0.005 0.004	1.979 1.965 1.971	0.106 0.105 0.109	1.358 1.354 1.352	0.380 0.379 0.385	0.220 0.216 0.215	0.230 0.238 0.234	0.316 0.313 0.317	0.083 0.085 0.089
平均吸 收度 (A)	0.0640	0.004	1.970	0.107	1.355	0.382	0.217	0.234	0.315	0.086
換算之 澱粉量 (g)	0.0044	0.0019	0.0849	0.0063	0.0590	0.0179	0.0109	0.0116	0.0151	0.0054
澱粉比 例(%)	2.20%	0.95%	42.45%	3.15%	29.5%	8.95%	5.45%	5.80%	7.55%	2.70%

3. 比較有無移除碘液之藍色錯合物，在水解數據上呈現的差異性。



【圖】自製檢測液 1 mL 添加 1 滴 6% 的 α -amylase 溶液，水解結果。
(左為移除碘液後之錯合物溶液，右為未移除碘液之錯合物溶液)

此實驗主要強調分離碘液對往後實驗結果所帶來的益處，我們加入澱粉酶藉以觀察其褪色變化，能見到移除碘液的檢測液褪色完呈透明無色，而未移除碘液的溶液則呈黃綠色。其中有些許沉降，是因為過量的碘會迫使溶液中的澱粉全數析出，析出的澱粉錯合物以固體方式與澱粉酶溶液接觸導致澱粉難以水解或是水解速率受影響，此現象更印證了碘液需被移除之重要性，而這便是我們實驗的最大優勢。

展望

1. 探討不同鏈長的澱粉、糊精；直鏈或支鏈澱粉等與澱粉結合所造成的影響。
2. 用專門檢測澱粉酶單位的標準試劑對本研究的數據作校正。
3. 計算水解反應經不同濃度澱粉酶催化時的活化能。
4. 與其他蜂蜜檢驗分析法做比較。

備註：檢驗蜂蜜等級除了澱粉酶之外，尚有酸度、水分、蔗糖等，或是國際較標準的蜂蜜項目如：C4 植物醣含量百分比($\leq 7\%$)、全蜜穩定碳同位素值($\delta^{13}\text{C}_\text{H}$)、萃取蛋白質穩定碳同位素($\delta^{13}\text{C}_\text{P}$)等。

玖、參考資料

1. 陳秋炳，2014，高一基礎化學(一)，台南市翰林出版事業股份有限公司。
2. 陳秋炳，2014，高二基礎化學(二)，台南市翰林出版事業股份有限公司。
3. 林福助，有機化學實驗二十五 P75~P82，復文書局。
4. 王孟亮，1984，《藍色的澱粉——碘錯合物結構》，科學月刊 0176 期。
5. 莊智傑，有機化學 P200~P207，復文書局。
6. 曾國輝，有機化學概論，第十章碳化合物，一流出版社。
7. 張敬宜、柯源悌，2002，在發育中綠豆澱粉分支酶與澱粉磷解酶的偵測，中國農化學會第四十屆年會。
8. 楊泮池，2015，大學普通化學實驗第十四版，國立臺灣大學出版中心。
9. 蘋果屋編輯部，2007，圖解食物營養素，蘋果屋出版社。
10. 學研，2010，廚房裡的小科學家 1，三采文化。
11. 鶴見隆史，2014，超級酵素，世茂出版有限公司。
12. 林佑生、李文乾，2009，生質酒精科學發展 433 期 P20-25。
13. 周治羣、李培華，2009 由玉蜀黍穗軸製糠醛之研究 P715-724，師大學報。
14. 黃維凡，2006，“以前處理提升稻殼纖維素水解效率之研究”碩士論文，國立台灣大學生物產業機電工程系研究所。

附錄

一、移除碘液前後的吸收光譜

波長	移除碘液後	移除碘液前	碘液	波長	移除碘液後	移除碘液前	碘液
390	0.3	1.7	0.9	600	1.2	1.0	0.0
400	0.3	1.1	0.6	610	1.2	1.0	0.0
410	0.3	0.8	0.4	620	1.2	1.0	0.0
420	0.3	0.7	0.3	630	1.1	1.0	0.0
430	0.3	0.7	0.3	640	1.1	1.0	0.0
440	0.4	0.6	0.2	650	1.1	1.1	0.0
450	0.4	0.5	0.2	660	1.1	1.0	0.0
460	0.4	0.5	0.1	670	1.0	1.0	0.0
470	0.5	0.5	0.1	680	1.0	1.0	0.0
480	0.5	0.5	0.1	690	1.0	1.0	0.0
490	0.5	0.5	0.1	700	0.9	1.0	0.0
500	0.6	0.5	0.1	710	0.9	1.0	0.0
510	0.6	0.5	0.0	720	0.8	0.9	0.0
520	0.6	0.5	0.0	730	0.7	0.9	0.0
530	0.7	0.6	0.0	740	0.7	0.8	0.0
540	0.8	0.6	0.0	750	0.6	0.8	0.0

550	0.9	0.7	0.0	760	0.5	0.8	0.0
560	1.0	0.8	0.0	770	0.4	0.7	0.0
570	1.0	0.9	0.0	780	0.4	0.7	0.0
580	1.1	0.9	0.0	790	0.3	0.6	0.0
590	1.1	1.0	0.0	800	0.3	0.6	0.0

二、不同澱粉所製成藍色錯合物的吸收光譜

波長	實驗澱粉	樹薯粉	玉米粉	高筋麵粉	中筋麵粉	低筋麵粉	碘液
380	0.368	0.368	0.276	0.266	0.24	0.25	1.393
390	0.314	0.311	0.231	0.227	0.23	0.216	0.941
400	0.284	0.296	0.21	0.201	0.202	0.19	0.636
410	0.281	0.302	0.207	0.196	0.18	0.17	0.444
420	0.298	0.324	0.225	0.199	0.19	0.182	0.333
430	0.329	0.356	0.252	0.211	0.2	0.19	0.262
440	0.37	0.396	0.291	0.225	0.22	0.215	0.21
450	0.408	0.435	0.348	0.237	0.23	0.222	0.17
460	0.446	0.477	0.36	0.248	0.24	0.236	0.129
470	0.48	0.511	0.39	0.257	0.246	0.246	0.097
480	0.505	0.537	0.411	0.26	0.263	0.25	0.073
490	0.528	0.565	0.432	0.268	0.269	0.26	0.058
500	0.553	0.591	0.456	0.273	0.276	0.268	0.05
510	0.588	0.634	0.48	0.282	0.289	0.284	0.043
520	0.635	0.69	0.525	0.295	0.3	0.29	0.039
530	0.705	0.767	0.579	0.316	0.312	0.304	0.036
540	0.79	0.859	0.645	0.341	0.323	0.333	0.033
550	0.881	0.956	0.681	0.368	0.359	0.359	0.032
560	0.972	1.056	0.777	0.395	0.4	0.397	0.031
570	1.045	1.138	0.825	0.417	0.42	0.422	0.03
580	1.104	1.203	0.861	0.433	0.438	0.442	0.029
590	1.144	1.245	0.876	0.443	0.453	0.452	0.028
600	1.164	1.272	0.876	0.448	0.465	0.454	0.025
610	1.169	1.281	0.867	0.446	0.476	0.455	0.024
620	1.163	1.278	0.846	0.44	0.48	0.434	0.023
630	1.149	1.264	0.822	0.43	0.471	0.421	0.023
640	1.125	1.246	0.798	0.419	0.46	0.406	0.023
650	1.101	1.222	0.762	0.41	0.44	0.392	0.021
660	1.107	1.195	0.738	0.398	0.42	0.382	0.02
670	1.037	1.158	0.711	0.387	0.402	0.365	0.02
680	1.004	1.119	0.678	0.372	0.386	0.351	0.018
690	0.968	1.079	0.648	0.358	0.352	0.331	0.018
700	0.93	1.029	0.609	0.341	0.342	0.312	0.016

710	0.885	0.966	0.573	0.324	0.338	0.292	0.015
720	0.818	0.906	0.528	0.304	0.31	0.274	0.014
730	0.734	0.824	0.462	0.281	0.295	0.249	0.021
740	0.67	0.745	0.426	0.258	0.28	0.225	0.012
750	0.602	0.666	0.384	0.236	0.26	0.199	0.011
760	0.533	0.591	0.342	0.216	0.241	0.179	0.009
770	0.438	0.514	0.285	0.193	0.22	0.155	0.007
780	0.38	0.44	0.258	0.173	0.18	0.136	0.005
790	0.319	0.371	0.204	0.153	0.16	0.113	0.004
800	0.264	0.373	0.165	0.136	0.143	0.096	0.003

三、澱粉檢量線數據

澱粉量(g)	吸光度 I	吸光度 II	吸光度 III	平均吸光度 (A)
0	0	0	0	0
0.005	0.102	0.107	0.100	0.103
0.010	0.147	0.150	0.147	0.148
0.020	0.441	0.439	0.443	0.441
0.040	0.856	0.851	0.849	0.852
0.060	1.359	1.361	1.360	1.360
0.080	1.894	1.895	1.902	1.897
0.100	2.322	2.326	2.324	2.324

四、 α -amylase 澱粉酶的水解數據

時間	0%	時間	1%	時間	2%	時間	4%
0	1	0	1	0	1	0	1
363	0.981	326	0.96	300	0.924	266	0.932
557	0.977	517	0.936	490	0.84	463	0.791
740	0.969	700	0.909	676	0.765	648	0.681
1140	0.955	1105	0.862	1080	0.661	1050	0.529
1552	0.936	1515	0.796	1487	0.572	1458	0.411
2035	0.911	1980	0.728	1947	0.48	1925	0.294
3000	0.86	3000	0.58	3000	0.34	3000	0.15
時間	6%	時間	8%	時間	10%		
0	1	0	1	0	1		
233	0.771	210	0.784	180	0.437		
420	0.582	402	0.511	380	0.165		
612	0.457	595	0.352	568	0.062		
1013	0.288	990	0.16	925	0.027		
1420	0.175	1398	0.062	1380	0.012		

1895	0.089	1865	0.021	1830	0.011
3000	0.01	3000	0.01	3000	0.01

五、不同溫度的水解數據

	0%(25°C)	6%(25°C)	0%(37°C)	6%(37°C)
	0	1	1	1
233	0.98	0.771	0.747	0.437
420	0.95	0.582	0.672	0.165
612	0.93	0.457	0.582	0.062
1013	0.9	0.288	0.509	0.027
1420	0.892	0.175	0.462	0.012
1895	0.889	0.089	0.414	0.011

六、不同品牌蜂蜜的水解數據

時間	A 蜂蜜	時間	B 蜂蜜	時間	C 蜂蜜	時間	D 蜂蜜
0	1	0	1	0	1	0	1
50	0.6	120	0.793	290	0.855	35	0.475
120	0.416	240	0.659	540	0.772	165	0.355
257	0.2	400	0.585	760	0.69	285	0.318
590	0.03	600	0.542	1140	0.622	405	0.297
890	0.01	852	0.482	1350	0.6	525	0.281
1330	0.01	1110	0.458	1842	0.55	645	0.268
1900	0.01	1350	0.4	2215	0.51	765	0.263
		1920	0.363	2515	0.483	885	0.258
		2850	0.15	4920	0.344	1005	0.237
						1125	0.236
						1245	0.242
						1365	0.236
						1485	0.233
						1605	0.229
						1835	0.224
						2170	0.21

【評語】 030210

此研究使用碘液鑑定未知物之澱粉含量，後續將其應用至蜂蜜之檢測，研究內容架構充實且論點清楚。過量碘與澱粉形成藍色沉澱，將不同濃度澱粉藍色沉澱再溶解，利用光度儀製成檢量線檢測澱粉，具有創意性。唯實驗設計時應事先充分了解相關知識，考慮不同構型澱粉對測量結果造成之影響，同時需考慮真實樣品製備方式及保存期限等因素，將可有效降低對實驗結果之誤判。以下幾點建議提供參考：

- (1) 研究中量測許多不同種類的餅乾，直接使用標準品所得之校正曲線定量，沒有考慮基質效應所帶來的定量不準確的影響。也建議加入誤差的概念於實驗數據上。
- (2) 由簡單的實驗設計能直接應用於食品檢測，研究相當具有原創性，相當值得的鼓勵。
- (3) 可以敘述目前量測蜂蜜標準的檢驗分析法，並且透過統計方法（F test and t test）來判斷自行開發的方法與標準方法所得到的數據是否有一致？

摘要

本研究目的在於探討食品中的可溶性澱粉含量以及分辨蜂蜜的優劣。過去教材以檢驗澱粉，都是討論其與碘液結合所生成藍色錯合物為主，然而混合溶液中過量的碘液將會干擾藍色的呈現，不論在目視或是使用分光計都難以比較實際澱粉含量多寡，研究中發現藉由控制碘液的濃度能迫使藍色錯合物以固體方式自碘液中析出，即推論澱粉與碘液系統中存在關係： $K_{sp}(I_2-starch_{(s)}) = [I_{2(aq)}]^m [I_2-starch_{(aq)}]^n$ ，因此能藉此純化藍色錯合物。將各種澱粉來源所得之藍色錯合物均以此法純化後，經過歸納法找到其最大吸收波長為610 nm，搭配本研究建立之可溶性澱粉檢量線 $A=23.669x-0.0413$ ，就可以對市售餅乾的所含澱粉作初步定量，實驗發現乖乖的澱粉含量高達40%；此外純化後的藍色錯合物溶於水還能配製成澱粉酶檢測液，使用澱粉酶標準品 α -amylase繪製水解網格以對應蜂蜜的澱粉水解曲線，就能大致判定蜂蜜所含的澱粉酶濃度。



壹、研究動機

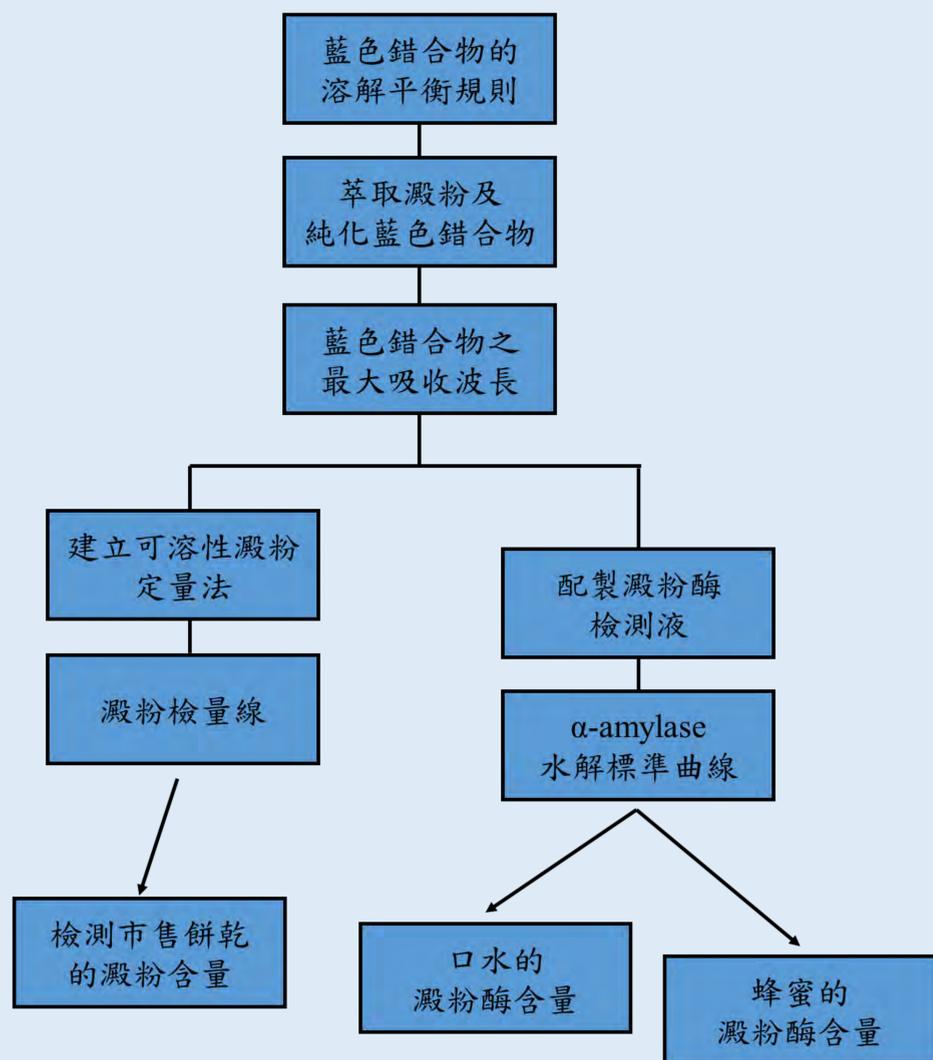
「如果人的生理機能可以正常運作，人就不會常常為病痛所苦。」而我們看到這幾則消息後，決定上網查資料及向老師提問，我們在這過程中得知，人體生理機能運作的好壞除了與生活作息有關聯外，就是以能量的攝取為主，而能量來源大部分來自於熱量的攝取，人類能從中攝取熱量的物質主要為澱粉，其次則是脂質及蛋白質，因此我們選用澱粉為主要成分的食品來進行實驗，想得知我們平常生活中常吃的零食、食品能為我們的人體補充多少能量，藉以維持每日適當的攝取量也同時為身體補充能量。

近年來，由於氣候的變遷及人類的過度開發，蜜蜂的數量日趨降低，產蜜量也越來越少，因此市面上流通著許多摻雜假蜂蜜的「蜂蜜」，國中的課本也有補充道：「在台灣的市場流通的蜂蜜，有許多都並不全是蜂蜜，而是化學下的產物。」在看到了這篇文章後我們便想利用實驗來分辨蜂蜜的優劣，藉以得知日常生活中所攝取的蜜是否天然。

貳、研究目的

1. 建立可溶性澱粉標準萃取程序
2. 建立檢測水中可溶性澱粉含量的方法
3. 探討市售餅乾中可溶性澱粉含量比較
4. 建立標準品 α -amylase之水解曲線
5. 探討口水對澱粉的水解速率
6. 探討溫度對澱粉水解速率的影響
7. 探討市售蜂蜜的優劣

參、實驗原理



二、比爾定律(Beer's law)

(一)公式 $A = \epsilon b [c]$ ：吸收度與物質濃度成正比

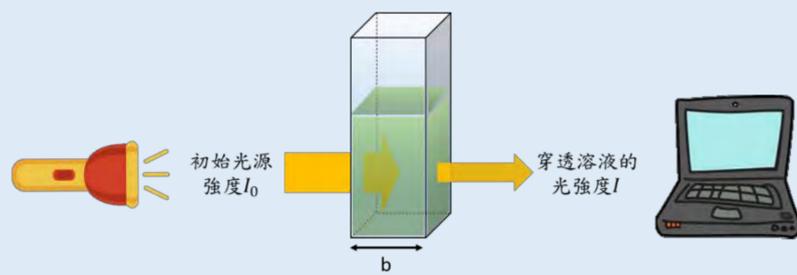
ϵ 稱為吸光係數：與物質種類有關

b 稱為光徑：通常為1 cm

$[c]$ 是物質的濃度：單位通常為體積莫耳濃度M

(二)當吸收度與物質濃度呈現正比關係稱為比爾定律當物質濃度過高會使物質吸收度偏離正比關係

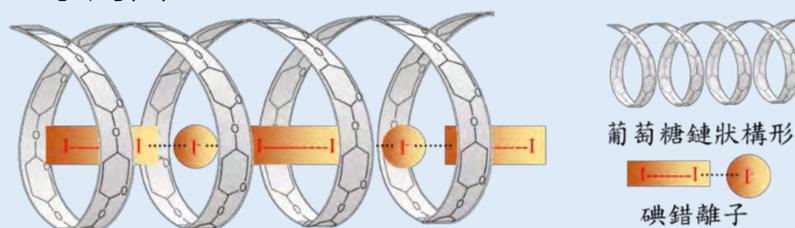
- 物質的吸收度低於儀器的偵測極限時會導致實驗誤差
- 遵守比爾定律者才能做為檢驗物質濃度的光度檢量線



三、澱粉與 I_3^- 整合形成藍色錯合物

(一) 配位情形

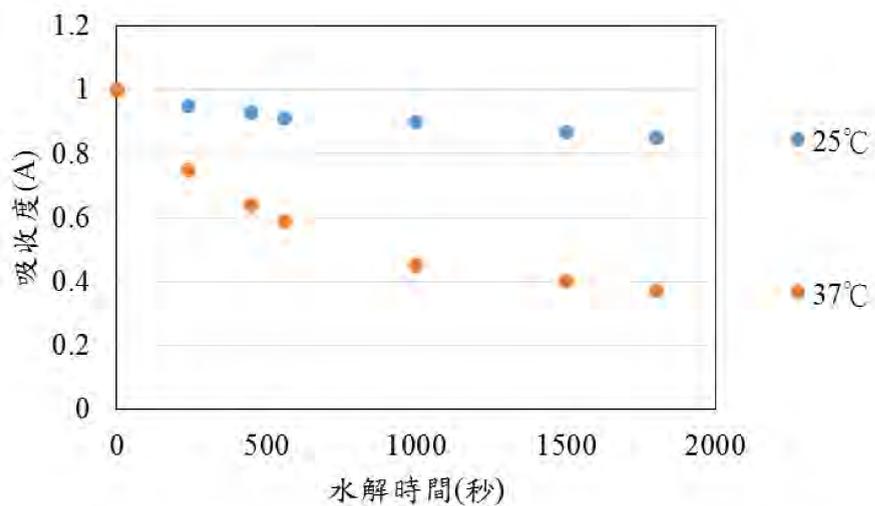
葡萄糖以鏈狀構形將碘液分子環繞整合在中心，形成的化合物稱為配位化合物，又稱錯合物。根據文獻約每20~30個葡萄糖環纏繞在碘分子周圍。



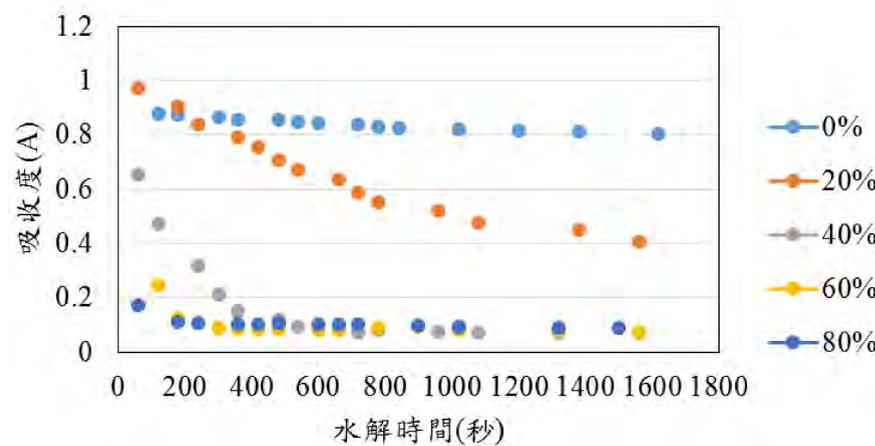
(二) 配位效應

當澱粉與 I_3^- 結合之後，會改變分子原本的顏色以及吸光值，本實驗利用 $I_2-starch$ 藍色錯合物的顯色特性，提高分光計偵測水中無色澱粉濃度的靈敏度。

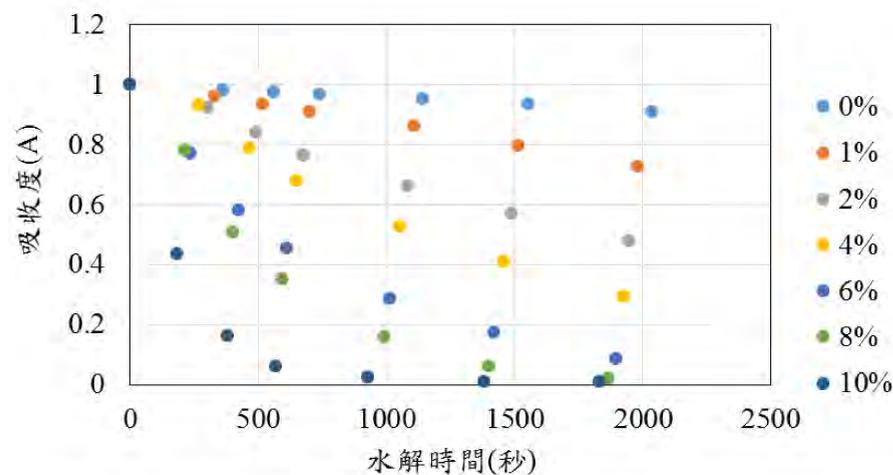
為方便記錄，將澱粉(starch)與碘液($I_{2(aq)}$)結合之錯合物稱為 $[I_2-starch]$ 。



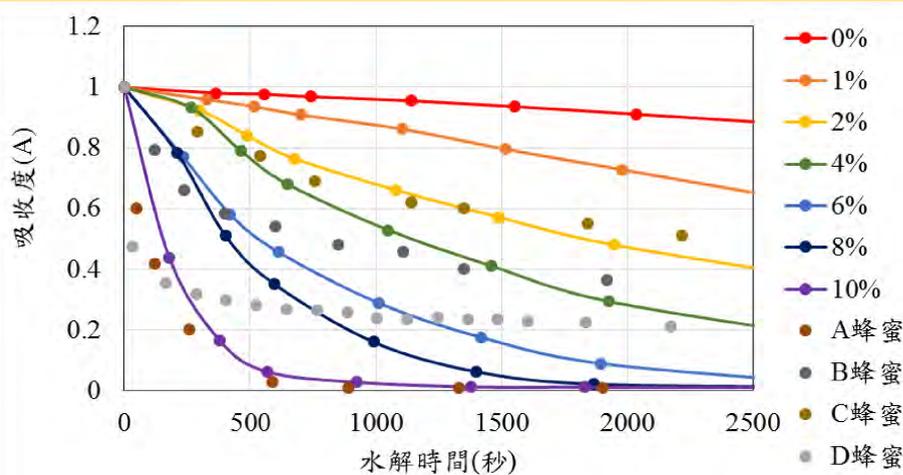
[圖7] 不同溫度時藍色自製檢測液(1 A)的水解曲線



[圖8] 添加不同口水濃度時藍色自製檢測液(1 A)的水解曲線



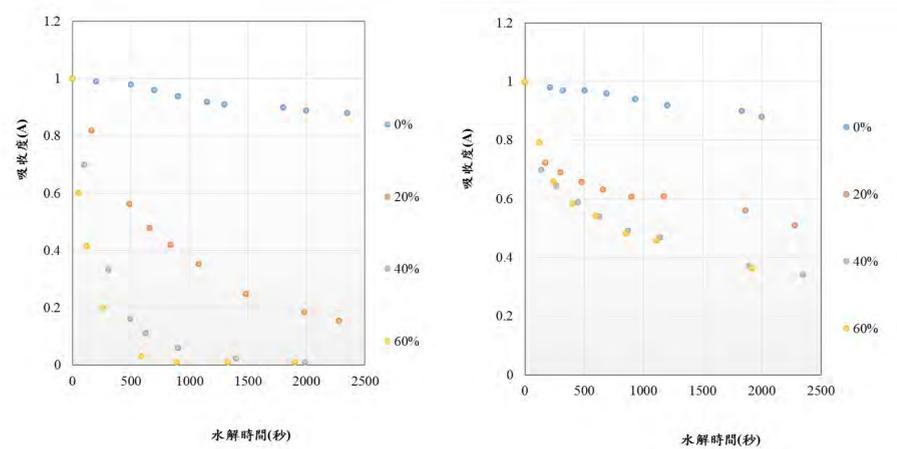
[圖9] 添加不同濃度標準酶 α -amylase時自製檢測液(1 A)的水解曲線



[圖10] 將蜂蜜的水解曲線與標準酶的水解網格疊圖

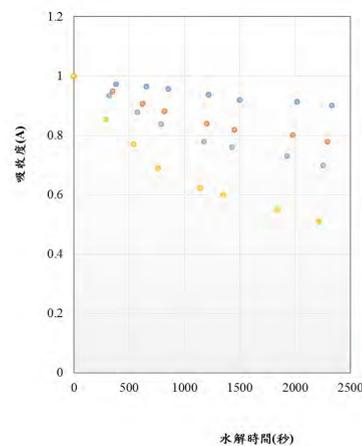


A 蜂場直達蜂蜜
B 賣場龍眼蜜
C 市場鳳梨伯蜂蜜
D 超商台灣蜂蜜

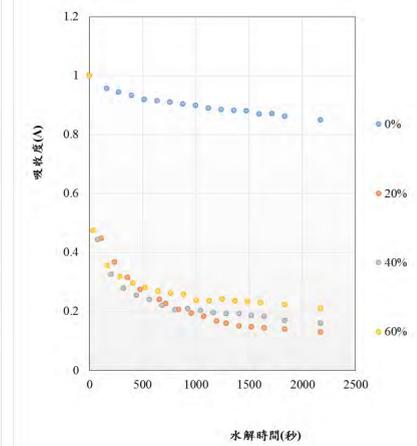


[圖11] A牌蜂蜜之澱粉水解曲線

[圖12] B牌蜂蜜之澱粉水解曲線



[圖13] C牌蜂蜜之澱粉水解曲線



[圖14] D牌蜂蜜之澱粉水解曲線

陸、結論

1. 本研究發現可溶性澱粉與碘液所形成的藍色錯合物，其在水中的溶解度受到碘液濃度影響，藉由控制碘液濃度，可以使原本溶解於水中的藍色錯合物以固體沉澱的方式自碘液中析出。
2. 利用溶解平衡 $K_{sp}(I_2\text{-starch}_{(s)}) = [I_{2(aq)}]^m [I_2\text{-starch}_{(aq)}]^n$ 關係，適當提高碘液濃度可使原本溶解於水中的藍色錯合物都形成固體析出，達到純化藍色的效果(移除碘液物理色干擾造成的吸收峰偏移現象)。透過不同澱粉來源(樹薯、玉米粉、麵粉)所得到的藍色錯合物，配合實驗歸納法，得知藍色錯合物的最大吸收波長在610 nm附近。
3. 純化後的藍色錯合物可用來製作「可溶性澱粉檢量線： $A = 23.669x - 0.0413$ 」以探討食品中的澱粉含量，在實驗選擇市售的十種餅乾中，澱粉比例最高的為乖乖。
4. 純化後的藍色錯合物配合 α -amylase標準品可用來製作「澱粉水解標準曲線」。
5. 可透過口水對澱粉的水解曲線大約了解口水中的澱粉酶濃度。
6. 以本研究建立之方法辨別市售蜂蜜的優劣，在實驗選擇的四種蜂蜜中具有良好的鑑別度，蜂蜜中澱粉酶含量最高的是A牌。

柒、展望

1. 設計並探討溶解平衡關係式 $K_{sp}(I_2\text{-starch}_{(s)}) = [I_{2(aq)}]^m [I_2\text{-starch}_{(aq)}]^n$ 中的n與m值。
 1. 探討不同鏈長的澱粉、糊精；直鏈或支鏈澱粉等與澱粉結合所造成的影響。
 2. 尋找以藍色錯合物為標準品進行澱粉水解實驗的適當溫度以及計算反應活化能。
 3. 使用專門檢測澱粉酶單位的標準試劑對本研究的數據作校正。