

中華民國第 59 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國中組 化學科

第三名

030208

我把實驗縮小了-葡萄糖檢測實驗

學校名稱：臺中市立大雅國民中學

作者： 國一 張凱鈞	指導老師： 林永祥
---------------	--------------

關鍵詞：微流體晶片、葡萄糖、本氏液

摘要

使用微流體晶片可將原本需要 30 分鐘的加熱時間縮短至幾分鐘甚至幾秒，將實驗過程簡化以及減少材料用量，透過微流體晶片通道設計並能在同一片微流體晶片進行兩個步驟的實驗流程。

研究主旨用國一自然課本葡萄糖檢測實驗及酵素分解澱粉實驗為標的，透過繪圖軟體 inkscape 的使用，設計不同反應區跟微流體通道，使用雷射切割機切割及雕刻壓克力的微流體晶片，並測試不同材質的黏貼晶片反應時間，並達成實驗過程達到藥品減量，實驗流程簡化，利用 image J 分析顯微照片的 RGB 值及測量吸光值達到定量產糖濃度的效果。

壹、 研究動機

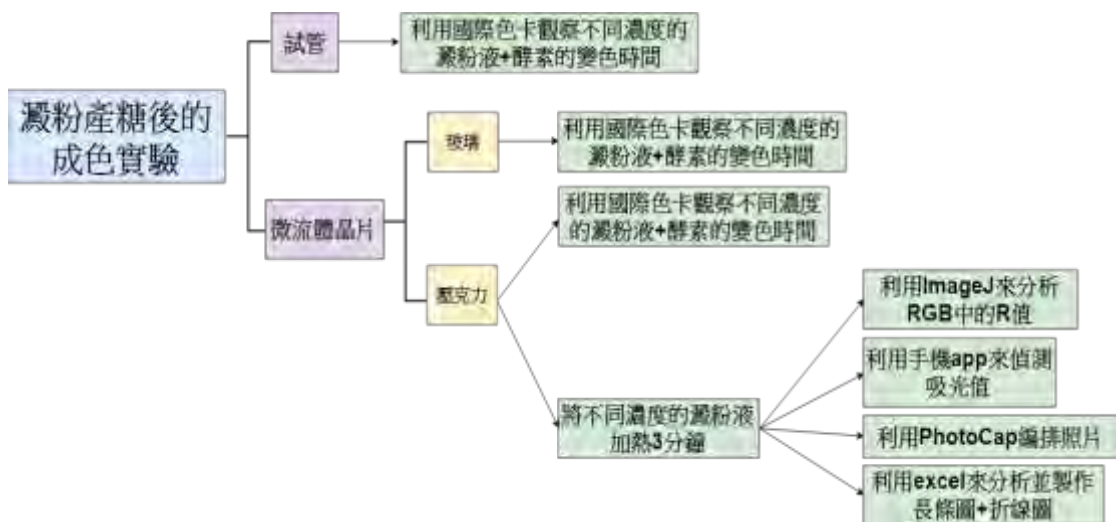
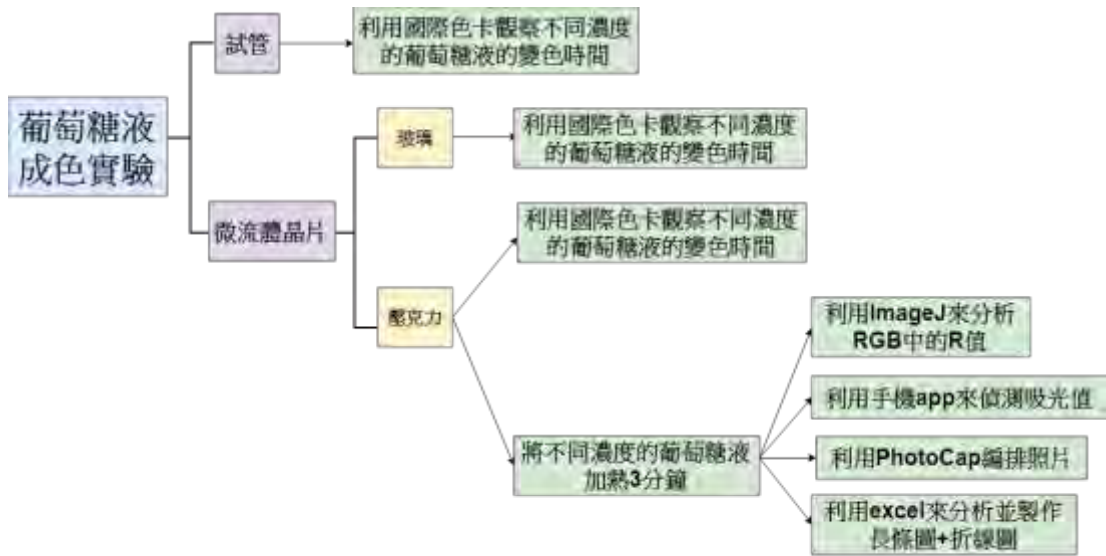
當我在做葡萄糖與酵素分解澱粉的呈色實驗時，覺得實驗太過繁瑣，等待時間過長，耗費試劑過多，需隔水加熱，所以便想用更簡易的方式來進行實驗，而這時老師就提議可不可以用微流體晶片設計來減少實驗耗材耗損，精簡實驗流程，也增加實驗的安全性。

貳、 研究目的

- 一、使用試管及隔水加熱法，進行國一課本葡萄糖檢測實驗及澱粉酵素分解實驗測量反應時間。
- 二、使用 inkscape 設計雷射切割晶片圖形，並雷射切割製造微流體晶片。
- 三、探討不同濃度的葡萄糖液微流體晶片檢驗本氏液呈色時間，測量微流體晶片可偵測最小濃度。
- 四、探討從酵素澱粉分解，使用本氏液呈色檢驗葡萄糖濃度，探討多程序實驗在一片微流體晶片的可能性。
- 五、利用吸光值及分析顯微照片的 RGB 值來定量葡萄糖濃度，並利用迴歸分析來定量澱粉酵素實驗得產糖量。

參、 研究設備及器材

一、研究架構






二、器材：AB 膠、瞬間接著劑、量筒、燒杯

三、微流體晶片：

玻璃+壓克力	
壓克力+壓克力	

四、儀器：雷切機、手機顯微鏡、加熱板

雷切機	手機顯微鏡	加熱板
		

五、藥品：本氏液、葡萄糖液、澱粉液

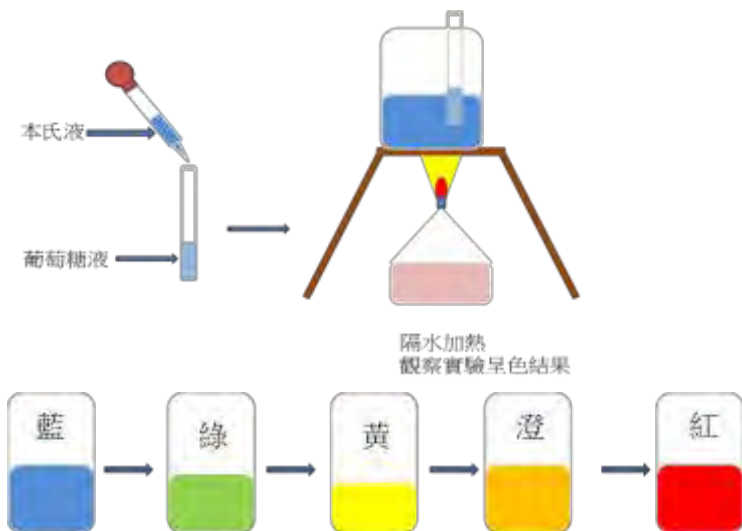
六、繪圖軟體：inkscape(畫圖)、excel(分析)、imageJ(分析)、PhotoCap(整理相片)

肆、研究過程與方法

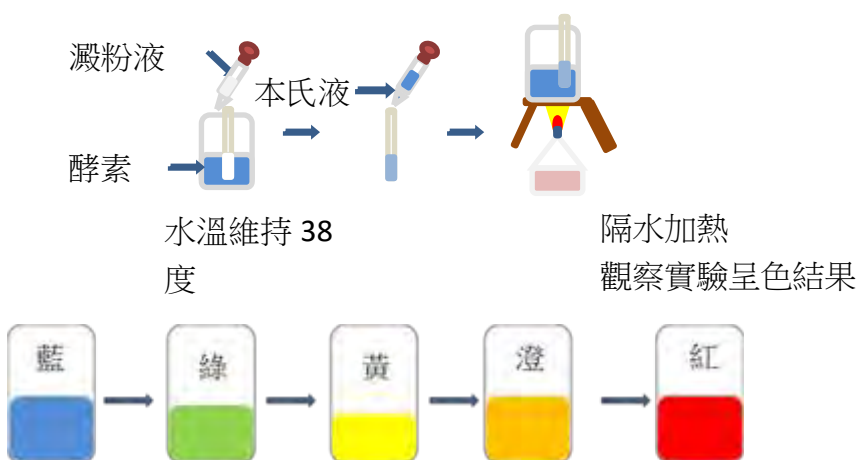
一、比對實驗流程

先來比對國一自然(一)課本的實驗流程，並實作實驗記錄反應時間。

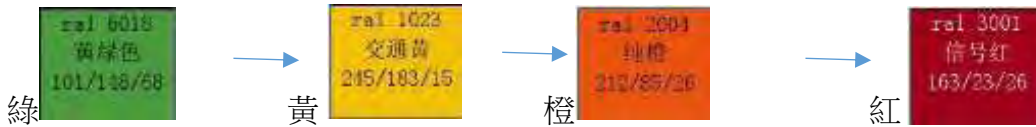
實驗一:國一課本活動 3-1 糖的測定實驗(如圖)



實驗二:國一自然(一)活動 3-2 酵素的作用

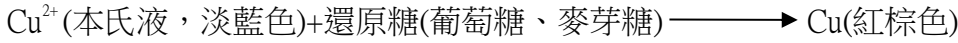


比對四個顏色的國際色卡為標準:



濃度越高，呈色時間越快，最終的顏色越紅

不同濃度的葡萄糖液會有著不同的變色時間，，本實驗的作用機制如下:



因為 Cu 產生量的不同，與 Cu^{2+} 混合後，會依照濃度從少到多呈現綠、黃、橙、紅。前面部分，使用不同條件處理酵素，藉由呈色結果探討酵素活性，本實驗需要兩個步驟，其中需要很多試管，做不同的條件處理

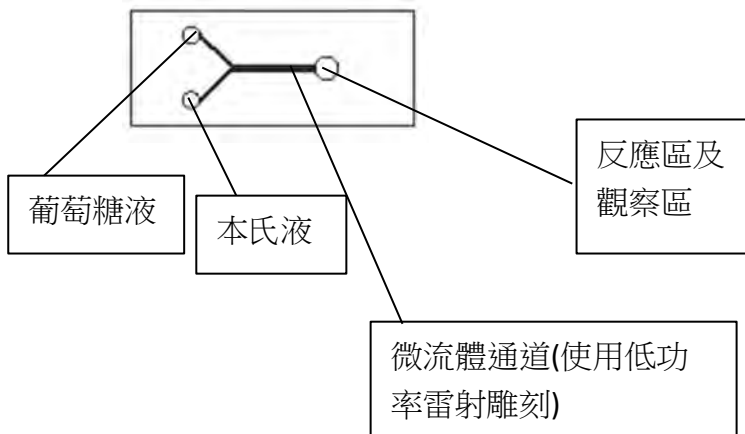
實驗一、二有幾個缺點:浪費葡萄糖、澱粉、酵素、本氏液太多，隔水加熱速度太慢，呈色濃度不夠無法用肉眼辨識。

於是我們想要用微流體晶片，簡化實驗流程，減少檢驗試劑耗材，增加辨識的敏感度。

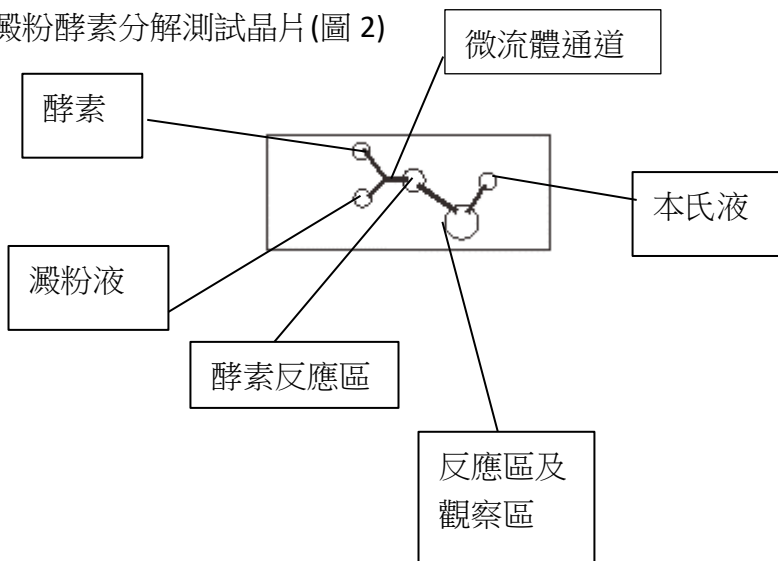
二、設計微流體晶片，並雷射切割微流體晶片。

1.用 inkscape 向量繪圖軟體在電腦上設計流體晶片，設計後的結果如下圖。

葡萄糖液測試晶片(圖 1)



澱粉酵素分解測試晶片(圖 2)



2.雷射切割，我們採用 3mm 壓克力板，雷射切割分為兩個部分，反應區以高功率切穿，流動通道，以低功率切出路線(不能切穿)，將切好的晶片，反向黏貼到玻璃或是壓克力材質的基材，就可以製作出封閉溝槽的微流體晶片。

3.晶片本身的材質用壓克力，底下以壓克力或玻璃當作基材，以 A、B 及瞬間接著劑黏附，測試這兩個不同材質的微晶片性質差異、呈色時間的差異。

4.流體流動方式採重力流動，利用傾斜:傾斜角度一律維持 30 度，利用雷射切割設計傾斜支架。






(圖 3) 單程序實驗傾斜方式+多程序實驗傾斜方式的第一步驟(右圖為晶片方向)



(圖 4) 多程序實驗傾斜方式的第 2 步驟(右圖為晶片方向)

微流體晶片流動傾斜實際照片

(一)單程序實驗傾斜方式。	
(三) 多程序實驗傾斜方式。	<p>第 1 步驟</p>  <p>第 2 步驟</p> 

三、實驗流程

實驗一:不同濃度的葡萄糖液在試管的呈色時間

準備試管→配置不同濃度葡萄糖液→將葡萄糖液以及本氏液加進試管→放入燒杯，使用酒精隔水加熱→利用國際色卡紀錄呈色時間。

實驗二:不同濃度的葡萄糖液在微流體晶片加熱三分鐘的呈色結果

製作微流體晶片→配置不同濃度葡萄糖液→將葡萄糖液滴進微流體晶片→將本氏液滴進微流體晶片→傾斜 30 度混合→將微流體晶片放到加熱板上 3 分鐘→紀錄呈色結果。

實驗三:不同濃度的葡萄糖液在不同材質微晶片的呈色時間

製作微流體晶片→配置不同濃度葡萄糖液→將葡萄糖液滴進微流體晶片→將本氏液滴進微流體晶片→傾斜 30 度混合→將微流體晶片放到加熱板上→對照國際色卡紀錄呈色時間。

實驗四:不同濃度的澱粉液在試管的呈色時間

準備試管→配置不同濃度的澱粉液（煮至沸騰取上清液）→將澱粉液以及酵素加進試管→放入水中(放置在不同水溫攝氏 38 及 100 度，反映 20 分鐘)→將本氏液加進試管→放入正在用酒精燈加熱的燒杯中→對照國際色卡紀錄，紀錄呈色時間。

實驗五:不同濃度的澱粉液在微晶片加熱三分鐘的呈色結果




製作微流體晶片→配置不同濃度的澱粉液（煮至沸騰取上清液）→將澱粉液滴進微流體晶片→將唾液滴進微流體晶片→向右傾斜 30 度混合→在加熱板加熱反應 20 分（加熱板維持 37 度）→將本氏液滴進微流體晶片→向下傾斜 30 度混合→將微流體晶片放到加熱板上 3 分鐘→紀錄呈色結果。

實驗六:不同濃度的澱粉液在微晶片的呈色時間


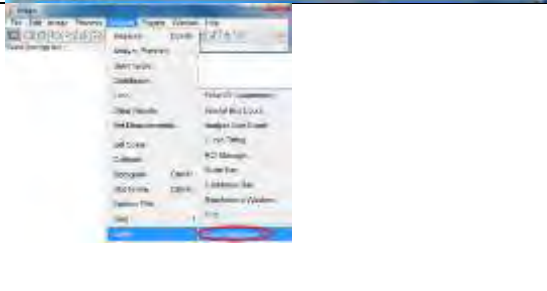

製作微流體晶片→配置不同濃度的澱粉液（煮至沸騰取上清液）→將澱粉液滴進微流體晶片→將唾液滴進微流體晶片→向右傾斜 30 度混合→在加熱板加熱反應 20 分（加熱板維持 37 度）→將本氏液滴進微流體晶片→向下傾斜 30 度混合→將微流體晶片放到加熱板上→紀錄

呈色時間。

實際實驗裝置圖

	<p>使用加熱板加熱</p>
	<p>使用手機的光度感應器用科學日至 app 量測透光度</p>
	<p>使用手機顯微鏡拍攝微觀。</p>

利用 ImageJ 分析過程

<p>開啟圖片 (File)</p>																					
<p>開啟分析程式 (Analyze→Tools→ Color Histogram)</p>																					
<p>紀錄結果 RGB-R 的平均值</p>	 <table border="1" data-bbox="718 1845 1040 1964"> <thead> <tr> <th></th> <th>Mean</th> <th>StdDev</th> <th>Min</th> <th>Max</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>channel1</td> <td>100.524</td> <td>1.74</td> <td>8.803</td> <td></td> </tr> <tr> <td>red</td> <td>117.457</td> <td>1.94</td> <td>7.041</td> <td></td> </tr> <tr> <td>green</td> <td>125.104</td> <td>1.67</td> <td>6.597</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		Mean	StdDev	Min	Max	channel1	100.524	1.74	8.803		red	117.457	1.94	7.041		green	125.104	1.67	6.597	
	Mean	StdDev	Min	Max																	
channel1	100.524	1.74	8.803																		
red	117.457	1.94	7.041																		
green	125.104	1.67	6.597																		

伍、 研究結果

實驗一:不同濃度的葡萄糖液在試管的呈色時間

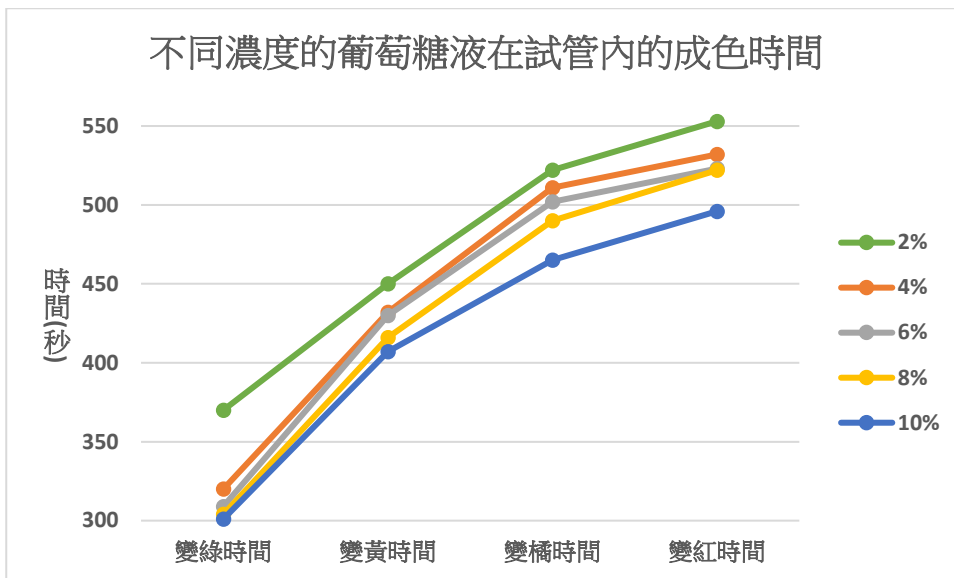
操縱變因:葡萄糖液濃度

本氏液	葡萄糖濃度	傾斜時間	變綠時間	變黃時間	變橘時間	變紅時間
5ml	2%	2 秒	370 秒	450 秒	522 秒	623 秒
5ml	4%	2 秒	320 秒	432 秒	511 秒	532 秒
5ml	6%	2 秒	309 秒	430 秒	502 秒	523 秒
5ml	8%	2 秒	304 秒	416 秒	490 秒	522 秒
5ml	10%	2 秒	301 秒	407 秒	465 秒	496 秒



(圖 5)不同濃度的葡萄糖液在試管內加熱到紅色的照片

使用酒精燈，加熱試管，比對國際色卡，綠、黃、橙、紅的變色時間，發現使用試管加熱，若濃度 2% 以上的葡萄糖液，本氏液最終變成紅色，至少需要 623 秒，濃度越高所需秒數越少，但至少都需要 496 秒以上，由於葡萄糖濃度都在 2% 以上，所以最終的呈色結果均呈現紅色。
















(表 1)不同濃度的葡萄糖液在試管內的成色結果

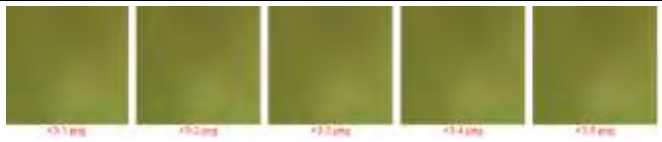
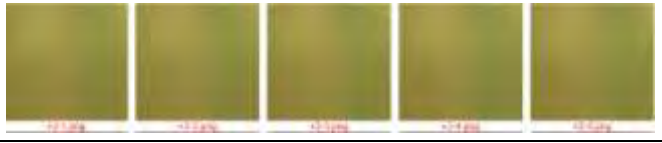
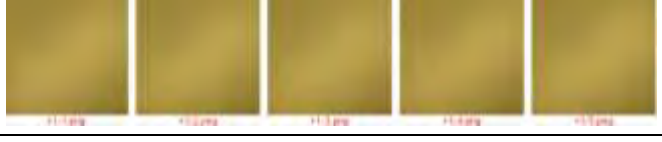

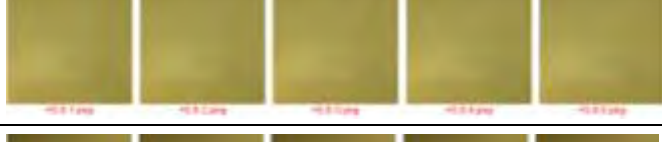
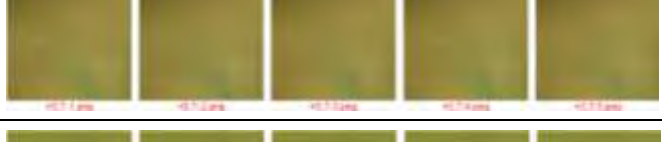
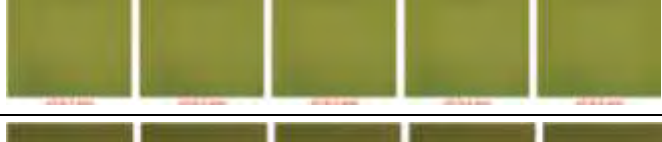





實驗二:不同濃度在微流體晶片加熱三分鐘的呈色結果

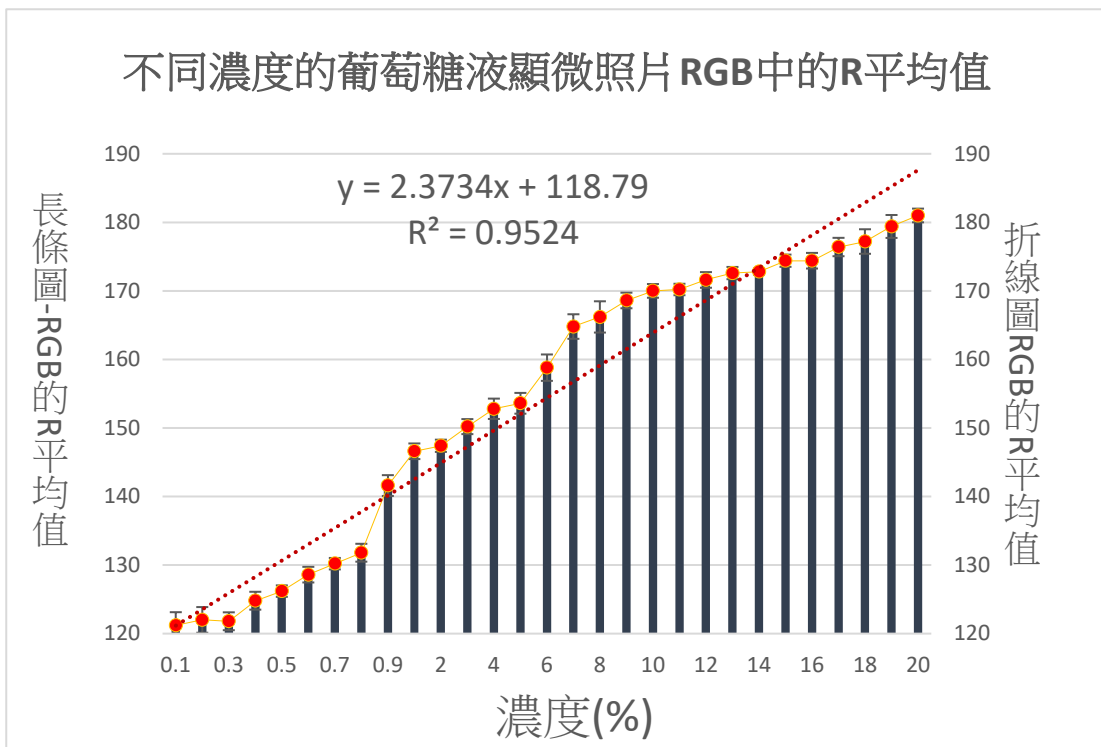
我們以反應加熱三分鐘為基準，使用手機顯微鏡拍攝顯微照片，製作了不同濃度的比色表，並將顯微照片匯入 image j 軟體，分析 RGB 值，因為本氏液跟葡萄糖反應最終會析出銅(紅色)，所以我們只看 RGB 值中 R 的平均值，並在 excel 繪製圖表，並在同一時間將晶片放入自製的吸光值裝置，以手機上的光度感應器量測通過晶片後的照度值，並記錄匯入 excel 分析繪製圖表，並將此圖表應用在酵素分解澱粉的實驗中來對照換算產糖濃度。

比色表一(各種濃度加熱 3 分鐘，顯微照相 RGB 及透光值總表)

葡萄糖液濃度	微觀(重複五次顯微拍攝圖)	不同濃度葡萄糖液顯微照片 RGB 中的 R 平均	不同濃度葡萄糖液的透光值
20%		181	221
19%		179	220
18%		177	218
17%		176	213

16%		174	210
15%		174	209
14%		173	207
13%		173	205
12%		172	203
11%		170	202
10%		170	201
9%		169	199
8%		166	197
7%		165	195
6%		159	193
5%		154	192
4%		153	189

3%		150	187
2%		147	185
1%		147	182
0.9%		142	180
0.8%		132	176
0.7%		130	172
0.6%		129	168
0.5%		126	166
0.4%		125	161
0.3%		122	159
0.2%		122	157
0.1%		121	152



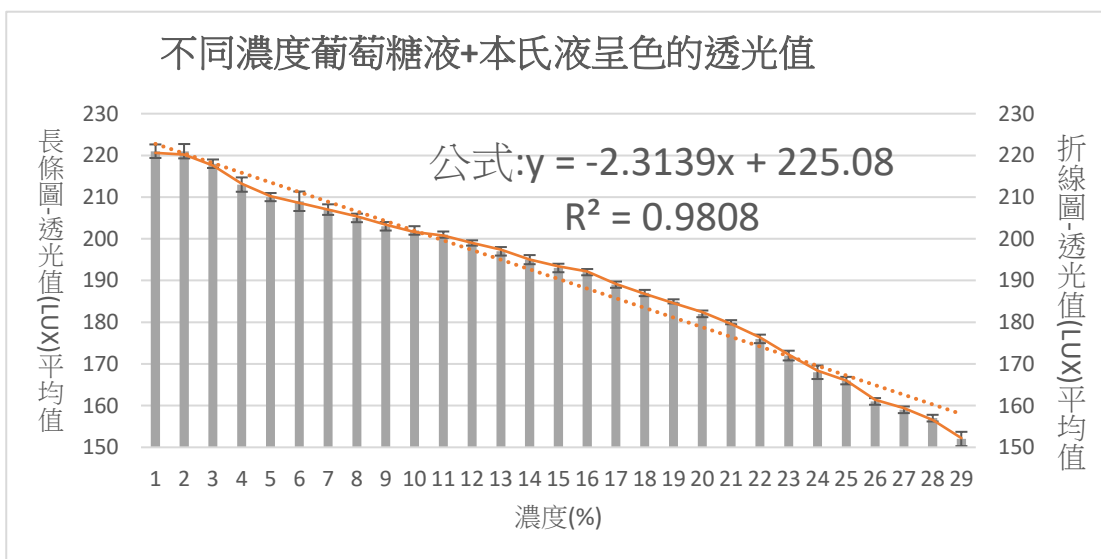
(表 2)不同濃度的葡萄糖液顯微照片 RGB 中的 R 平均值

不同濃度葡萄糖溶液在微流體晶片呈色的 RGB 值中 R 值平均

我們採用五次實驗的平均，可以發現同一濃度下，其中的標準差很小，當濃度越高，R 值平均越高。

不同濃度葡萄糖溶液在微流體晶片呈色的 RGB 值中 R 值平均值折線圖

我們嘗試將不同濃度的 R 值平均 連在一起，用 excel 繪製趨勢線，可以得到 R 值平均跟濃度的關係式， $R \text{ 值平均} = 2.3734x \text{ 葡萄糖濃度} + 118.79$ ，有了此公式我們可以從呈色顏色分析產糖濃度，趨勢線的相關係數為:0.9524 趨近於 1，顯示折線圖及趨勢線有高度相關。



(表 3)不同濃度葡萄糖液 +本氏液呈色的透光值

當濃度越高，透光值越低，劃一條趨勢線可獲得透光值 $= -2.3139x \text{ 葡萄糖濃度} + 225.08$ ，有這個公式，我們可以由透光值推算產糖濃度，趨勢線的相關係數是 0.9808，趨近於 1，有

高度相關。

實驗三:不同濃度的葡萄糖液在不同材質微晶片的呈色時間

操縱變因:葡萄糖液濃度、晶片材質

晶片材質:壓克力或玻璃

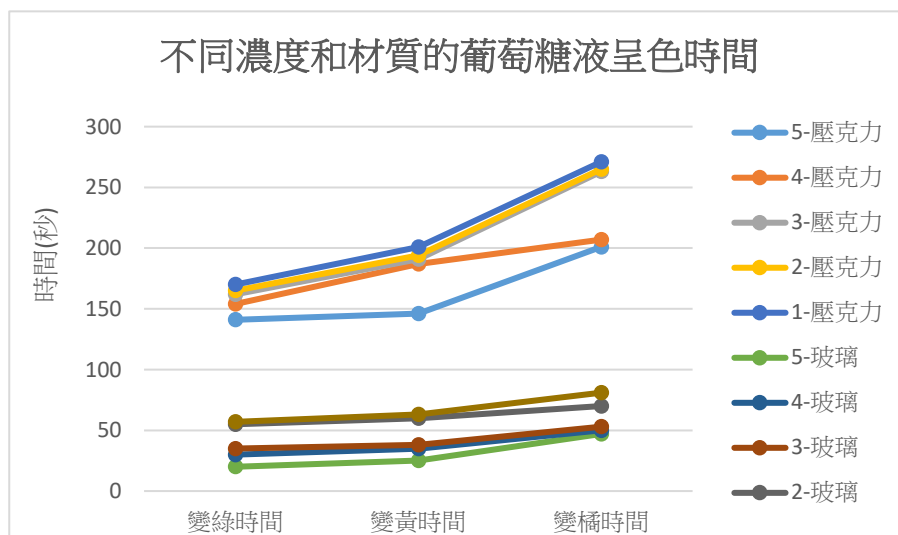
1.壓克力+壓克力的呈色結果

本氏液	葡萄糖濃度	傾斜時間	變綠時間	變黃時間	變橘時間
3ul	5%	2 秒	141 秒	146 秒	201 秒
3ul	4%	2 秒	154 秒	187 秒	207 秒
3ul	3%	2 秒	162 秒	191 秒	263 秒
3ul	2%	2 秒	165 秒	194 秒	265 秒
3ul	1%	2 秒	170 秒	201 秒	271 秒

2.玻璃+壓克力的呈色結果

葡萄糖與本氏液	葡萄糖濃度	傾斜時間	變綠時間	變黃時間	變橘時間
3ul	5%	3 秒	20 秒	25 秒	47 秒
3ul	4%	3 秒	30 秒	35 秒	50 秒
3ul	3%	3 秒	35 秒	38 秒	53 秒
3ul	2%	3 秒	55 秒	60 秒	70 秒
3ul	1%	3 秒	57 秒	63 秒	81 秒

比較呈色時間表:



(表 4)不同濃度和材質的葡萄糖液成色時間

當葡萄糖液的濃度越高，其反應變色的時間越快，玻璃材料當作基板的加熱變色時間短，但缺點是使用幾次後容易與黏附的壓克力微流體晶片分離。

實驗四:不同濃度的澱粉液在試管的呈色時間

操縱變因:澱粉液濃度

晶片材質:壓克力或玻璃

澱粉、唾液與本氏液	酵素反應時的水溫	澱粉濃度	唾液濃度	變綠時間	變黃時間	變橘時間
10ml	100 度	10%	原			
10ml	38 度	10%	無			
10ml	38 度	10%	原	144 秒	200 秒	300 秒



(圖 6)

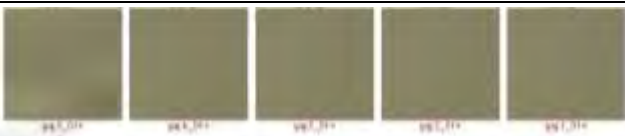
因為 100 度水溫處理及沒有放置酵素的試管，會讓酵素失去活性，所以自然就不會有糖產生，所以沒有呈色反應。

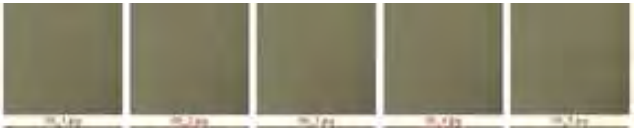
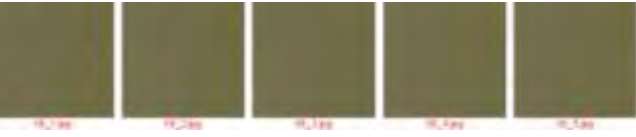



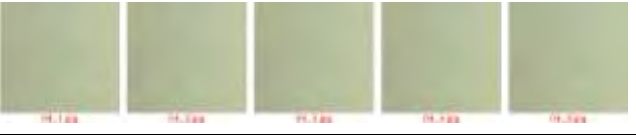



在 10%澱粉的濃度下，本氏液檢測需要加熱 144 秒以上，比起使用晶片變色速度慢(可以跟後面微流體晶片數值比較)。

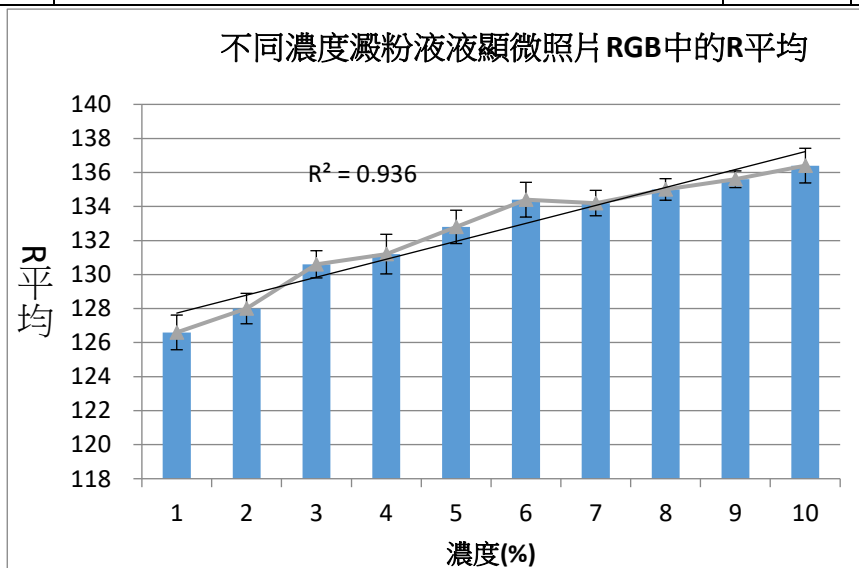
實驗五:不同濃度的澱粉液酵素分解後，本氏液在微晶片加熱三分鐘的呈色結果

我們將不同條件的實驗處理，最後加熱 3 分鐘呈色，所得的最後結果色表

比色表二(加熱 3 分鐘)，並利用實驗二所推導的關係式，計算產糖量。

澱粉濃度	微觀	顯微照片 RGB 中的 R 平均	推測產出的糖濃度(%) $= (R - 118.79) / 2.3734$
10%		136	7.251200809

9%		136	7.251200809
8%		135	7.251200809
7%		134	6.82986433
6%		134	6.40852785
5%		133	6.40852785
4%		131	5.987191371
3%		131	5.144518412
2%		128	5.144518412
1%		127	3.880508974

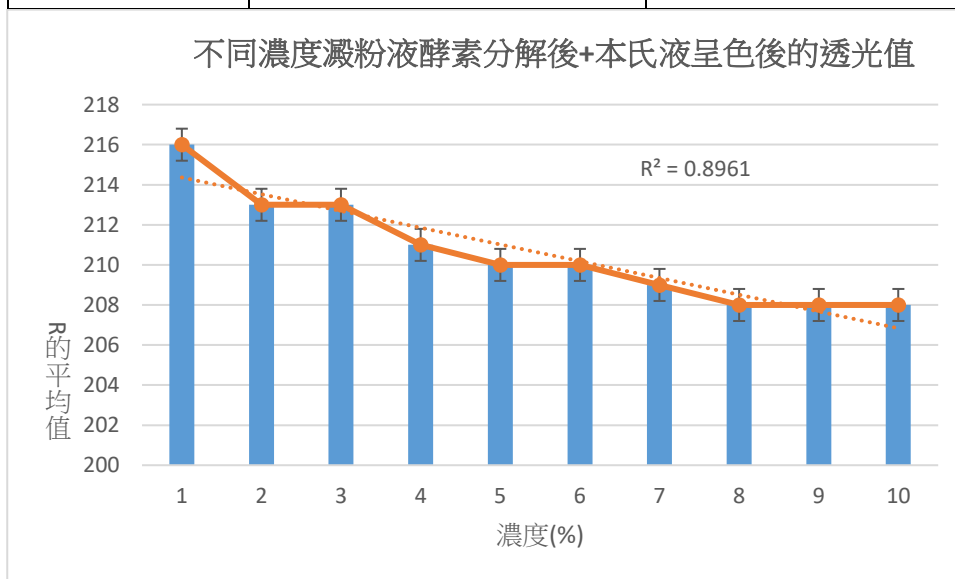


(表 5)不同濃度澱粉液顯微照片 RGB 中 R 的平均值

從 RGB 的 R 值平均來看，濃度越高的澱粉液，最後本氏液的 R 值平均越高(析出銅較多)，而且其澱粉濃度跟最後本氏液反應後，產生的銅呈色的 R 值越高，畫一條趨勢線的相關係數 0.936 也趨近於 1，也就是說澱粉受質跟反應出的糖呈正比，跟析出銅的 RGB 的 R 值平均呈正比。

透光平均值+推算產出的糖濃度

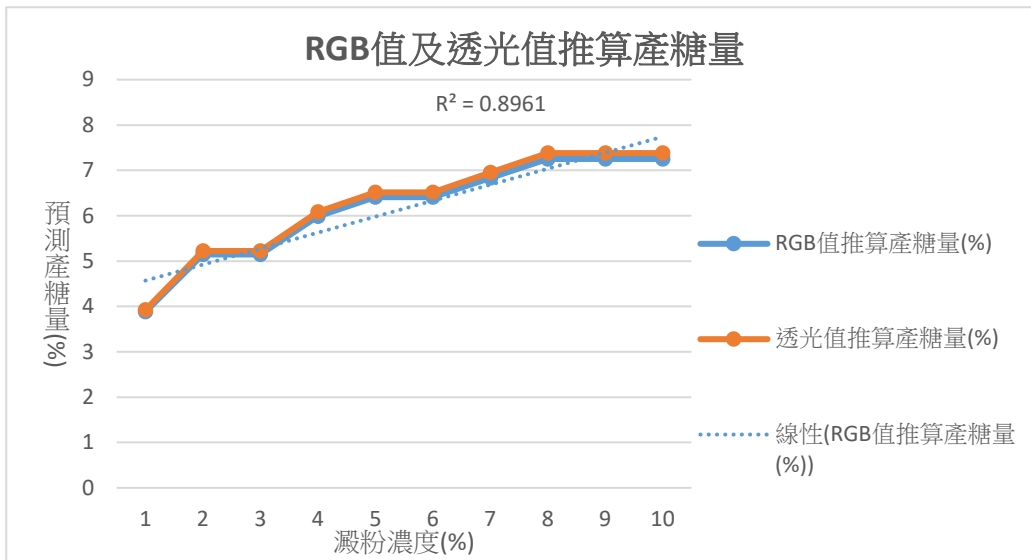
澱粉液濃度(%)	不同濃度的澱粉液的透光值	推測產出的糖濃度(%) =(R-225.08)/-2.3139
10	208	7.381477
9	208	7.381477
8	208	7.381477
7	209	6.949306
6	210	6.517136
5	210	6.517136
4	211	6.084965
3	213	5.220623
2	213	5.220623
1	216	3.924111



(表 6)不同濃度澱粉液酵素分解後+本氏液成色後的吸光值

從透光值來看，濃度越高的澱粉液，最後本氏液的透光值越低，而且其澱粉濃度跟最後本氏液反應後，產生的銅越多，透光值越低，畫一條趨勢線的相關係數 0.8961 也趨近於 1，也就是說澱粉受質跟反應出的糖呈正比，但析出銅多，透光度呈反比。

可以去比較前述比色表一所推導的關係式，可以大約推算出酵素的產糖量，我們可以發現用顯微照片的 RGB 值的 R 關係式: 糖濃度(%)=(R-118.79)/2.3734，推算出產糖濃度，及用吸光值關係式: 推測產出的糖濃度(%)=(R-225.08)/-2.3139，推算出產糖濃度。



(表 7)RGB 值及透光值推算產糖表

RGB 值及透光值推算產糖量，我們拿推算出來的數值，使用 excel 繪製圖表，並計算出相關係數=1，可見用 RGB 值分析及透光值分析都能在這個實驗預估產糖量，兩者算出的數值相關度很高。

實驗六:不同濃度的澱粉液在微晶片的呈色時間

操縱變因:澱粉液濃度、晶片材質

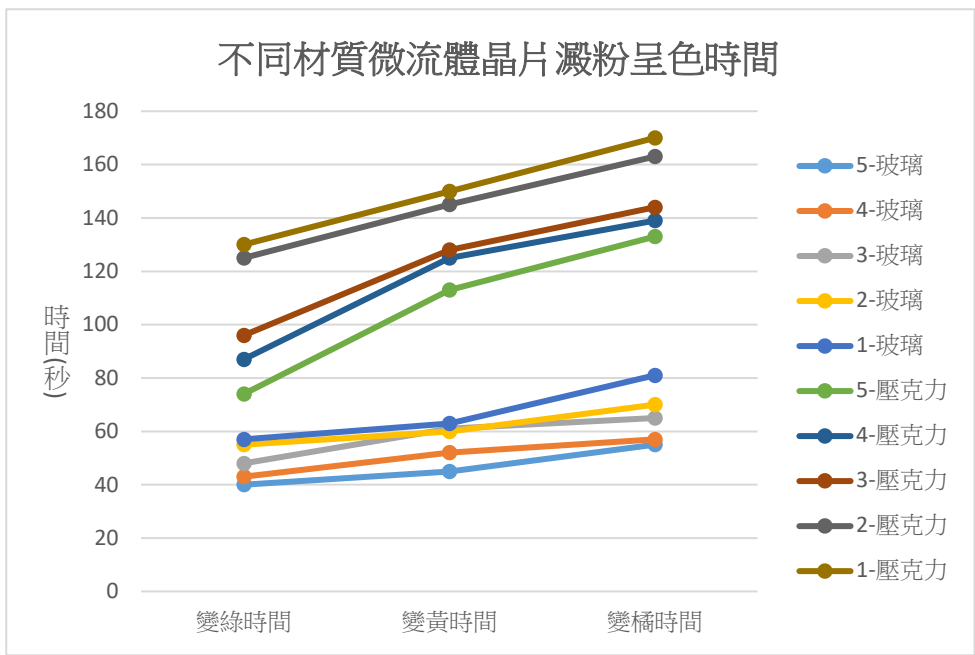
晶片材質:壓克力或玻璃

1. 玻璃+壓克力的呈色結果

澱粉、唾液與本氏液	澱粉濃度	傾斜時間	變綠時間	變黃時間	變橘時間
3ul	5%	7 秒	40 秒	45 秒	55 秒
3ul	4%	7 秒	43 秒	52 秒	57 秒
3ul	3%	7 秒	48 秒	61 秒	65 秒
3ul	2%	7 秒	55 秒	60 秒	70 秒
3ul	1%	7 秒	57 秒	63 秒	81 秒

2. 壓克力+壓克力的呈色結果

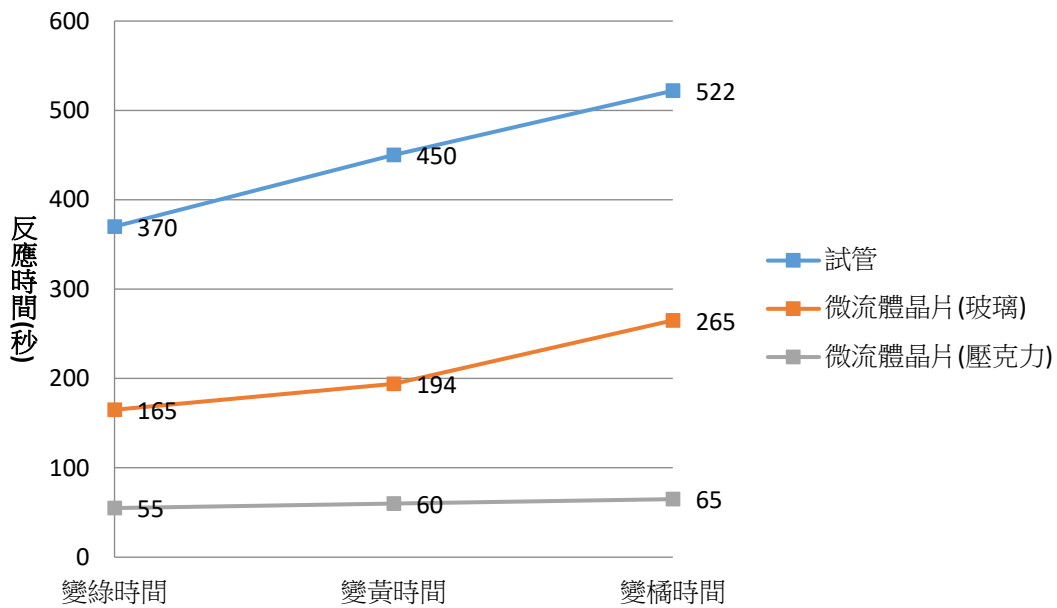
澱粉、唾液與本氏液	澱粉濃度	唾液濃度	傾斜時間	變綠時間	變黃時間	變橘時間
3ul	5%	原	7 秒	74 秒	113 秒	133 秒
3ul	5%	50%	7 秒	87 秒	125 秒	139 秒
3ul	2.5%	原	7 秒	96 秒	128 秒	144 秒
3ul	2.5%	50%	7 秒	125 秒	145 秒	163 秒



(表 8)不同材質微流體晶片澱粉液的成色時間

比較折線圖(一、二和三、四)的呈色時間發現玻璃與壓克力複合的晶片加熱時間，玻璃材質的加熱變色時間短。

用不同材質的微流體晶片和試管加入葡萄糖液2%的呈色時間比較表

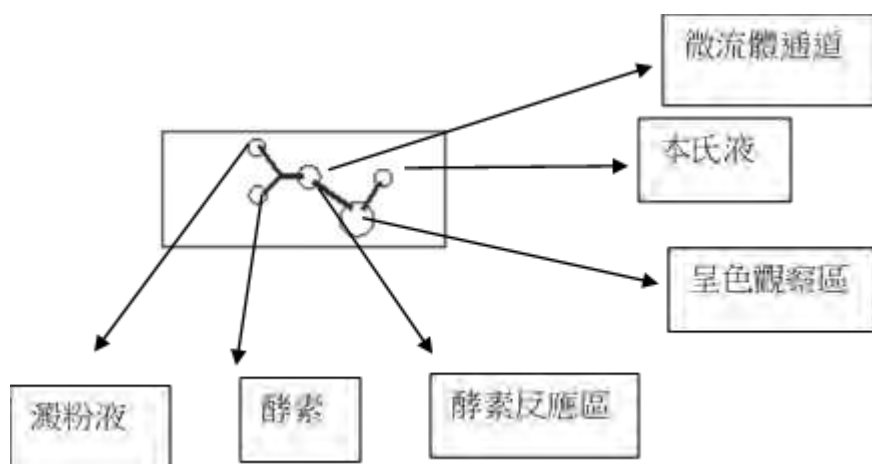


(表 9) 比較試管實驗跟微流體晶片的反應時間

使用 2%濃度的葡萄糖液來比較兩種方式(試管反應、微流體晶片)的本氏液的呈色時間，發現不管是用玻璃跟壓克力當基材的微流體晶片，都比試管來的節省時間。

陸、 討論

- 一、由實驗三、可明顯看出玻璃材質的呈色時間較壓克力材質得快，但是否有缺點？雖然玻璃材質的呈色時間較壓克力材質得快，但因為不同性質會熱漲冷縮的原因，我們使用的膠無法讓此種複合材質使用很多次，所以除非找到更好的黏著方式，要不然還是選擇使用兩片壓克力所組成的微晶片。
- 二、使用微流體晶片的設計可以減少試劑的浪費？實驗上是可行的，在實驗一中，使用了兩種藥品，葡萄糖 $3\ \mu\text{l}$ 跟本氏液 $3\ \mu\text{l}$ ，比起使用試管一次須至少 $2\sim 5\text{ml}$ 差了將近一千倍的使用量，況且本氏液含銅離子是重金屬對環境也不友善。
- 三、使用微流體晶片可去除掉酒精燈隔水加熱的危險性，在國一實驗活動 3-2 裡，因本氏液反應需要加熱，所以常使用隔水加熱，此種加熱法麻煩，而且在實務操作上，容易發生危險性，我們的微流體晶片加熱時，直接放置在溫茶器的加熱板上，加熱迅速，也不容易造成危險。
- 四、微流體晶片是否可以定量？我們利用實驗一已知濃度的葡萄糖液跟本氏液反應，加熱三分鐘後，以顯微鏡拍攝後，以 image J 分析 RGB 值，匯入 excel 分析，可以得到濃度與 RGB 的 R 值平均關係，經由比對產物的 RGB 值 R 值平均就可以大約計算出最後所得的糖濃度，由我們實驗也可以藉由光通過溶液的透光值，匯入 excel 分析也可以經由比對透光值，推算產物濃度，兩者推算出的數值相關係數=1，使用這兩種方法都能預估出產糖量。
- 五、微流體晶片是否可以在一片微晶片設計多項實驗流程依序完成實驗？
我們第二項實驗的微流體晶片設計如圖 2:



從這個澱粉分解酵素的呈色實驗一共進行兩個步驟，第一步驟加澱粉液跟酵素混合反應二十分鐘，我們設計了微通道，只要向右傾斜 30 度就可以經微流體通道，流到酵素反應區，下一個步驟再加入本氏液，只要向下傾斜 30 度，經微流體通道又流入呈色觀察區，之後加熱觀察呈色，所以只要有良好的實驗流程規劃跟設計，是可以讓兩步驟的實驗在微流體晶片達成，驅動微流體晶片液體流動的方式很多，我們設計了最簡單用重力達成流動效果，若更複雜可能就需要用空氣擠壓之類的方式達成。

我們也試過同時在加入澱粉液、酵素及本氏液，只要向右傾斜 30 度反應 20 分鐘，向下傾斜 30 度加熱反應呈色即可，只要混合區的容積遠大於反應物的總和也不會有溢出的現象。

柒、 結論

- 一、用微流體晶片可將原本需要 30 分鐘的加熱時間縮短至幾分鐘甚至幾秒。
- 二、晶片與玻片性質最好一樣，加熱時才不會因為熱脹冷縮的緣故而造成玻片與晶片分開的情形發生。
- 三、微流體晶片可以達到節省藥材減少污染的效果。
- 四、經由顯微照片分析 RGB 值及透光值，我們也可以用微流體晶片達成，計算反應物濃度的目的。
- 五、同一塊微流體晶片可以經由不同反應區跟微流體通道的設計、實驗區的配置，以及利用重力，達成多步驟實驗。

比較試管與微流體晶片的差別

	試管	微流體晶片
加熱時間	30 分鐘	3 分鐘
藥材總用量	30ml	6 或 9ul
清洗	需要試管刷，有銅沉澱 不易刷洗	可用針筒加壓清洗，但 銅沉澱也不易清洗
定量	無法定量觀察	可定量觀察分析
多程序實驗	需要人工添加	可預先加入，讓溶液流 動即可

因為壓克力微流體晶片在製作上方便，只要繪圖再以雷射切割，可節省藥品使用量，並達到簡易觀察的效果，值得推廣。

捌、 參考資料

- 一、精準醫療「芯」時代 - 微流體技術的大放異彩
<http://geneonline.news/index.php/2017/10/11/microfluidics-overview/>
- 二、下一波生物晶片 - 微流體生醫晶片
<https://scitechvista.nat.gov.tw/c/s9ns.htm>
- 三、澱粉和葡萄糖的測定實驗
http://www.nani.com.tw/nani/jlearn/natu/ability/a3/1_a3_1.htm

【評語】 030208

此研究作品將原本課堂上糖的測定實驗與酵素反應，利用自行製作的微流體通道將原本課本實驗內所使用的反應溶液與反應試劑所需的體積大幅度的減少，相當具有經濟環保精神，並且透過網路的影像軟體觀察反應後的隨著時間所變化的顏色，相當不錯。微流體在現今的化學實驗中是很被期待的，利用微流道體積小的特性，可以讓反應速率加快，加熱更均勻，本研究用一個很基本的化學反應來呈現微流道的應用，雖然基本，但呈現了一個科學研究的基本精神。同學們將課堂上所操作的實驗，透過發想和手邊的資源實現於微流體道上觀察，是一個相當具有創意的想法，有別於之前在科展上所發表的作品。以微流體晶片將葡萄糖檢測實驗縮小化。另外內文撰寫流暢，敘述明確，閱讀上可讓讀者相當容易了解其研究的目的與結果。值得一提同學在數據的呈現上具有統計的概念，每一點的數據都採用 5 次的實驗平均值，並且給與標準誤差，這點是相當重要，能夠有效呈現數據的可信賴度。以下幾點提供同學作為參考：

1. 是否可量測食品中糖的含量？
2. 是否可量測食品中澱粉的含量？
3. 可以探討其他醣類的化合物所達到的變色效果。

作品海報

摘要

使用微流體晶片可將原本需要30分鐘的加熱時間縮短至幾分鐘甚至幾秒,將實驗過程簡化以及減少材料用量,透過微流體晶片通道設計並能在同一片微流體晶片進行兩個步驟的實驗流程。

研究主旨用國一自然課本葡萄糖檢測實驗及酵素分解澱粉實驗為標的,透過繪圖軟體inkscape的使用,設計不同反應區跟微流體通道,使用雷射切割機切割及雕刻壓克力的微流體晶片,並測試不同材質的黏貼晶片反應時間,並達成實驗過程達到藥品減量,實驗流程簡化,利用image J分析顯微照片的RGB值及測量吸光值達到定量產糖濃度的效果。

壹、研究動機

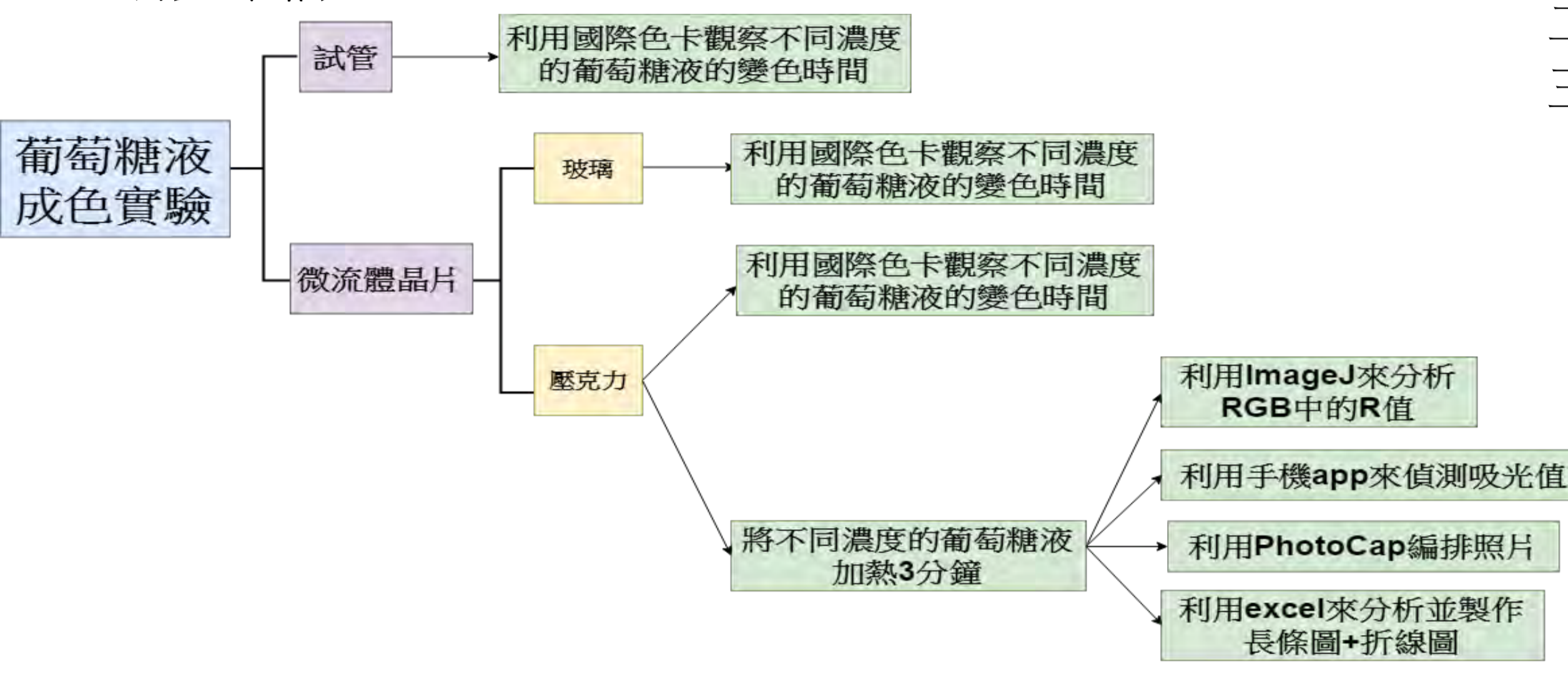
當我在做葡萄糖與酵素分解澱粉的呈色實驗時,覺得實驗太過繁瑣,等待時間過長,耗費試劑過多,需隔水加熱,所以便想用更簡易的方式來進行實驗,而這時老師就提議可不可以用微流體晶片設計來減少實驗耗材耗損,精簡實驗流程,也增加實驗的安全性。

貳、研究目的

- 一、使用試管及隔水加熱法,進行國一課本葡萄糖檢測實驗及澱粉酵素分解實驗測量反應時間。
- 二、使用inkscape設計雷射切割晶片圖形,並雷射切割製造微流體晶片。
- 三、探討不同濃度的葡萄糖液微流體晶片檢驗本氏液呈色時間,測量微流體晶片可偵測最小濃度。
- 四、探討從酵素澱粉分解,使用本氏液呈色檢驗葡萄糖濃度,探討多程序實驗在一片微流體晶片的可能性。
- 五、利用吸光值及分析顯微照片的RGB值來定量葡萄糖濃度,並利用迴歸分析來定量澱粉、酵素實驗得產糖量。

參、研究設備及器材

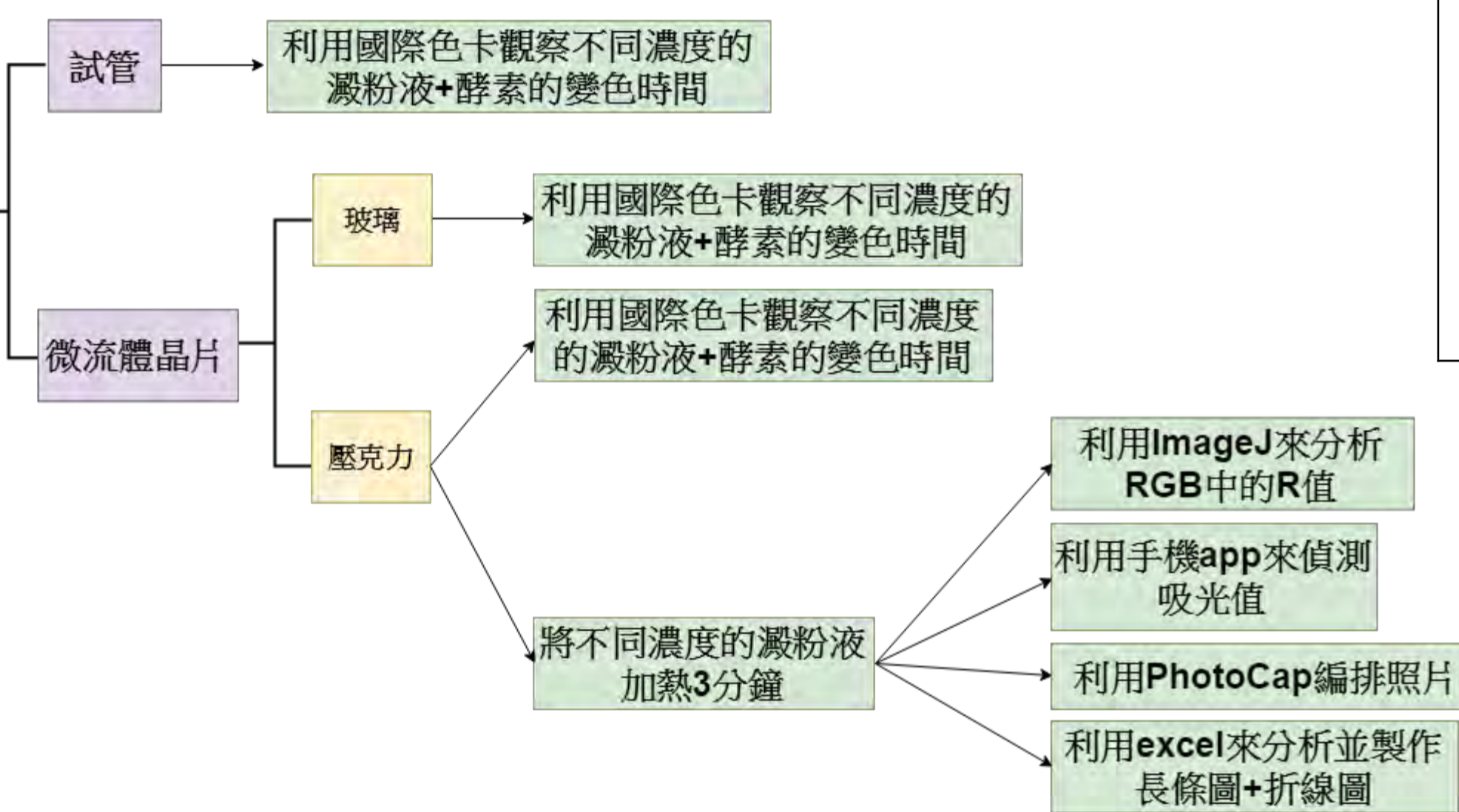
一、研究架構



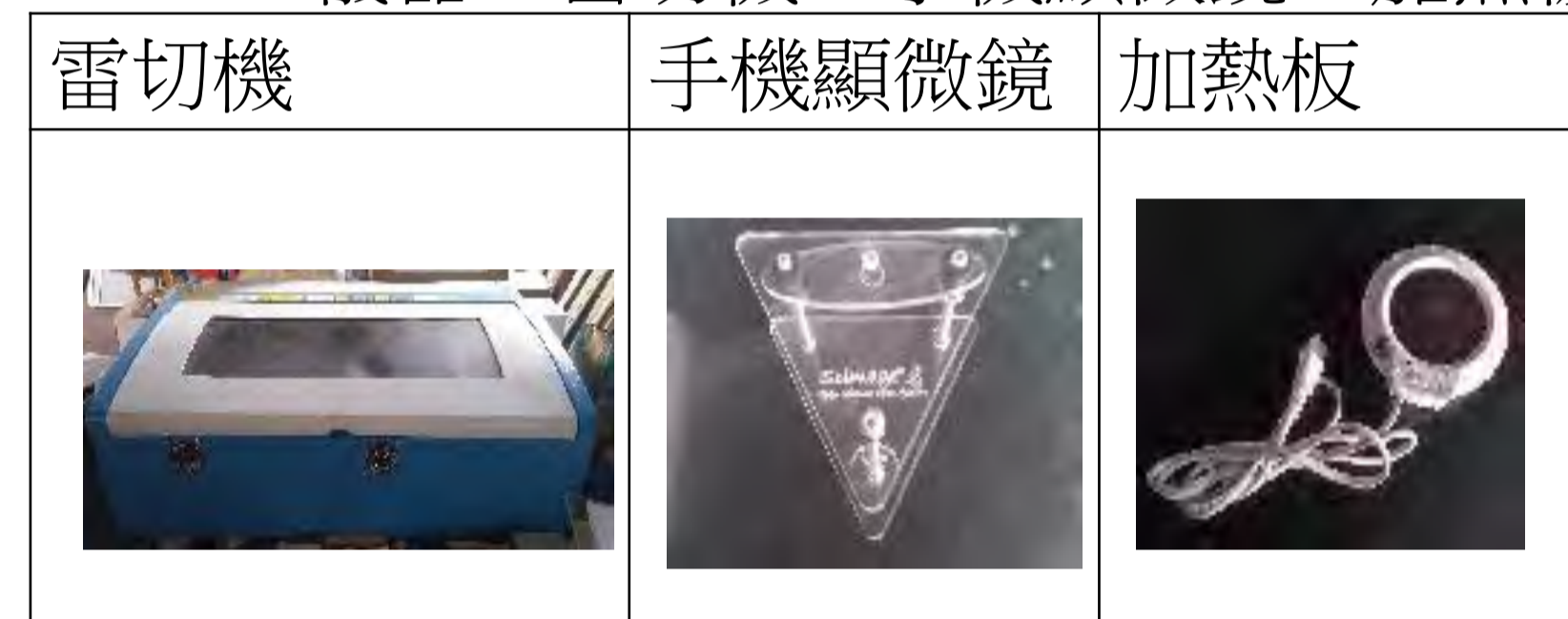
- 二、器材：AB膠、瞬間接著劑、量筒、燒杯
- 三、微流體晶片：



澱粉產糖後的成色實驗



四、儀器：雷切機、手機顯微鏡、加熱板



五、藥品：本氏液、葡萄糖液、澱粉液

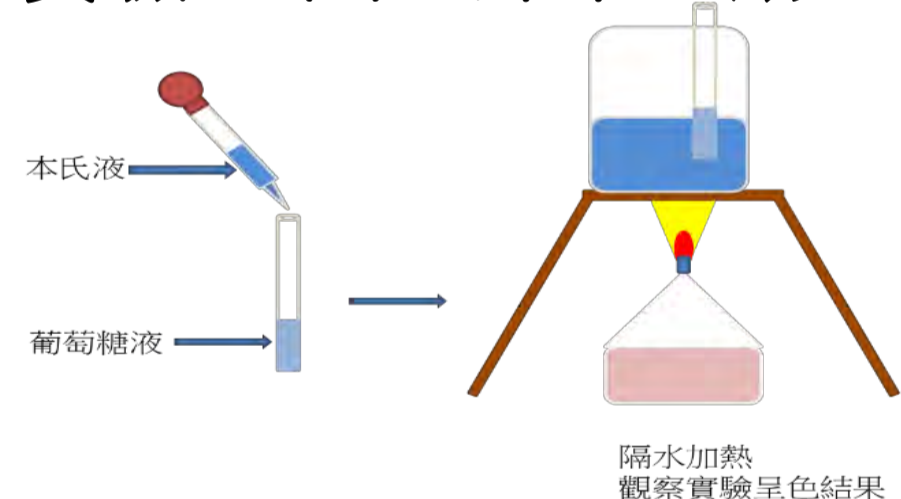
六、繪圖軟體：inkscape(畫圖)、excel(分析)、imageJ(分析)、PhotoCap(整理相片)

肆、研究過程與方法

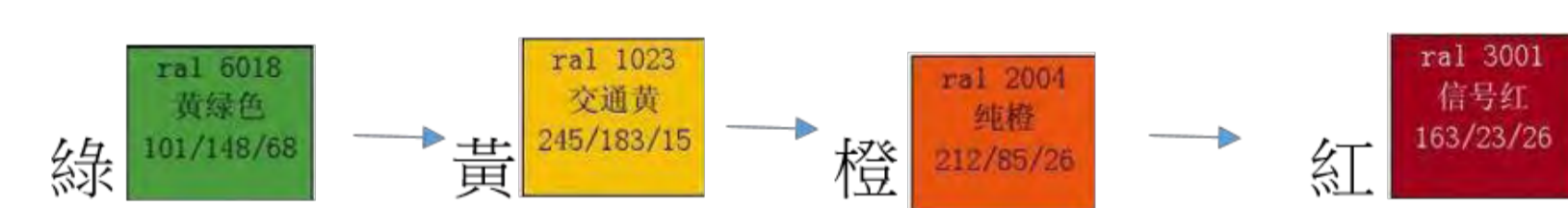
一、比對實驗流程

先來比對國一自然(一)課本的實驗流程,並實作實驗記錄反應時間。

實驗一:國一課本活動3-1糖的測定實驗(如圖)

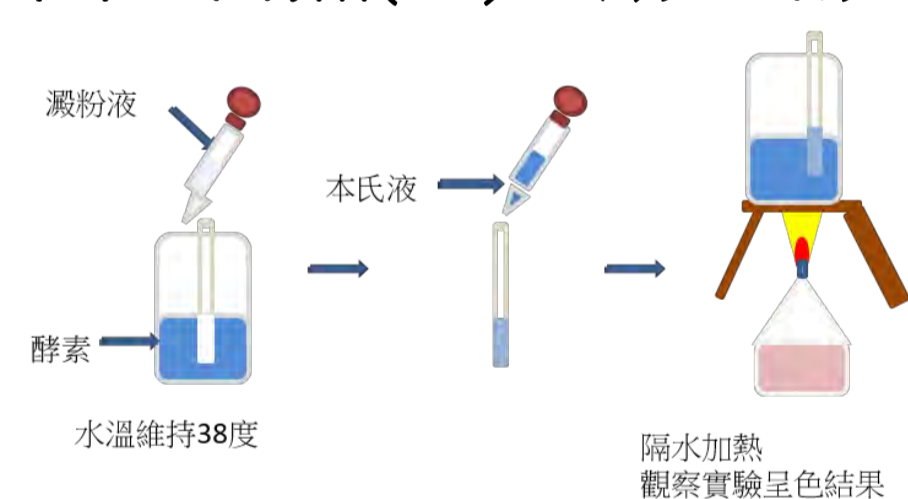


比對四個顏色的國際色卡為標準:



濃度越高,呈色時間越快,最終的顏色越紅

實驗二:國一自然(一)活動3-2酵素的作用



因為Cu產生量的不同,與Cu²⁺混合後,會依照濃度從少到多呈現綠、黃、橙、紅。

前面部分,使用不同條件處理酵素,藉由呈色結果探討酵素活性,本實驗需要兩個步驟,其中需要很多試管,做不同的條件處理。**實驗一、二有幾個缺點:浪費葡萄糖、澱粉、酵素、本氏液太多,隔水加熱速度太慢,呈色濃度不夠無法用肉眼辨識。**

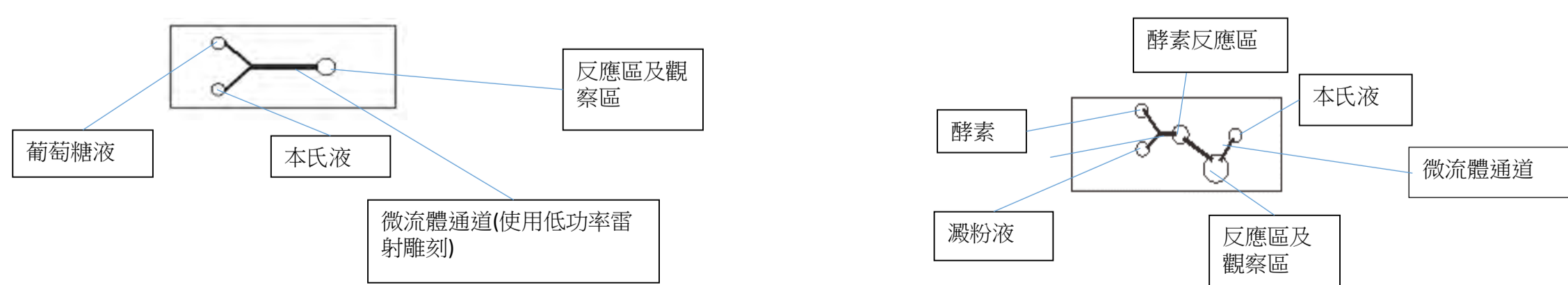
於是我們想要用微流體晶片,簡化實驗流程,減少檢驗試劑耗材,增加辨識的敏感度。

二、設計微流體晶片,並雷射切割微流體晶片。

1.用inkscape 向量繪圖軟體在電腦上設計流體晶片,設計後的結果如下圖。

葡萄糖液測試晶片(圖1)

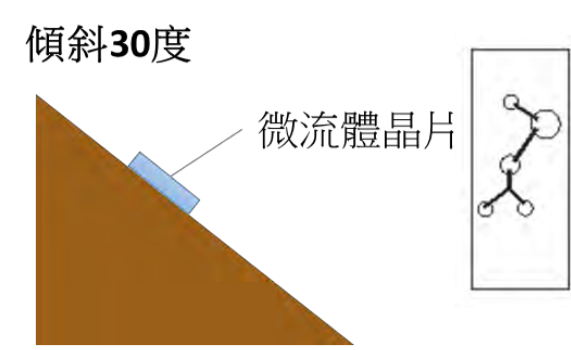
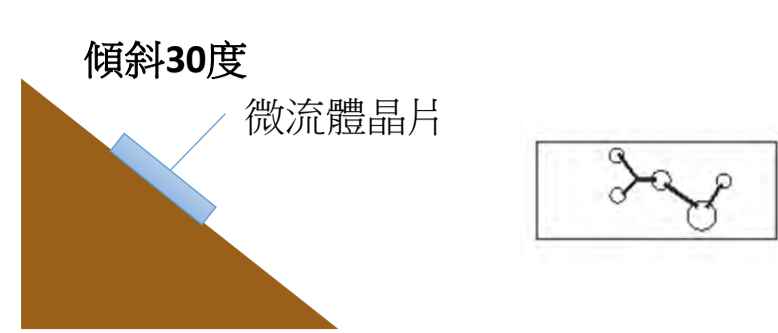
澱粉酵素分解測試晶片(圖2)



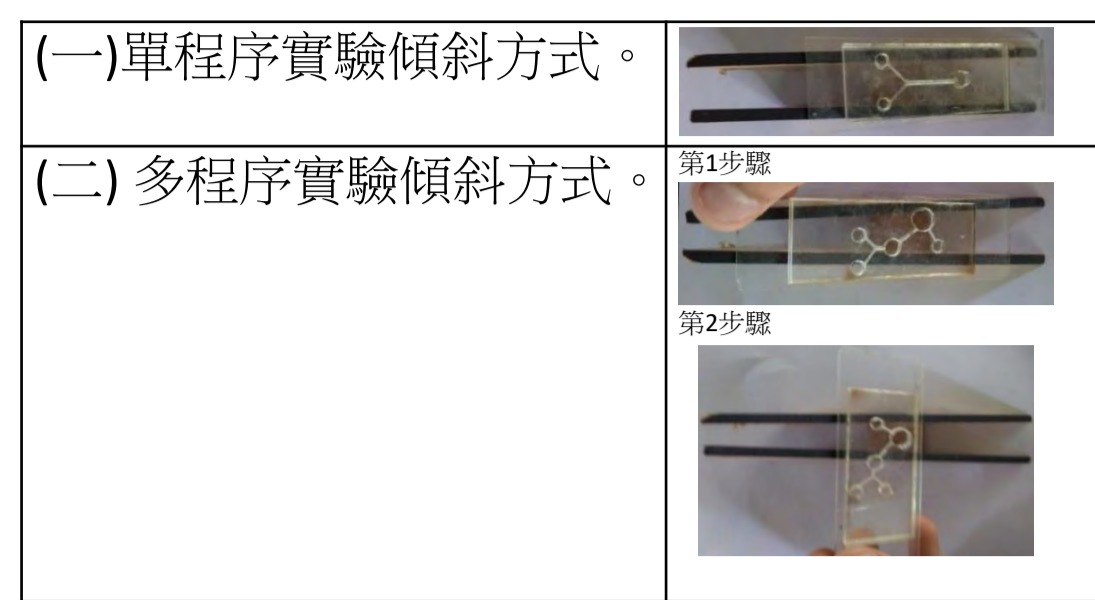
2.雷射切割,我們採用3mm壓克力板,雷射切割分為兩個部分,反應區以高功率切穿,流動通道,以低功率切出路線(不能切穿),將切好的晶片,反向黏貼到玻璃或是壓克力材質的基材,就可以製作出封閉溝槽的微流體晶片。

3.晶片本身的材質用壓克力,底下以壓克力或玻璃當作基材,以A、B及瞬間接著劑黏附,測試這兩個不同材質的微晶片性質差異、呈色時間的差異。

4.流體流動方式採重力流動,利用傾斜:**傾斜角度一律維持30度**,利用雷射切割設計傾斜支架。



微流體晶片流動傾斜實際照片



(圖3) 單程序實驗傾斜方式+多程序實驗傾斜方式的第一步驟(右圖為晶片方向)

(圖4) 多程序實驗傾斜方式的第2步驟(右圖為晶片方向)

三、實驗流程

實驗一:不同濃度的葡萄糖液在試管的呈色時間

準備試管→配置不同濃度葡萄糖液→將葡萄糖液以及本氏液加進試管→放入燒杯，使用酒精隔水加熱→利用國際色卡紀錄呈色時間

實驗二:不同濃度的葡萄糖液在微流體晶片加熱三分鐘的呈色結果

製作微流體晶片→配置不同濃度葡萄糖液→將葡萄糖液滴進微流體晶片→將本氏液滴進微流體晶片→傾斜30度混合→將微流體晶片放到加熱板上3分鐘→紀錄呈色結果。

實驗三:不同濃度的葡萄糖液在不同材質微晶片的呈色時間

製作微流體晶片→配置不同濃度葡萄糖液→將葡萄糖液滴進微流體晶片→將本氏液滴進微流體晶片→傾斜30度混合→將微流體晶片放到加熱板上→對照國際色卡紀錄呈色時間。

實驗四:不同濃度的澱粉液在試管的呈色時間

準備試管→配置不同濃度的澱粉液（煮至沸騰取上清液）→將澱粉液以及酵素加進試管→放入水中(放置在不同水溫攝氏38及100度反映20分鐘)→將本氏液加進試管→放入正在用酒精燈加熱的燒杯中→對照國際色卡紀錄，紀錄呈色時間。

實驗五:不同濃度的澱粉液在微晶片加熱三分鐘的呈色結果

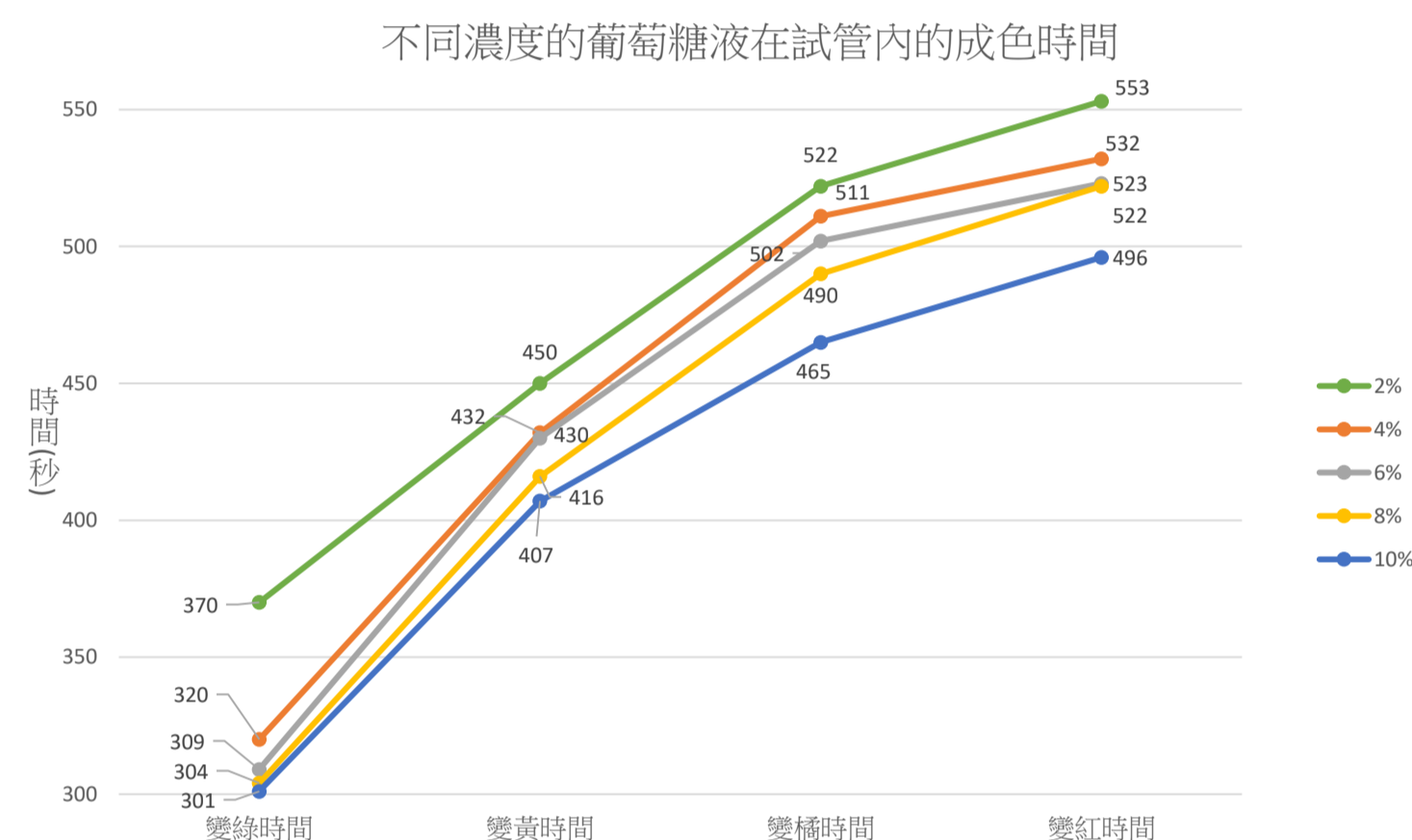
製作微流體晶片→配置不同濃度的澱粉液（煮至沸騰取上清液）→將澱粉液滴進微流體晶片→將唾液滴進微流體晶片→向右傾斜30度混合→在加熱板加熱反應20分（加熱板維持37度）→將本氏液滴進微流體晶片→向下傾斜30度混合→將微流體晶片放到加熱板上3分鐘→紀錄呈色結果。

實驗六:不同濃度的澱粉液在微晶片的呈色時間

製作微流體晶片→配置不同濃度的澱粉液（煮至沸騰取上清液）→將澱粉液滴進微流體晶片→將唾液滴進微流體晶片→向右傾斜30度混合→在加熱板加熱反應20分（加熱板維持37度）→將本氏液滴進微流體晶片→向下傾斜30度混合→將微流體晶片放到加熱板上→紀錄呈色時間。

伍、研究結果

實驗一:不同濃度的葡萄糖液在試管的呈色時間

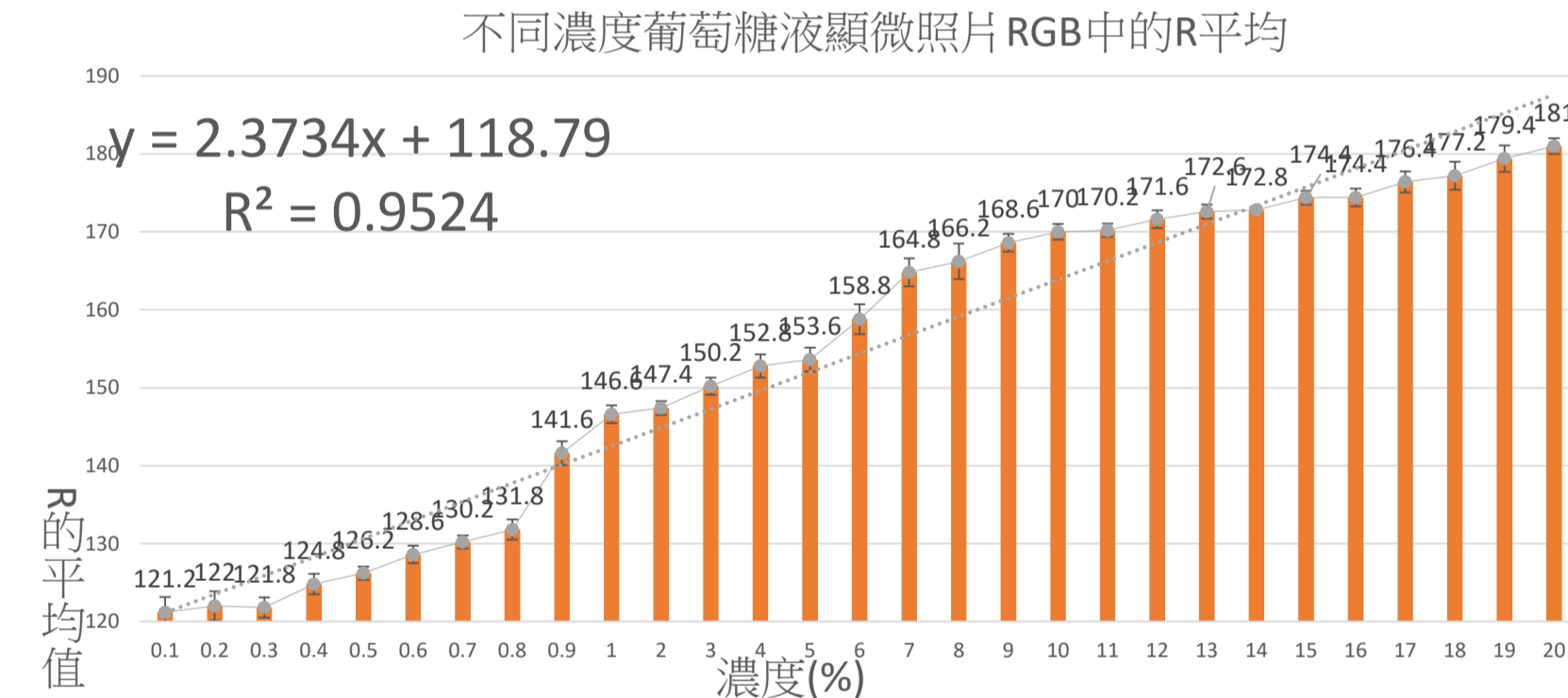


(表1)不同濃度的葡萄糖液在試管內的成色結果

實驗四:不同濃度的澱粉液在試管的呈色時間

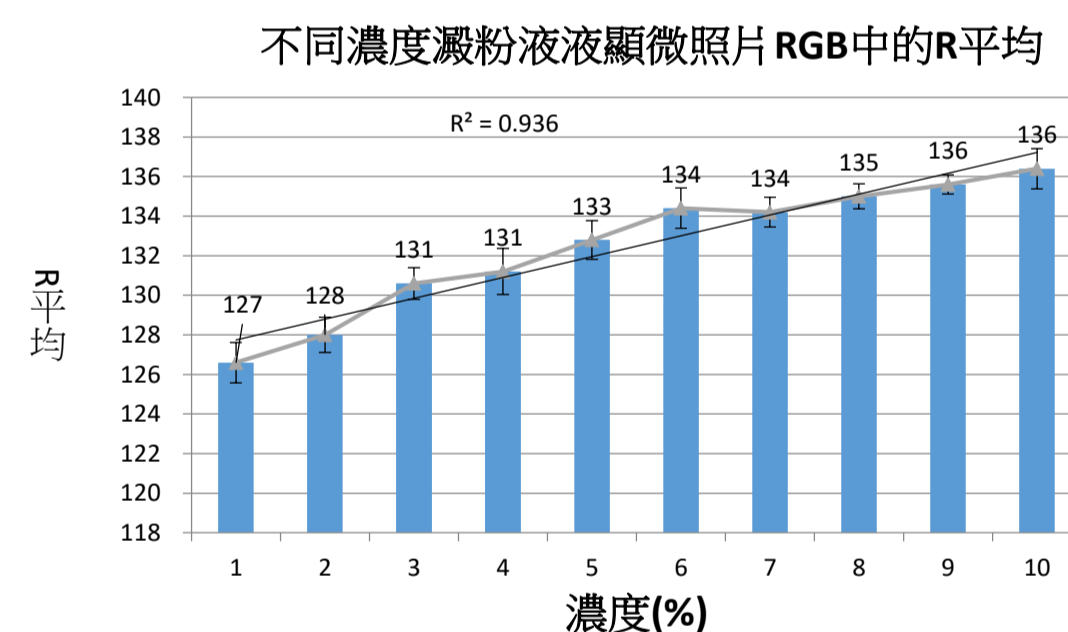
澱粉、唾液與本氏液	酵素反應時的水溫	澱粉濃度	唾液濃度	變綠時間	變黃時間	變橘時間
10ml	100度	10%	原			
10ml	38度	10%	無			
10ml	38度	10%	原	144秒	200秒	300秒

實驗二:不同濃度的葡萄糖液在微流體晶片加熱三分鐘的呈色結果



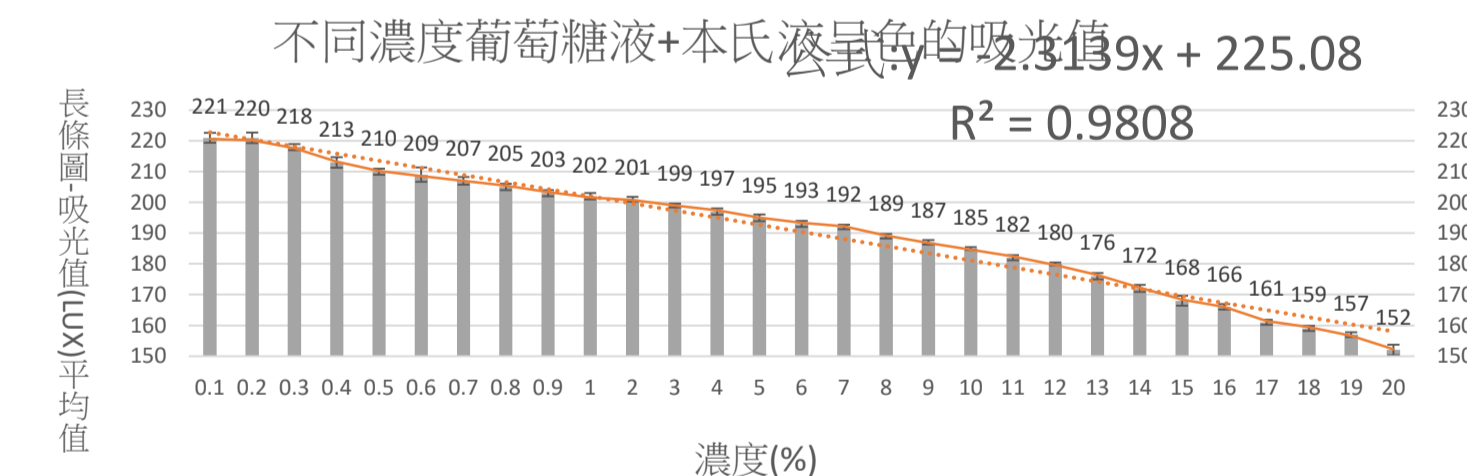
(表2)不同濃度的葡萄糖液顯微照片RGB中的R平均值

實驗五:不同濃度的澱粉液酵素分解後，本氏液在微晶片加熱三分鐘的呈色結果



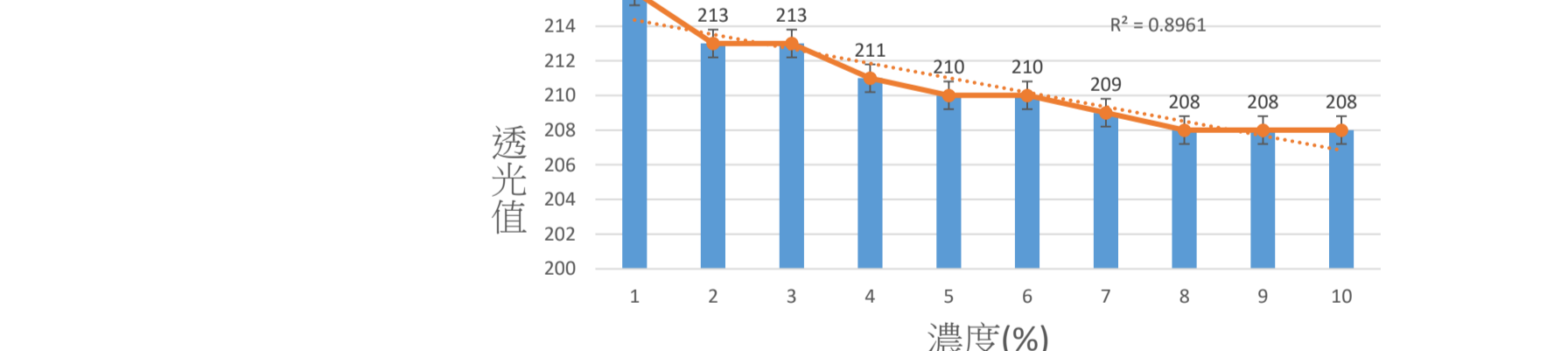
(表5)不同濃度澱粉液顯微照片RGB中R的平均值

實驗三:不同濃度的葡萄糖液 + 本氏液呈色的透光值



(表3)不同濃度葡萄糖液 + 本氏液呈色的透光值

實驗六:不同濃度澱粉液酵素分解後+本氏液成色後的吸光值



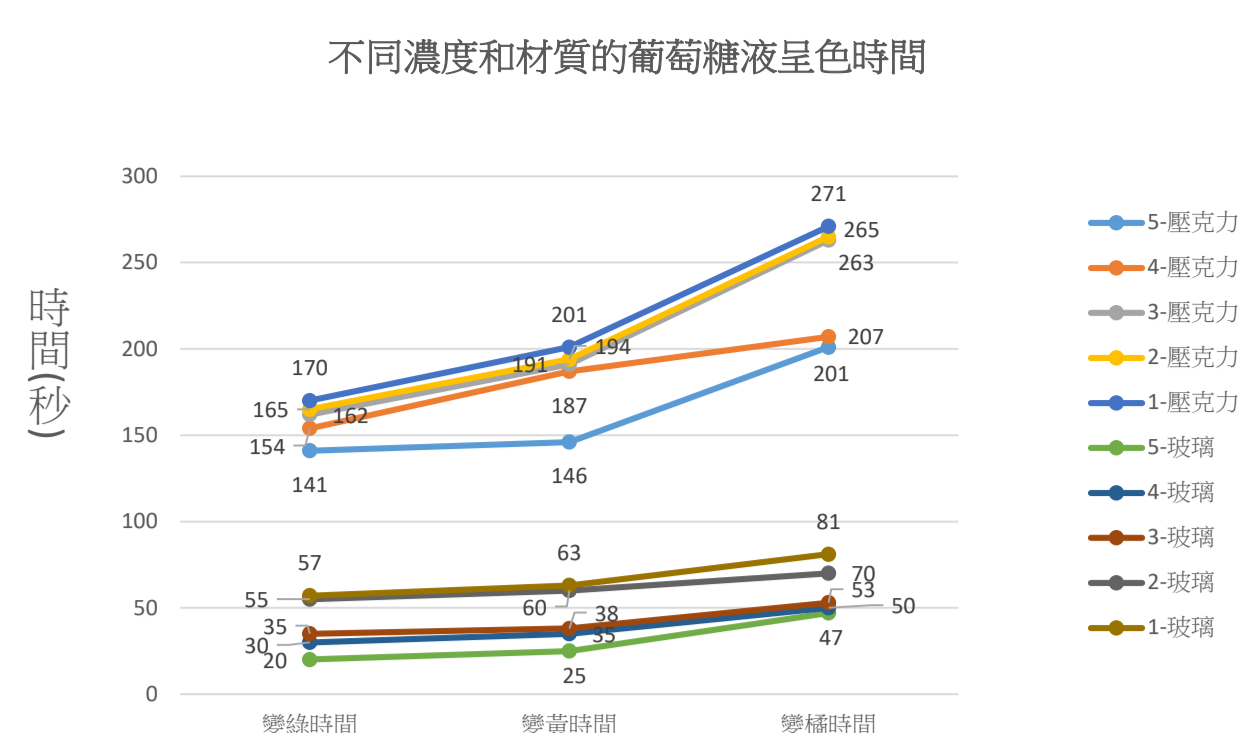
(表6)不同濃度澱粉液酵素分解後+本氏液成色後的吸光值

比色表一(各種濃度加熱3分鐘，顯微照相RGB及透光值總表)

葡萄糖液濃度	微觀(重複五次顯微拍攝圖)	11%	1%
20%		10%	0.9%
19%		9%	0.8%
18%		8%	0.7%
17%		7%	0.6%
16%		6%	0.5%
15%		5%	0.4%
14%		4%	0.3%
13%		3%	0.2%
12%		2%	0.1%

澱粉濃度	微觀
10%	
9%	
8%	
7%	
6%	
5%	
4%	
3%	
2%	
1%	

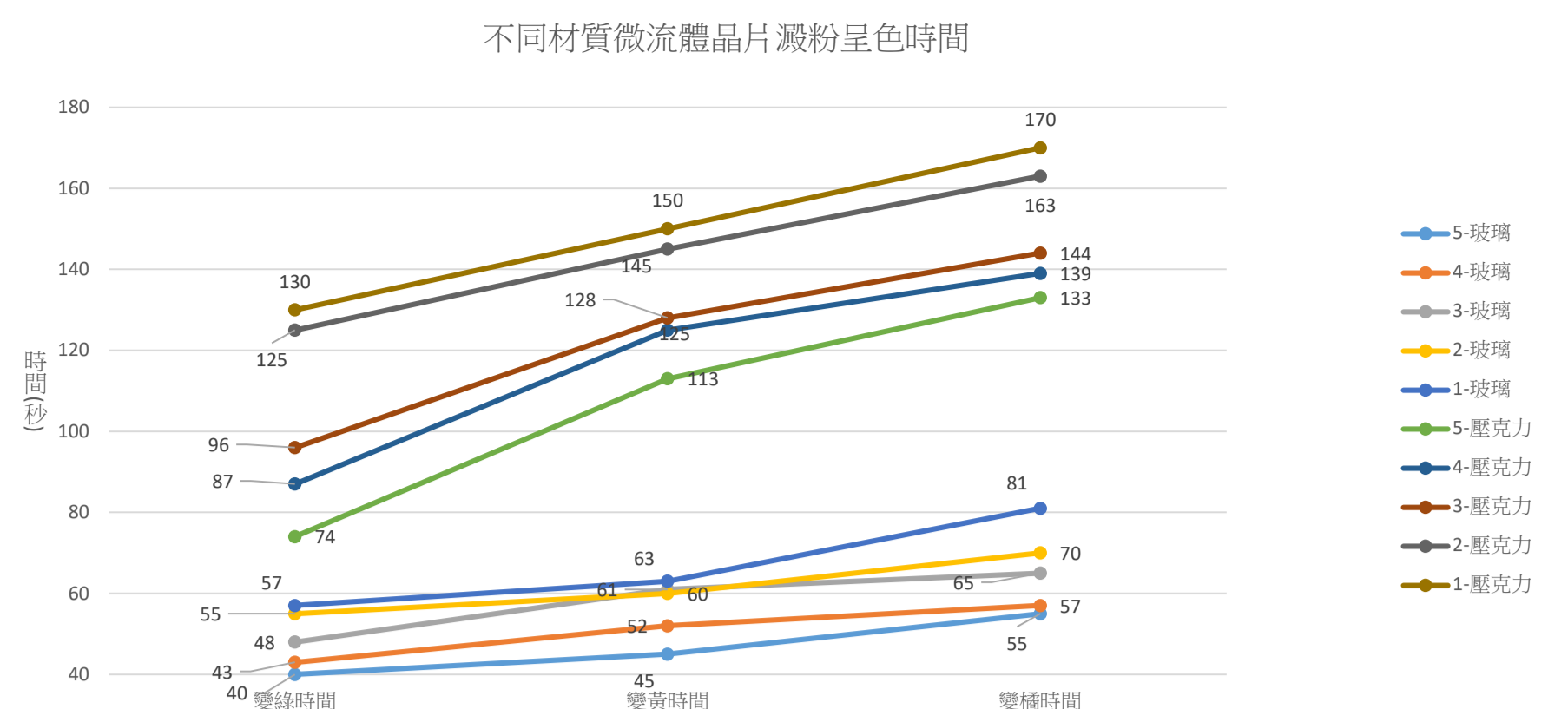
實驗三:不同濃度的葡萄糖液在不同材質微晶片的呈色時間



(表4)不同濃度和材質的葡萄糖液成色時間

葡萄糖液濃度	不同濃度葡萄糖液顯微照片RGB中的R平均	不同濃度葡萄糖液的透光值
20%	181	221
19%	179	220
18%	177	218
17%	176	213
16%	174	210
15%	174	209
14%	173	207
13%	173	205
12%	172	203
11%	170	202
10%	170	201
9%	169	199
8%	166	197
7%	165	195
6%	159	193
5%	154	192
4%	153	189
3%	150	187
2%	147	185
1%	147	182
0.9%	142	180
0.8%	132	176
0.7%	130	172
0.6%	129	168
0.5%	126	166
0.4%	125	161
0.3%	122	159
0.2%	122	157
0.1%	121	152

實驗六:不同濃度的澱粉液在不同材質微晶片的呈色時間

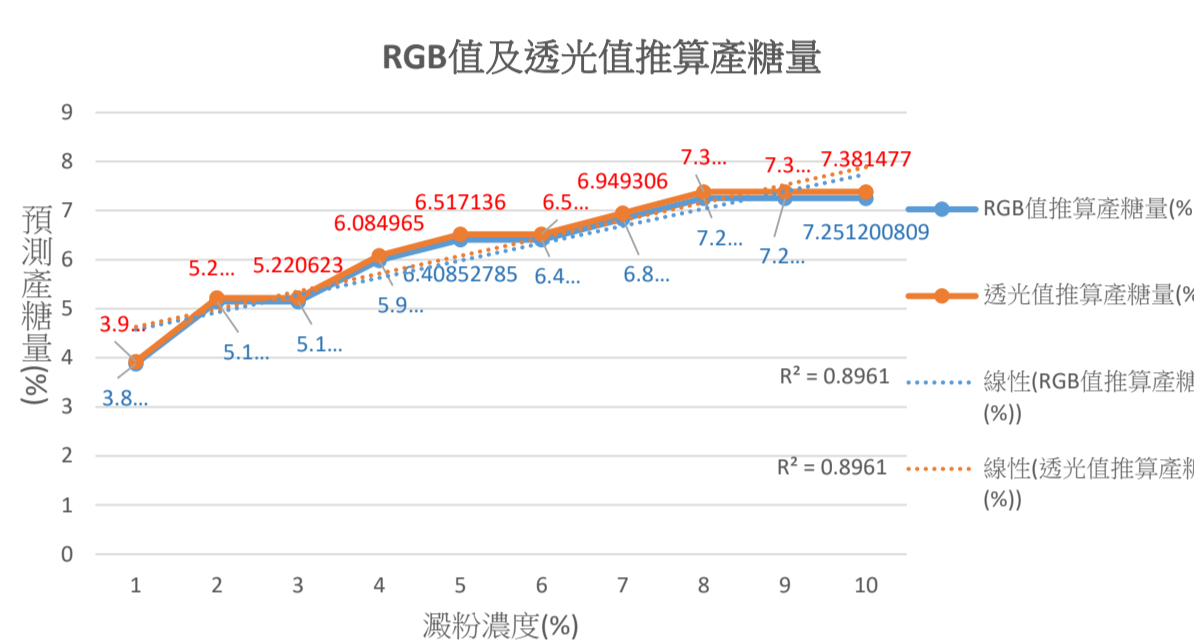


(表8)不同材質微流體晶片澱粉液的成色時間

澱粉濃度	顯微照片RGB中的R平均	推測產出的糖濃度(%) =(R-118.79)/2.3734	不同濃度的澱粉液的透光值	推測產出的糖濃度(%)=(R-225.08)/-2.3139
10%	136	7.251200809	208	7.381477
9%	136	7.251200809	208	7.381477
8%	135	7.251200809	208	7.381477
7%	134	6.82986433	209	6.949306
6%	134	6.40852785	210	6.517136
5%	133	6.40852785	210	6.517136
4%	131	5.987191371	211	6.084965
3%	131	5.144518412	213	5.220623
2%	128	5.144518412	213	5.220623
1%	127	3.880508974	216	3.924111

(表7)RGB值及透光值推算產糖表

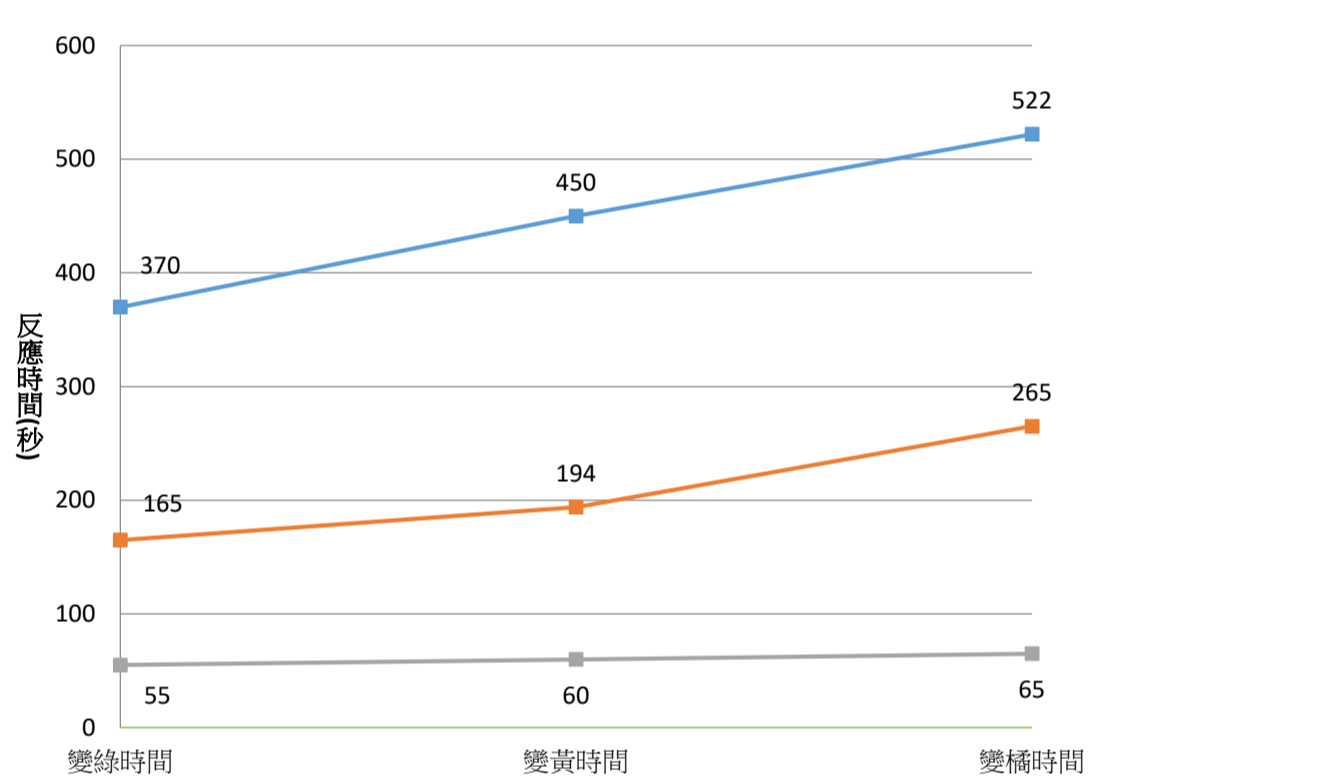
RGB值及透光值推算產糖量，我們拿推算出來的數值，使用excel繪製圖表，並計算出**相關係數=1**，可見用RGB值分析及透光值分析都能在這個實驗預估產糖量，兩者算出的數值相關度很高。



(表9)比較試管實驗跟微流體晶片的反應時間

使用**2%濃度的葡萄糖液**來比較兩種方式(試管反應、微流體晶片)的本氏液的呈色時間，發現不管是用玻璃跟壓克力當基材的微流體晶片，都比試管來的節省

用不同材質的微流體晶片和試管加入葡萄糖液2%的呈色時間比較表



陸、討論

- 一、由實驗三、可明顯看出玻璃材質的呈色時間較壓克力材質得快，但是否有缺點？雖然玻璃材質的呈色時間較壓克力材質得快，但因為不同性質會熱漲冷縮的原因，我們使用的膠無法讓此種複合材質使用很多次，所以除非找到更好的黏著方式，要不然還是選擇使用兩片壓克力所組成的微晶片。
- 二、使用微流體晶片的設計可以減少試劑的浪費?實驗上是可行的，在實驗一中，使用了兩種藥品，葡萄糖3μl跟本氏液3μl，比起使用試管一次須至少2~5ml差了將近一千倍的使用量，況且本氏液含銅離子是重金屬對環境也不友善。
- 三、使用微流體晶片可去除掉酒精燈隔水加熱的危險性，在國一實驗活動3-2裡，因本氏液反應需要加熱，所以常使用隔水加熱，此種加熱法麻煩，而且在實務操作上，容易發生危險性，我們的微流體晶片加熱時，直接放置在溫茶器的加熱板上，加熱迅速，也不容易造成危險。
- 四、微流體晶片是否可以定量?我們利用實驗一已知濃度的葡萄糖液跟本氏液反應，加熱三分鐘後，以顯微鏡拍攝後，以image J分析RGB值，匯入excel分析，可以得到濃度與RGB的R值平均關係，經由比對產物的RGB值R值平均就可以大約計算出最後所得的糖濃度，由我們實驗也可以藉由光通過溶液的透光值，匯入excel分析也可以經由比對透光值，推算產物濃度，兩者推算出的數值相關係數=1，使用這兩種方法都能預估出產糖量。
- 五、微流體晶片是否可以在一片微晶片設計多項實驗流程依序完成實驗?

從這個澱粉分解酵素的呈色實驗一共進行兩個步驟，第一步驟加澱粉液跟酵素混合反應二十分鐘，我們設計了微通道，只要向右傾斜**30度**就可以經微流體通道，流到酵素反應區，下一個步驟再加入本氏液，只要向下傾斜**30度**，經微流體通道又流入呈色觀察區，之後加熱觀察呈色，所以只要有良好的實驗流程規劃跟設計，是可以讓兩步驟的實驗在微流體晶片達成，驅動微流體晶片液體流動的方式很多，我們設計了最簡單用重力達成流動效果，若更複雜可能就需要用空氣擠壓之類的方式達成。

我們也試過同時在加入澱粉液、酵素及本氏液，只要向右傾斜**30度**反應**20分鐘**，向下傾斜**30度**加熱反應呈色即可，只要混合區的容積遠大於反應物的總和也不會有溢出的現象。

柒、結論

- 一、用微流體晶片可將原本需要**30分鐘**的加熱時間縮短至幾分鐘甚至幾秒。
- 二、晶片與玻片性質最好一樣，加熱時才不會因為熱脹冷縮的緣故而造成玻片與晶片分開的情形發生。
- 三、微流體晶片可以達到節省藥材減少污染的效果。
- 四、經由顯微照片分析RGB值及透光值，我們也可以用微流體晶片達成，計算反應物濃度的目的。
- 五、同一塊微流體晶片可以經由不同反應區跟微流體通道的設計、實驗區的配置，以及利用重力，達成多步驟實驗。

比較試管與微流體晶片的差別

	試管	微流體晶片
加熱時間	30分鐘	3分鐘
藥材總用量	30ml	6或9ul
清洗	需要試管刷，有銅沉澱不易刷洗	可用針筒加壓清洗，但銅沉澱也不易清洗
定量	無法定量觀察	可定量觀察分析
多程序實驗	需要人工添加	可預先加入，讓溶液沿通道流動即可

因為壓克力微流體晶片在製作上方便，只要繪圖再以雷射切割，可節省藥品使用量，並達到簡易觀察的效果，值得推廣。