

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國中組 生活與應用科學(一)科

探究精神獎

032808

「鮮」度之計在於「色」~牛肉吸光度及顏色檢測裝置研發

學校名稱：高雄市立明華國民中學

作者： 國二 溫岳鎡 國二 陳曦 國二 許筠婕	指導老師： 陳晏閔 王天佑
--	-----------------------------

關鍵詞：D1 mini 控制板、肌紅蛋白、吸光度

摘要

本研究藉由牛肉新鮮度下降會引起顏色變化的機制：肌紅蛋白莫耳吸光度波形在 527nm 處相交，其固定濃度下總吸光度為定值；在 572nm 處可測出總吸光度隨變性肌紅蛋白所佔總體比例的增加而下降，開發出檢測裝置作為鮮度計。以 D1 mini 整合 2 種單一波長 527nm，572nm LED 為光源，及 BH1750 光照度計量測入射光量和透射光量。並以 MicroSD 卡記憶模組紀錄，計算肌紅蛋白變化率 Mb%，來判定牛肉新鮮度。再改進光源為高亮度晶片型 LED，縮小體積和 TSL2561 光照度計模組，運用反射式的偵測不需破壞肉品，加入 OLED 顯示模組立即顯示計算結果，並由使用者按鈕主控檢測，改善使用者經驗。能有效協助消費者檢測出已超過保存期限牛肉而未敗壞者，可減少食物的浪費，並且可避免誤食敗壞的牛肉引發中毒損及健康。

壹、研究動機

曾經在新聞中得知全球每年生產的食物至少有三分之一遭浪費或未經食用而腐敗耗損，其造成大量的經濟損耗與環境危害等問題產生，其中蛋白質及肉品的保存更需要有良好的條件，這也是一般家庭皆需要電冰箱等冷藏設備的主因。但是冰箱不是萬能的，若是我們使用不當、未依規定存放，光憑肉品上標示的使用期限真的就能保證其新鮮程度嗎？另外於傳統市場取得的肉品又該以什麼為依據呢？我們認為如果能製作一台利用檢定肌紅蛋白吸光度及顏色變化用以判斷肉品是否腐敗的新鮮度檢測裝置，便能有效降低肉類食物浪費的問題。於是我們取用台灣常見的高單價肉類—「牛肉」作為樣品，來進行實驗及開發檢測裝置。

貳、研究目的

- 一、實地訪查零售超市確認開發牛肉鮮度計的需求，並觀察牛肉鮮度變化
- 二、評估量化牛肉氧化程度作為新鮮程度的指標的可行性：萃取牛肉肌紅蛋白，進行光譜測定及探討
- 三、探討可應用於開發檢測裝置開發之電子元件
- 四、自製牛肉吸光度檢測裝置~第 1 代透射式，並驗證
- 五、自製牛肉吸光度及顏色檢測裝置~第 2 代反射式，並驗證

[量測的原理依據]

一、量測原理：

藉由牛肉新鮮度下降會引起顏色變化的機制，是否可作為測量的依據呢？一般成牛的肌紅蛋白 (Myoglobin, 以下稱 Mb) 約佔肌肉組織的 0.8%，在後腿肉中肌紅蛋白較多約佔 1.2%、相對的在背脊肉中肌紅蛋白較少約佔 0.6%，而在處理良好的牛肉肌肉組織中肌紅蛋白約佔肌肉中總色素量的 80~90% (文獻一)。肌紅蛋白是由一個血基質 (Heme) 及一個分子量約 17kDa 的球蛋白所構成的小分子蛋白質 (圖 1)，主要可分成以下的 3 種化學狀態。位於血基質中的鐵離子是和氧氣的結合位置，正常情況下的鐵離子為 2 價，而與氧結合的肌紅蛋白 (Oxy-Mb) 會呈鮮紅色，無氧結合的肌紅蛋白 (Deoxy-Mb) 則呈紫紅色。若鐵離子由 2 價轉變為 3 價，則會失去氧合能力而呈暗棕色，此種狀態稱為變性肌紅蛋白 (Met-Mb) (文獻二)。

新鮮真空包裝的牛肉大多呈現紫紅色，就是因為脫氧肌紅蛋白 Deoxy-Mb 所佔比例較高。肉品去除真空包裝後脫氧肌紅蛋白便會與氧結合，肉品切面表層約 0~6mm 處氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 比例提高，牛肉就呈現鮮紅色 (圖 2)。存放很久時切面表層約 0~6mm 處由內而外肌紅蛋白逐漸失去電子使得氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 比例減少、變性肌紅蛋白 Met-Mb 比例提高，則此時牛肉呈現暗棕色。亦即三種肌紅蛋白依照新鮮程度及所呈現的顏色可分為：最新鮮的紫紅色的 Deoxy-Mb > 鮮度次之的鮮紅色的 Oxy-Mb > 最不新鮮的暗棕色的 Met-Mb。肉品保存條件影響期新鮮程度很大，經實地查訪零售超市店經理得知一般零售碎牛肉之真空包裝在 4°C 下冷藏可貯存 7~14 天，而透氣(保鮮膜)包裝效期則為 1 天；切割牛肉之真空包裝在 4°C 下冷藏可貯存 14 天，而透氣包裝的有效期限則為 4 天。在店內業者會有 SOP 管控存放條件，但商品到每位消費者手中就可能出現差異。藉由顏色的變化來辨別新鮮度雖有其依據，若僅憑消費者視覺感官及個人經驗評估必定會產生極大的差異，因此需使用儀器來測量及判定。

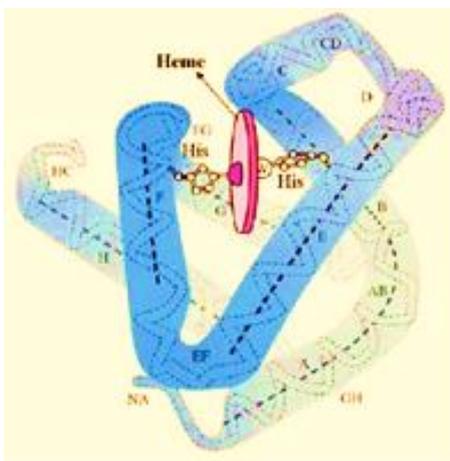


圖 1

肉塊上方為切面，會與空氣中的氧接觸

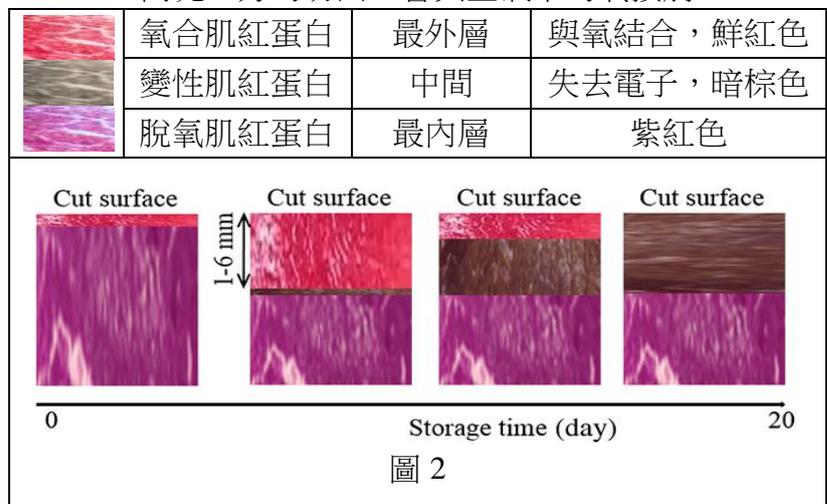


圖 2

二、量測依據：

基於肉類顏色變化的原理機制，我們希望可以通過因變性肌紅蛋白 Met-Mb 增加時所造成吸光度變化率的測量來量化新鮮度。從文獻三得到的三種類型肌紅蛋白莫耳吸光度光譜(圖3)。脫氧肌紅蛋白 Deoxy-Mb 主要的吸收峰在於 434、557nm。氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 主要的吸收峰在於 418、544、582nm。變性肌紅蛋白 Met-Mb 主要的吸收峰在於 410、405、634nm。其中三種類型的肌紅蛋白其莫耳吸光度波形在 527nm 處相交，在定量的肌紅蛋白總濃度下總吸光度為定值，不受個別濃度影響僅隨總濃度變化；另外在 572nm 處只有變性肌紅蛋白 Met-Mb 表現出低莫耳吸光度，脫氧肌紅蛋白 Deoxy-Mb 和氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 有相等且較高的莫耳吸光度，此時總吸光度會隨著變性肌紅蛋白 Met-Mb 所佔總體比例的增加而下降。

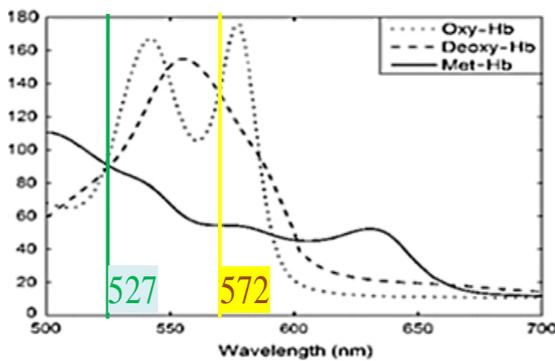


圖 3 莫耳吸光度光譜

$$A_{\lambda} = \log_{10} \left(\frac{E_i}{E_t} \right) = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

E_i ：入射光強度， E_t ：透射光強度， c ：莫耳濃度[$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
 ε ：莫耳吸光係數[$\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]， d ：樣品的厚度[cm]

圖 4 朗伯 - 貝爾定律

根據「朗伯-貝爾定律」(圖4)，當一束平行單色光垂直通過某一均勻非散射的吸光物質時，其吸光度 A_{λ} 與吸光物質的濃度 c 及吸收層厚度 d 成正比。在波長 527nm 時肌紅蛋白的總吸光度 $A_{527} = \varepsilon \cdot c \cdot d$ ，其中肌紅蛋白的莫耳吸光係數固定 $\varepsilon = k_{\varepsilon}$ ，肌紅蛋白總濃度固定 $c = k_c$ ，待測肉片厚度固定 $d = k_d$ 。在波長 572nm 時肌紅蛋白的總吸光度 $A_{572} = \varepsilon \cdot c \cdot d$ ，其中肌紅蛋白的總肌紅蛋白濃度固定 $c = k_c$ ，待測肉片厚度固定 $d = k_d$ 的吸光度變化，唯莫耳吸光係數隨著氧合肌紅蛋白轉換成變性肌紅蛋白的比例增加而改變 $\varepsilon \neq k$ 。若定義

$$\text{肌紅蛋白變化率 Mb\%} = \frac{A_{572}}{A_{527}} = \frac{\varepsilon \cdot k_c \cdot k_d}{k_{\varepsilon} \cdot k_c \cdot k_d} = \frac{\varepsilon}{k_{\varepsilon}} \times 100\%$$

我們便可經由兩個波長的吸光度比值 $\frac{A_{572}}{A_{527}}$ 計算相對應的肌紅蛋白變化率 Mb%。

一般的分光光度計主要以透射的方式來量測待測樣品的吸光度，因為待測樣品主要為透光度較高的溶液。從光源到光度感測器之間，在沒有樣品時或是在穿透樣品前所測得的為入射光量，而穿透樣品後所測得的為透射光量。

首先，我們選擇實驗器材為實驗室的分光光度計，來量測肌紅蛋白萃取液作為樣品對於三種化學狀態的肌紅蛋白的吸收光譜做初步的驗證。

接著，若要直接透射的方式檢測牛肉固態樣品的吸光度，我們可以設計自製分光光度計從控制光源強度，光徑長短，光度感測器選用和承裝肉片樣品的比色管形狀及大小，操作並調整彼此的搭配以取得穩定的數據。測得訊號若太微弱還可經由放大電路放大。由於牛肉顏色變化主要在肉品切面表層約 0~6mm 處，所切取牛肉檢測樣品也應控制其不可太厚，最好控制其厚度小於 12mm。讓入射光線能通過樣品取得適當的透射光強度變化量，如此才能計算吸光度的變化量並計算 Mb 變化率。

另外，由於牛肉顏色變化主要在肉品切面表層，若進一步直接採取反射的方式檢測牛肉固態樣品表面的反射光強度，便可經由修改過的「朗伯定律」(圖 5) 計算吸光度的變化量並計算肌紅蛋白變化率 Mb%。如此便可在不破壞食物原料的情況下完成檢測。

$$A_{\lambda} = \log_{10} \left(\frac{E_i}{E_i - E_r} \right)$$

E_i : 入射光強度, E_r : 反射光強度,

朗伯定律 (圖 5)

參、研究設備及器材

一、化學儀器及藥品：

(一) 電子秤 x1 (如圖)	(十一) 解剖刀/解剖剪刀
(二) 離心機 5000rpm x1 (如圖)	(十二) 培養皿
(三) 分光光度計 x1 (如圖)	(十三) 載玻片
(四) 離心管 許多	(十四) 秤量紙/濾紙
(五) 比色管 許多	(十五) 夾子
(六) 燒杯	(十六) 磷酸一鈉(緩衝溶液)
(七) 玻棒	(十七) 磷酸二鈉(緩衝溶液)
(八) 量筒	(十八) 氯化鎂(萃取用劑)
(九) 滴管	(十九) 赤血鹽(氧化劑)
(十) 試管/試管架	(二十) 低亞硫酸鈉(還原劑)



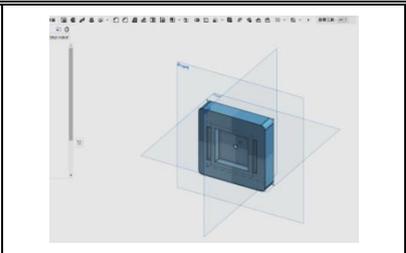
二、電子零件材料：

(一) D1-mini 開發版 x2	(十一) 單波長 LED 572nm 3mm x5
(二) MicroSD 卡記憶模組 x1	(十二) 單波長 LED 527nm 3mm x5
(三) 64x48_OLED 顯示模組 x1	(十三) 單波長 LED 572nm SMD x5
(四) BH1750 光照度計模組 x1	(十四) 單波長 LED 527nm SMD x5
(五) TSL2561 光照度計模組 x1	(十五) 常用電阻組合版 x1
(六) TCS34725 RGB 顏色模組 x1	(十六) 按鈕開關 x5
(七) 鋰聚合物電池 3.7v 850mAh x1	(十七) 排針/排針座 許多
(八) 14500 鋰聚合物電池 3.7v 650mAh x1	(十八) 杜邦線 許多
(九) 單節鋰電池 5V 充/放/升壓模組 x1	(十九) 麵包版 x5
(十) MicroUSB 無殼公插頭 x1	(二十) PCB 洞洞板 x4

三、各式手工具

(一) 電烙鐵	(十) 三用電表
(二) 吸錫器	(十一) 筆電
(三) 焊錫	(十二) Android 手機
(四) 單心線/多心線 許多	(十三) 電鑽
(五) 尖嘴鉗	(十四) 鑽頭組
(六) 斜口鉗	(十五) 螺絲起子組
(七) 線鋸/鋼鋸	(十六) 砂紙
(八) 金工銼刀	(十七) 瞬間膠(膏狀)
(九) 美工刀	

四、開發環境及軟體

		
FlagsBlock 開發環境	Arduino 開發環境	OnShape 3D 建模程式

肆、研究流程及結果

- 一、實地訪查零售超市收集牛肉配送、有效期限、即期品、過期品物流現況資訊；並買回牛肉依不同保存條件觀察肉品外觀新鮮度的變化。

(一) 訪查結果：

實地訪查零售超市店經理得知一般零售碎牛肉之真空包裝在 4°C 下冷藏可貯存 7~14 天，而透氣(保鮮膜)包裝效期則為 1 天；切塊牛肉之真空包裝在 4°C 下冷藏可貯存 14 天

之久，而透氣包裝效期則為 4 天。在店內業者會有 SOP 管控存放條件，但商品到每位消費者手中就可能出現差異。訪談到幾個肉類食品可能造成浪費的相關問題暨回答如下：

1. Q：肉品的屠宰流程為何，有效日期如何訂定？

A：肉品供應商切割分裝成零售包裝時便打上有效日期，非零售商自訂。

2. Q：即期品包裝上會分別有「6 折」及「8 折」優惠，如何判定新鮮度？

A：新鮮度以有效日期判定，主要會依照存貨多寡決定促銷折扣。

3. Q：可否取得過期肉品作為研究之用？

A：過期肉品公司有一定的銷毀或回收的標準流程，不得外流。

4. Q：若欲購買最新鮮的肉品不知何時進貨？

A：通常每天早上都會有最新鮮的肉品進貨，並且依規公司定上架。

5. Q：店內肉類商品銷量如何？

A：以豬、雞、魚為最大宗，牛肉最少，但是各分店所在社區狀態不同會有差異。

6. Q：上架的肉品有沒有特定的方法保鮮？

A：國家規定冷藏的溫度為 7 度 C，但是公司規定肉品的冷藏架位以 2 度 C 做設定。

如圖：



(二) 結果分析與討論：

零售商都有其進銷存肉品的 SOP，所以食物保存工作最弱的一環常在消費者身上。假若我們能開發一台專門給消費者使用的肉品鮮度計，就能協助檢測出雖然已超過保存期限食物並未敗壞，在還可食用的情況下盡速食用減少食物的浪費，並且可避免誤食敗壞的肉品引發中毒損及健康。

(三) 取得實驗用肉品予以分裝，依照冷藏、常溫等不同存放條件進行觀察記錄。



(四) 實驗結果：

存放時間	冰箱冷藏(4°C)存放	室內常溫(23°C)存放
1 天	鮮紅色	不均勻的棕色
3 天	紅棕色	大部分棕色，有異味
7 天	不均勻的棕色，有異味	暗棕色，有臭味，有黏液
14 天	暗棕色，有臭味，有黏液	<已經丟棄處理>

(五) 分析與討論：

1. 為了接近居家正常存放狀態觀察，分裝後尚且覆蓋保鮮膜，減少細菌汙染。
2. 室溫擺放第 1 天過後，顏色就有明顯變化，有不新鮮的棕色外觀。
3. 因為購得的肉品是有效日期前 2 天，經冷藏存放 3 天過後，已經超過包裝所示保存期限，但肉品外觀顏色及氣味還在正常狀態。
4. 肉品產生黏液應當是在分裝時遭受細菌汙染，常溫存放的部分肉片快速敗壞，相對的 4°C 冷藏存放的肉品能有效減緩細菌增生，減緩腐敗。
5. 在實驗室並無冷凍設備，若經由冷凍保存可以有更長的效期。但後續實驗若經由冷凍再解凍恐怕會造成控制變因的困難度提升。故決議後續實驗均以冷藏肉作為實驗樣品。

二、評估量化牛肉氧化程度作為新鮮程度的指標的可行性：

萃取牛肉肌紅蛋白，進行光譜測定及探討

(一) 實驗方法：

透過文獻得知硫酸銨的萃取效果最佳，但近年硫酸銨列為管制藥品無法取得。本實驗遂以氯化鎂水溶液作為萃取液，以下是實驗步驟：

1. 磷酸緩衝溶液製備：配製 pH 7.4 磷酸緩衝溶液備用
取 4.14 g 磷酸一鈉($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 及 16.78 g 磷酸二鈉($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 加入 489.08 g 的去離子水中，配製備用。
2. 萃取液/氯化鎂水溶液製備：配製飽和度 60% 氯化鎂水溶液備用
飽和度 60% 氯化鎂水溶液(由文獻二得知 60% 萃取效果最佳)，配製 100ml 備用。
3. 赤血鹽溶液(氧化劑)製備：配製重量百分濃度為 2% 備用
取 0.4g 赤血鹽 ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) 加入 19.6 g 去離子水中，配製 20g 備用。
4. 量秤低亞硫酸鈉固體(還原劑)備用：秤量低亞硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) 0.5g 共 3 份備用。
5. 變性 Met-Mb 製備：
 - (1). 將 2g 鮮紅色牛肉切成薄片泡入 2% ， 30ml 赤血鹽溶液(氧化劑)，持續搖晃 2 分鐘後

取出瀝乾(以濾紙吸乾多餘液體)，靜置備用。

- (2). 取 15ml 離心管一支，加入上一步驟備用牛肉，加 2ml 磷酸緩衝溶液，備用。
- (3). 加入飽和度 60% 氯化鎂水溶液 6ml，手持搖晃兩分鐘充分混合。
- (4). 放入離心機以 5000rpm，運轉 15 分鐘。
- (5). 取出上清液，放入比色管備用。

6. 脫氧 Deoxy-Mb 製備：

- (1). 取 15ml 離心管一隻，加入 2g 鮮紅色牛肉，加入 2ml 磷酸緩衝溶液，備用。
- (2). 加入 0.5g 低亞硫酸鈉固體(還原劑)，持續搖晃 2 分鐘後備用，期間避免接觸空氣。
- (3). 加入飽和度 60% 氯化鎂水溶液 6ml，手持搖晃兩分鐘充分混合。
- (4). 放入離心機以 5000rpm，運轉 15 分鐘。
- (5). 取出上清液，放入比色管備用。

7. 氧合 Oxy-Mb 製備：

- (1). 取 15ml 離心管一隻，加 2g 鮮紅色牛肉，加入 2ml 磷酸緩衝溶液，備用。
- (2). 加入飽和度 60% 氯化鎂水溶液 6ml，手持搖晃兩分鐘充分混合。
- (3). 放入離心機以 5000rpm，運轉 15 分鐘。
- (4). 取出上清液，放入比色管備用。

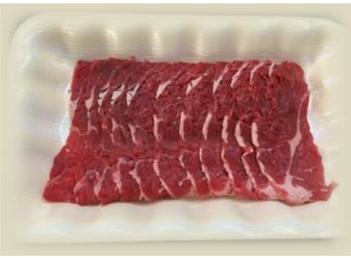
8. 空白組製備

- (1). 取 2ml 赤血鹽溶液(氧化劑)，加入 2ml 磷酸緩衝溶液，加入飽和度 60% 氯化鎂水溶液 6ml，放入比色管備用。(作為變性 Met-Mb 空白組)
- (2). 取低亞硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) 0.5g，加入 2ml 磷酸緩衝溶液，加入飽和度 60% 氯化鎂水溶液 6ml，攪拌溶解後放入比色管備用。(作為脫氧 Deoxy-Mb 空白組)
- (3). 取 2ml 磷酸緩衝溶液，加入飽和度 60% 氯化鎂水溶液 6ml，放入比色管備用。
(作為氧合 Oxy-Mb 空白組)

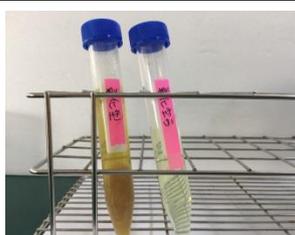
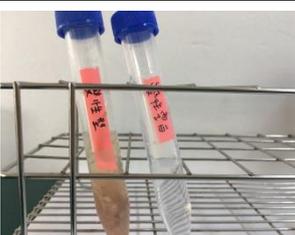
9. 各類肌紅蛋白之萃取後，進行光譜測定，並比較其吸收峰。

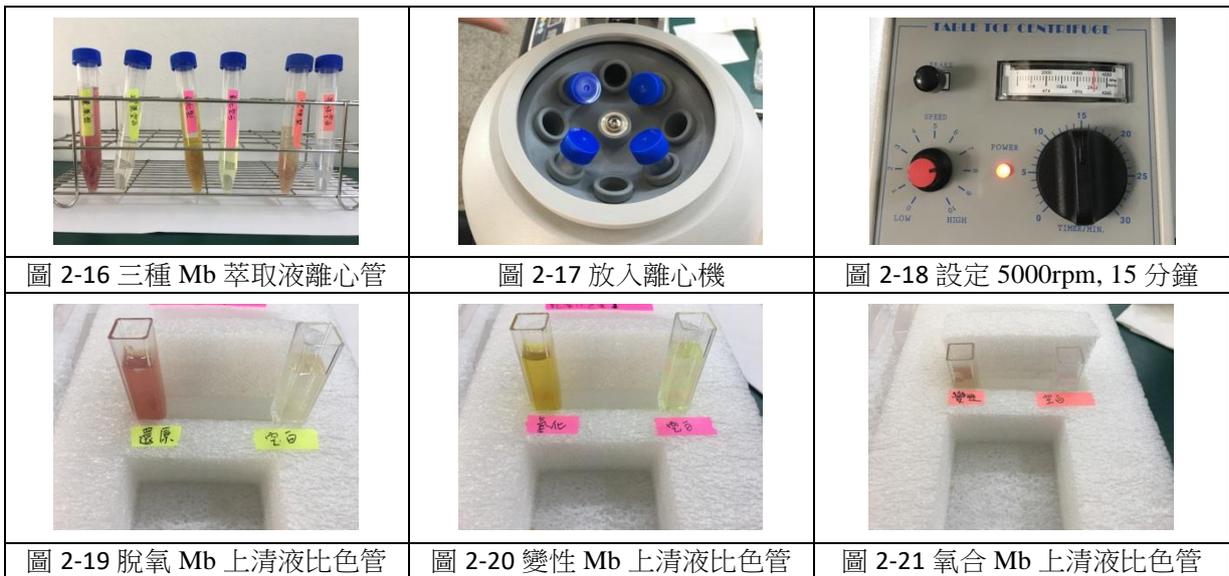
(二) 實驗照片：

1. 自超市購得新鮮牛肉梅花肉片作為實驗材料。

		
圖 2-1 肉品架位	圖 2-2 實驗材料	圖 2-3 肉品切分

2. 實驗步驟對應實際操作照片：

		
圖 2-4 秤量 1.7g 氯化鎂	圖 2-5 秤量 0.4g 赤血鹽	圖 2-6 秤量 0.5g 低亞硫酸鈉
		
圖 2-7 磷酸緩衝溶液	圖 2-8 氯化鎂水溶液	圖 2-9 低亞硫酸鈉水溶液
		
圖 2-10 鮮紅色牛肉 2g x 3 份	圖 2-11 赤血鹽溶液 2% , 30ml	圖 2-12 取出瀝乾(以濾紙吸乾)
		
圖 2-13 脫氧 Deoxy-Mb 製備	圖 2-14 變性 Met-Mb 製備	圖 2-15 氧合 Oxy-Mb 製備



(三) 實驗數據與結果：

我們以 3 種肌紅蛋白打完分光光度計，將所得的不同波長光線吸光度光譜分開呈現。

1. 脫氧肌紅蛋白 Deoxy-Mb 主要的吸收峰在於 434nm、557nm。434nm 的吸收峰明顯出現，吸光度大約 2.5。另外 557nm 的吸收峰則不明顯，吸光度大約 0.6。(圖 2-22)
2. 變性肌紅蛋白 Met-Mb 主要的吸收峰在於 410nm、405nm、634nm。410nm 的吸收峰明顯出現吸光度大約 1.5。405nm、634nm 的吸收峰並無出現。(圖 2-23)
3. 氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 主要的吸收峰在於 418nm、544nm、582nm。418nm 的吸收峰明顯出現吸光度大約 2.12。544nm 的吸收峰約略出現吸光度大約 0.36。582nm 的吸收峰約略出現吸光度大約 0.28。(圖 2-24)
4. 雖然三種肌紅蛋白濃度未能一致，但是整合於同一張折線圖一起觀察，更能看出不同化學狀態的肌紅蛋白其吸收峰的相對位置。(圖 2-25)

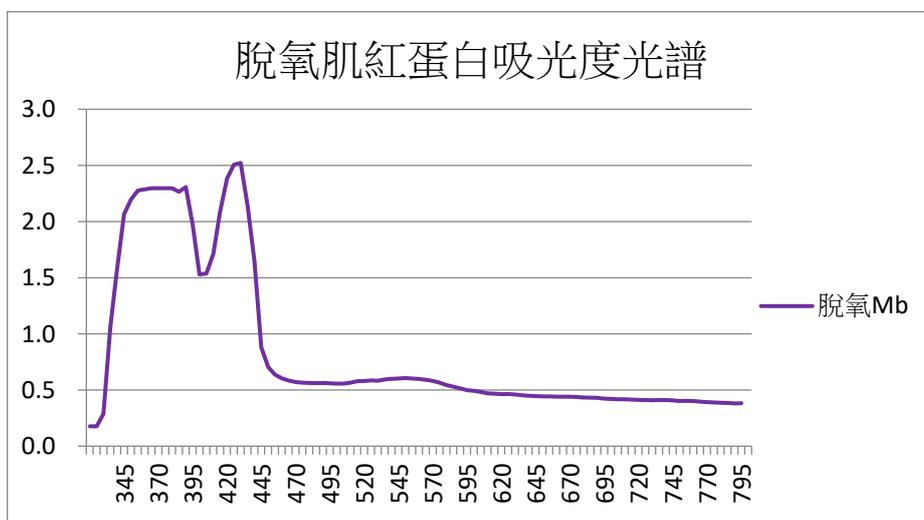


圖 2-22

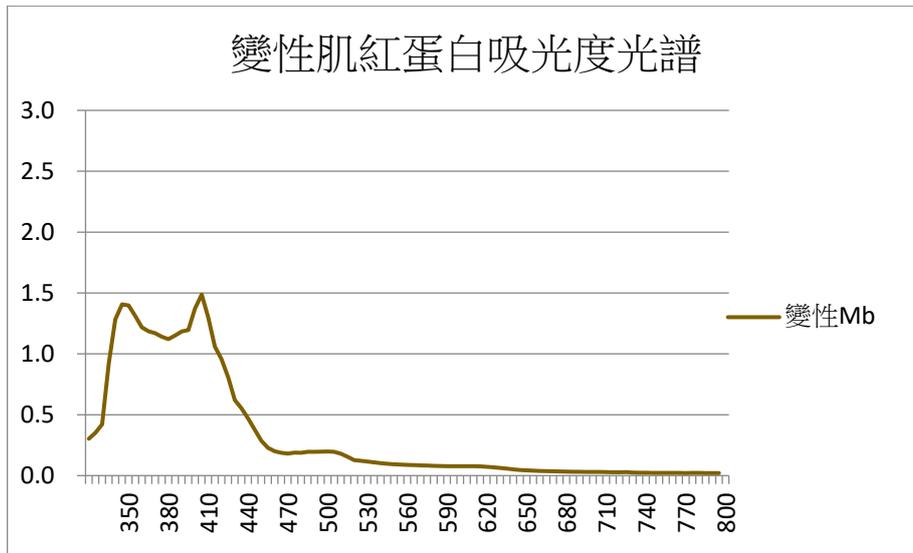


圖 2-23

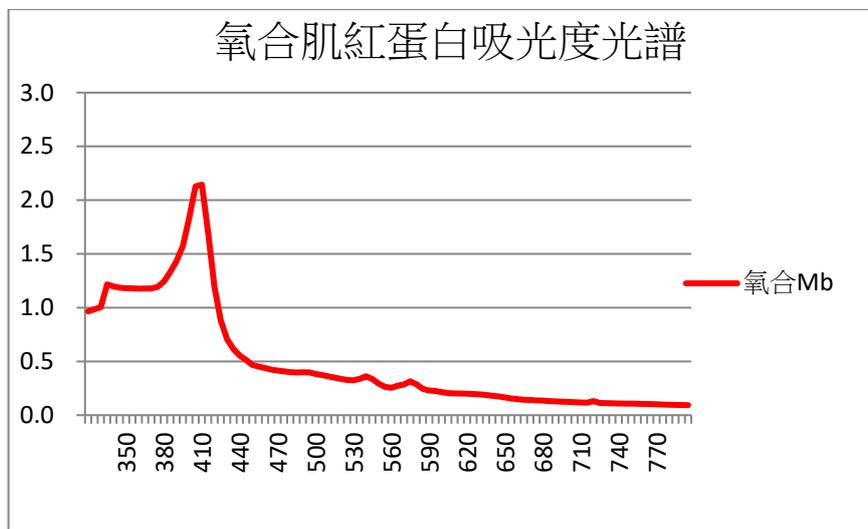


圖 2-24

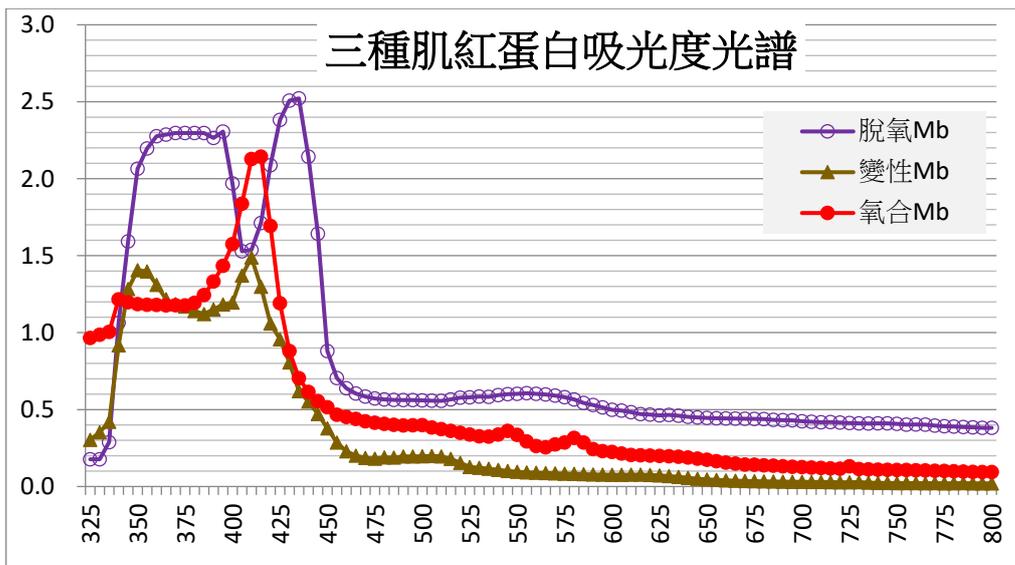


圖 2-25

(四) 分析與討論：

1. 學校實驗設備分光光度計需以手動設定各個波長耗時費力，也增加了光吸收度隨時間變

化的機會，造成光譜不易準確呈現。

2. 實驗中我們可以找到 3 類肌紅蛋白主要的吸收峰，但是由於未能控制等濃度，雖然放在同一張折線圖中一起觀察，也僅能比較吸收峰位置。
3. 由於萃取出各類肌紅蛋白的濃度不同，無法觀察出像文獻莫耳吸收度光譜所指波形交會處。因此我們還是依據文獻所得光譜做出假設，並發揮嘗試錯誤的精神，從錯誤中修正來達到目標。(圖 2-25)
4. 文獻中三種類型肌紅蛋白莫耳吸光度光譜其中，吸光度波形在 527nm 處相交。

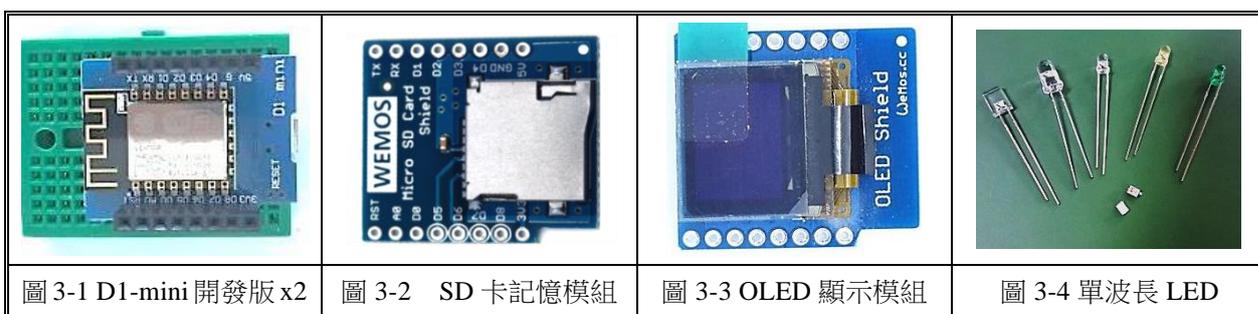
於是定義肌紅蛋白變化率 $Mb\% = \frac{A_{572}}{A_{527}} = \frac{\epsilon \cdot k_c \cdot k_d}{k_\epsilon \cdot k_c \cdot k_d} = \frac{\epsilon}{k_\epsilon} \times 100\%$ ，我們便可經由兩個波長的吸光度比值 $\frac{A_{572}}{A_{527}}$ 計算相對應的肌紅蛋白變化率 $Mb\%$ ，來判定牛肉新鮮度。

三、探討可應用於開發檢測裝置開發之電子元件

(一) 可應用於本研究之電子元件簡介：

1. D1 mini 開發版 (圖 3-1)

D1 mini 已將 ESP-12S 晶片腳位都拉出，可當作一塊具有 WiFi 功能的 Arduino，可使用 ESP8266 等相關函式庫及透過 Arduino IDE 開發，體積小巧方便，對於新手而言是一個好的選擇。有 11 個 I/O 腳位，1 個 ADC 腳位 (可輸入 0-3.3V)，支援 OTA 上傳。並且有多種擴充板可使用，如：電源擴充板，SD 記憶卡擴充板，OLED 顯示模組擴充板，擴充板之間相同腳位直接對接相當方便。



2. MicroSD 卡記憶模組 (圖 3-2)

Micro SD 卡讀寫模組，通過檔案系統及標準 SPI 介面驅動程式，可完成 MicroSD 卡的檔案讀寫。直接使用 Arduino IDE 自帶的 SD 卡程式庫即可完成卡的初始化和讀寫。其支持 Micro SD 卡、Micro SDHC 卡 (高速卡)，有板載電位準轉換電路，即介面電位準可為 DC5V 或 DC3.3V。供電電源為 5V，有板載 3.3V 穩壓電路。共有 6 個接腳：GND 為接地，Vcc 為電源，MISO、MOSI、SCK 為 SPI 匯流排，CS 為片選信號腳。Micro SD 卡座是自彈式卡座，方便卡的插拔。

3. 64x48_OLED 顯示模組 (圖 3-3)

與 D1 mini 搭配的 OLED 顯示模組擴展板，螢幕的像素尺寸為寬 64x高 48(橫向 0.66 吋)。工作電壓為 DC3.3V，驅動 IC 為 SSD1306。使用 I2C 介面，選用地址為 0x3C 或 0x3D，是一個方便使用的模組。

4. 單波長 LED (圖 3-4)

單波長 LED 可以讓消費者挑選指定的波長，更有高亮度的產品，用於選用特定的顏色或者供作替代光學的分光分色模組。單波長 LED 還有不同的形式大小可供挑選，常見的直徑 5mm、3mm 或方形、晶片型，以符合各式消費電子產品設計上的需求。此次的研究所需的 527nm 和 527nm 兩種波長皆是有生產販售的元件，如此便可和光照度模組配合作為測定的光源，一般皆可找到商家直接網路上訂購。

5. BH1750 (GY-302) 光照度模組 (圖 3-5)

BH1750 (GY-302)光照度感測器模組是一款方便使用的光照度計模組，其測得照度感應電壓可由感測器內置 16bit，AD 轉換器直接數位輸出，省略複雜的計算，其感測晶片是光學半導體製造商 ROHM 原裝的 BH1750FVI 晶片，使用電源可以是 D1 mini 的 DC3.3V 或 Arduino 的 DC5V，很好搭配。感測範圍為 0 ~ 65535 Lux。不區分環境光源、接近於視覺靈敏度的分光特性，可對廣泛的亮度進行 1 Lux 的高精度測定。具有低電流斷電保護且受到紅外線影響非常小。其大小為 13.9mm * 18.5mm 十分精巧方便。我們此次的研究便選用 BH1750 光照度模組作為測量入射光強度和透射光強度的接收端。



6. TSL2561 光照度計模組 (圖 3-6)

和 BH1750 光照度感測器模組一樣也是一款方便使用的光照度計模組。TSL2561 將可見光和紅外線分開偵測，並且自動排除 50/60Hz 可見光漣波偵測，其感測晶片同樣是光學半導體製造商 ROHM 原裝的 BH1750FVI 晶片。工作電壓：3.3V，使用 I2C 介面方便串接其他 I2C 模組。內置 16bit，AD 轉換器直接數位輸出。光照度範圍為 0 ~ 65535 Lux，直接數字回傳，省略複雜的計算，省略標定。不區分環境光源，接近於視覺靈敏度的分光特性，可對廣泛的亮度進行 1 Lux 的高精度測定。因為其可自動排除 50/60Hz 可見光漣波偵測，可減少因為室內照明的環境光線多少都受台電 60Hz 交流電源影響。

7. TCS34725 RGB 顏色模組 (圖 3-7)

TCS34725 RGB 顏色感測器具有 R、G、B 三色濾片和透明感光元件集成在晶片上，提供有紅、綠、藍(R、G、B) 以及白色光感應的數字返回值。因為人類看不到紅外線，內建有紅外線阻擋濾波器，使入射的紅外線光譜分量最小化，並允許準確進行顏色測量，這樣所得的顏色更接近人類肉眼的所見。此顏色模組還具有 3,800,000：1 動態範圍，可調整的集成時間和增益，如此在顏色的判別會更準確。

8. 單節鋰電池 5V 充/放/升壓模組及鋰聚合物電池 3.7v 850mAh (圖 3-8)

鋰電池充電板為 1A 鋰電池充電與保護一體板，充電加保護二合一，輸入端有 miniUSB 母座，輸入電壓 5V，可以直接用手機充電器給鋰電池充電，非常方便。其過放保護電壓 2.5V，過流保護電流 3A，可應用於電壓為 3.7V，18650 鋰聚合物電池的充放電保護。



(二) 分析與討論

1. 若以 D1 mini 開發版整合，以波長 527nm 和波長 572nm 單一波長 LED 為光源，BH1750 光照度感測器模組為光的接收器量測入射光量和透射光量，並以 MicroSD 卡記憶模組紀錄，可以得到初步的數據用以計算經由兩個波長的吸光度比值 $\frac{A_{572}}{A_{527}}$ 計算相對應的肌紅蛋白變化率 Mb%，來判定牛肉新鮮度。
2. 若以 D1 mini 開發版整合，改進光源強度為高亮度晶片型 LED，不但可以縮小體積更可能和 TSL2561 光照度計模組整合在一起，在整合 64x48_OLED 顯示模組，可立即將計算所得的吸光度變化，對應資料庫中的相對位置而判定新鮮度，並於顯示模組顯示結果。加入檢測控制開關，交由使用者主控檢測改善使用者經驗。最後 TCS34725 RGB 顏色感測器，可用於協助限縮顏色範圍於正常的肉品顏色，亦或顏色進入到腐敗肉品的顏色範圍，當作第二個判斷新鮮度的參數。
3. 電源供應的改善方面，若以方便充電的鋰聚合物電池為首選目標，考慮要符合立即回饋又要方便操作，必須要使用體積較小的電池搭配充電加保護二合一的電路板以延長

使用壽命。

四、自製牛肉吸光度檢測裝置~第 1 代透射式，並驗證

我們設計利用 D1mini 製造體積小功能強大的檢測裝置，首先需要有兩種特定波長的 LED 作為我們的光源。並以便宜的 BH1750 作為光照度感測器，以固態的牛肉薄片做為我們檢測的目標，開發期間我們先利用樂高積木建立模型。大約 1 秒可以做一組黃光和綠光照度的檢測。初期我們希望收集大量的資料來研究所以加入了記憶卡模組用以儲存檢測數據以作統計分析之用。

(一) 硬體電路：D1-mini 與 LED 光源(527nm，572nm)及光度感測器連接電路(圖 4a)。

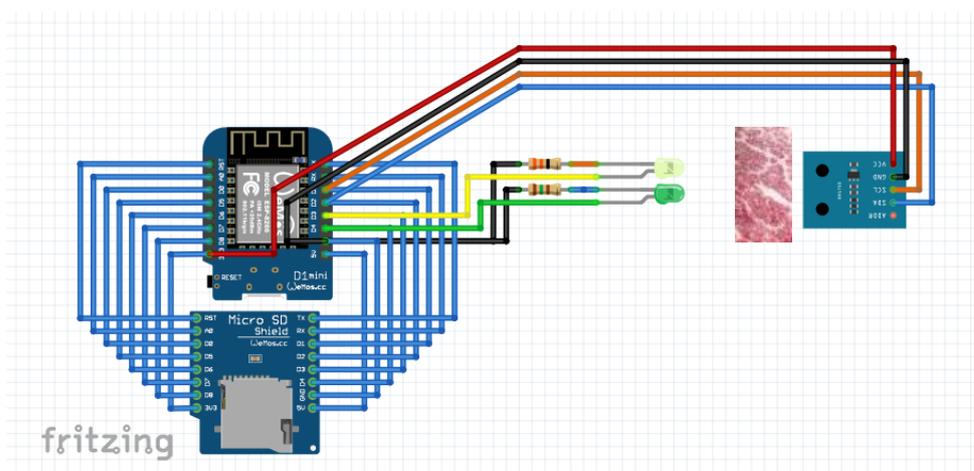
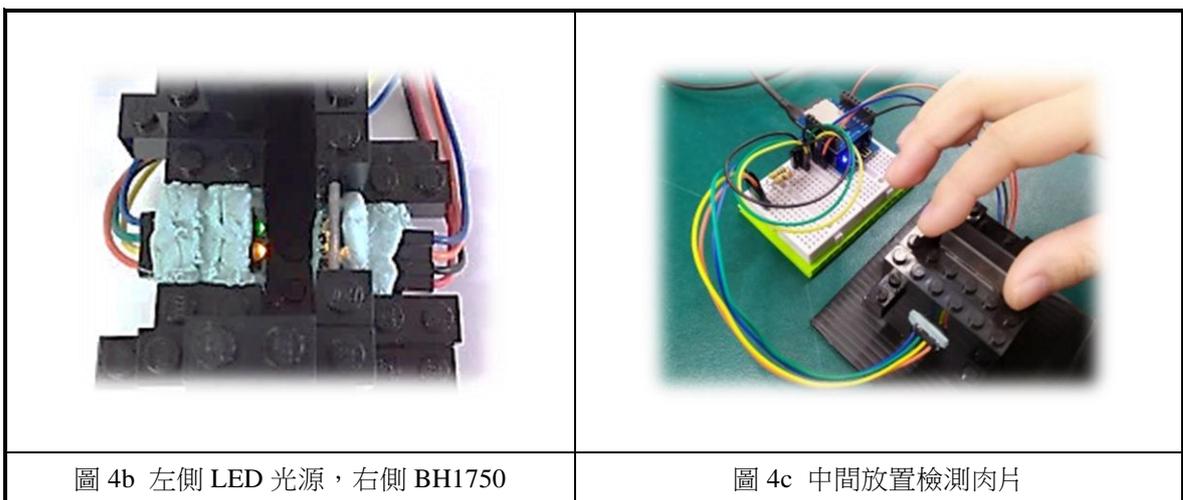


圖 4a

(二) 裝置照片：



(三) 軟體部分：第 1 代透射式 D1-mini 程式碼 (含註解說明)

```
1 // Flag's Block 產生的草稿碼
2 #include <Wire.h> // I2C for BH1750
3 #include <BH1750.h>
4 #include <SPI.h> // SPI for SD
5 #include <SD.h>
6
7 // <BH1750光照度計模組硬體接線 w/I2C>
8 // WeMos data line SDA -> D2 (P4)
9 // WeMos clock line SCL -> D1 (P5)
10 // Address ADD -> (not connected)
11 // VCC -> 3V3, GND -> GND
12 // 啟用光照度計
13 BH1750 lightMeter;
14
15 // Y_LED572: D3 (P0), G_LED527: D4 (P2)
16 const int Y_LED572 = 0; // 硬體配置 Y_LED572 接腳
17 const int G_LED527 = 2; // 硬體配置 G_LED527 接腳
18 // ReadBTN -> D0 (P16)
19 const int ReadBTN = 16; // 硬體設定_BTN_接腳
20 bool reading_fg = 1; // 是否讀值旗標
21
22 // <SD卡模組硬體接線 w/SPI>
23 // WeMos Micro SD Shield V1.0.0 CS -> D8 (P15)
24 // SCK -> D5 (P14), MOSI -> D7 (P13), MISO -> D6 (P12)
25 const int ChipSelect = 15; // 硬體設定_CS_接腳
26
27
28 // setup() 會先被執行且只會執行一次
29 void setup()
30 {
31     Wire.begin(); // 啟用I2C
32     Serial.begin(9600); // 啟用序列埠介面, 並由序列埠視窗監督數據
33
34     lightMeter.begin(); // 啟用光照度計
35     pinMode(Y_LED572, OUTPUT); // 硬體設定 Y_LED572 輸出接腳
36     pinMode(G_LED527, OUTPUT); // 硬體設定 G_LED527 輸出接腳
37     digitalWrite(Y_LED572, LOW); // Y_LED572初始狀態熄滅
38     digitalWrite(G_LED527, LOW); // G_LED527初始狀態熄滅
39     pinMode(ReadBTN, INPUT); // 硬體設定 ReadBTN 輸入接腳
40
41     Serial.print("SD卡初始化中...");
42     if (!SD.begin(ChipSelect)) { // 啟用SD卡
43         Serial.println("SD卡失效, 或不在");
44         return; // 暫停所有工作
45     }
46     Serial.println("SD卡初始化成功");
47 }
48
```

```

49 void loop() // loop() 裡面的程式會不斷重複執行
50 {
51   String dataString = ""; // 設定光照度儲存字串初值
52   // <檢查是否按下讀值按鈕>
53   if( digitalRead(ReadBTN) == LOW ) { // 當按下按鈕
54     delay( 60 ); // 等待 60ms 防彈跳, 再確認
55     if( digitalRead(ReadBTN) == LOW ) {
56       reading_fg = 1; // fg=1, 啟動讀值
57       dataString += "RB:";
58       Serial.println("ReadBTN Pressed");
59     } else {
60       reading_fg = 0; // fg=0, 停止讀值
61     }
62   }
63   // 讀值旗標同時傳送序列埠視窗
64   // Serial.print("fg= "); Serial.println(reading_fg);
65   if( reading_fg == 1 ) // <讀取BH1750光照度值>
66   {
67     uint16_t lux = 0;
68     // 波長572nm LED點亮, 讀取BH1750光照度值-----
69     digitalWrite(Y_LED572, HIGH); // 點亮波長572nm LED
70     delay(250);
71     lux = lightMeter.readLightLevel(); // 讀取BH1750光照度值
72     delay(750);
73     digitalWrite(Y_LED572, LOW); // 熄滅波長572nm LED
74     // 更新波長572nm光照度至儲存字串
75     dataString += String(lux);dataString += " ";
76     // 讀值同步傳送序列埠視窗
77     // 波長527nm LED點亮, 讀取BH1750光照度值-----
78     digitalWrite(G_LED527, HIGH); // 點亮波長527nm LED
79     delay(250);
80     lux = lightMeter.readLightLevel(); // 讀取BH1750光照度值
81     delay(750);
82     digitalWrite(G_LED527, LOW); // 熄滅波長527nm LED
83     // 更新波長527nm光照度至儲存字串
84     dataString += String(lux);
85     // 讀值同步傳送序列埠視窗
86     // Serial.print("G= "); Serial.print(lux); Serial.println(" lx");
87     // <儲存至SD卡>-----
88     // 開啟記錄檔 datalog1.txt
89     File dataFile = SD.open("datalog1.txt", FILE_WRITE);
90     if (dataFile) { // 若記錄檔已開啟, 則寫入, 後關檔
91       dataFile.println(dataString);
92       dataFile.close();
93       // SD卡存入情況同時傳送序列埠視窗
94       Serial.print("存入SD卡>Y,G="); Serial.println(dataString);
95     }
96     else { // 若檔案無法開啟, 則顯示錯誤訊息
97       Serial.println("無法開啟datalog1.txt記錄檔");
98     }
99   }
100 }

```

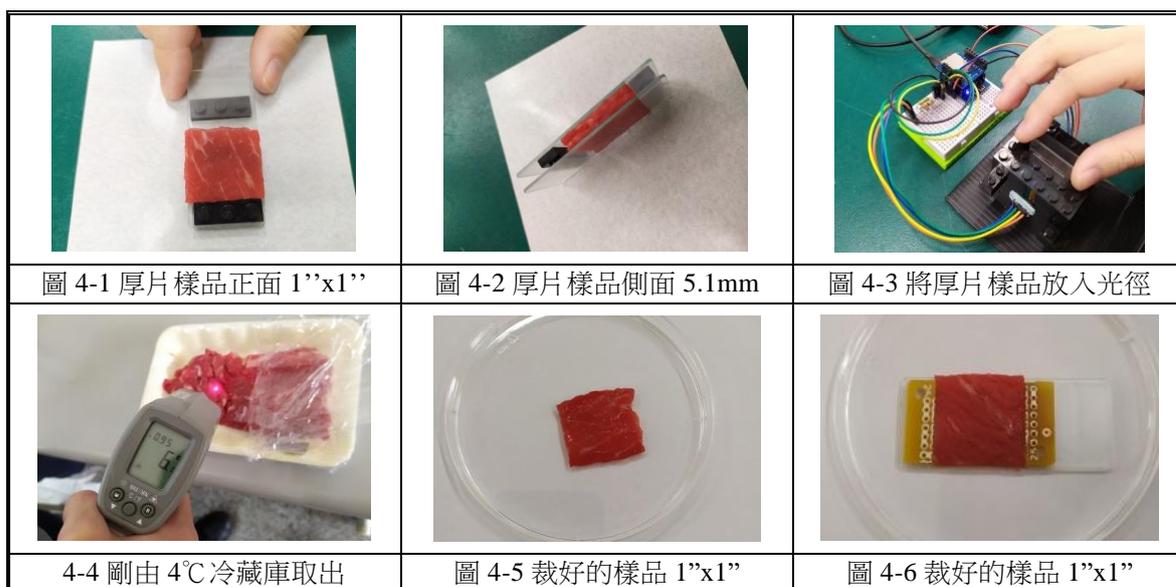
(四) 功能驗證 ~ 透射式鮮度計牛肉吸光度實驗：

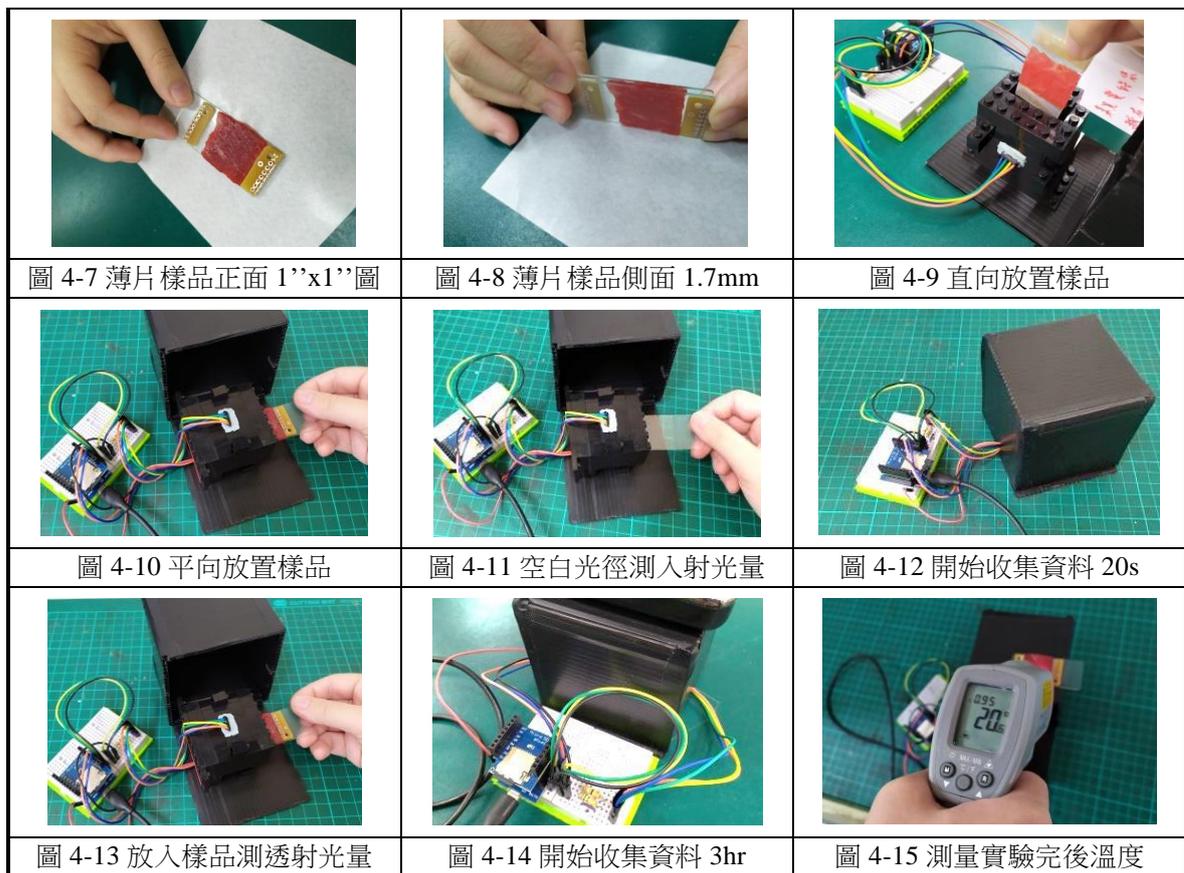
實驗說明：正式實驗前，先規劃 2 種樣品厚度先做前測：一種為厚片，厚度為 5.1mm (圖 4-2)，為原購得肉片厚度的 3 倍；另一種為薄片，厚度為 1.7mm (圖 4-8)，為原購得肉片厚度。由所得的數據發現薄片厚度 1.7mm 的樣品較容易觀察透射光的變化。另外一組前測為樣品直放(圖 4-9)和樣品平放(圖 4-10)，由所得的數據發現樣品平放較穩定不受振動影響。以下便以薄片、平放進行實驗。

1. 實驗流程

- (1). 由冷藏庫取出肉品，裁切成 1 平方英吋(載玻片的寬度)的正方形放置於載玻片上 (圖 4-5~ 4-7)，控制厚度為 1.7mm，再覆蓋另一載玻片予以固定備用 (圖 4-8)。測量樣品肉片最初溫度。
- (2). 透明載玻片放入光徑。(圖 4-11)
- (3). 蓋上黑色外蓋避免外界光影響檢測，接上電源。測得尚未有樣品時的人射光強度。等待 20 秒再停止。(圖 4-12)
- (4). 再將樣品放入光徑(圖 4-13)。
- (5). 蓋上黑色外蓋避免外界環境光影響檢測，接上電源。測得有樣品時的透射光強度。收集資料 3 小時再停止。(圖 4-14)
- (6). 測量樣品肉片最後溫度。(圖 4-15)
- (7). 完成 1 次實驗。
- (8). 重複(1)~(5)的步驟 3 次

2. 實驗照片





3. 實驗數據

(1). 停機之後取出 SD 卡，在電腦上讀出 DATALOG1.txt 檔案內的數據(圖 4-16)，經由 Excel 整理繪製統計折線圖。前面 10~20 筆資料為實驗步驟(3)所測得的入射光強度。所測出的數對第 1 個值為黃光的透射光強度，第 2 個值為綠光的透射光強度。

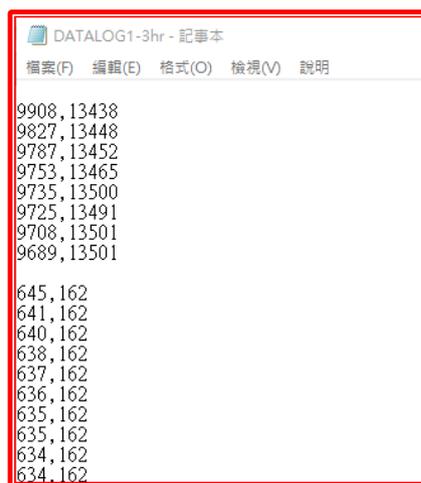


圖 4-16

(2). 三個樣品在波長 572nm (黃光)及波長 527nm (綠光)的透射光照度，如圖 4-17，相對於經過的時間幾乎呈現性關係。綠光幾乎為定值，黃光則隨著時間微微上揚，也就是說樣品肉片隨著時間愈來愈呈現出黃色的色澤。

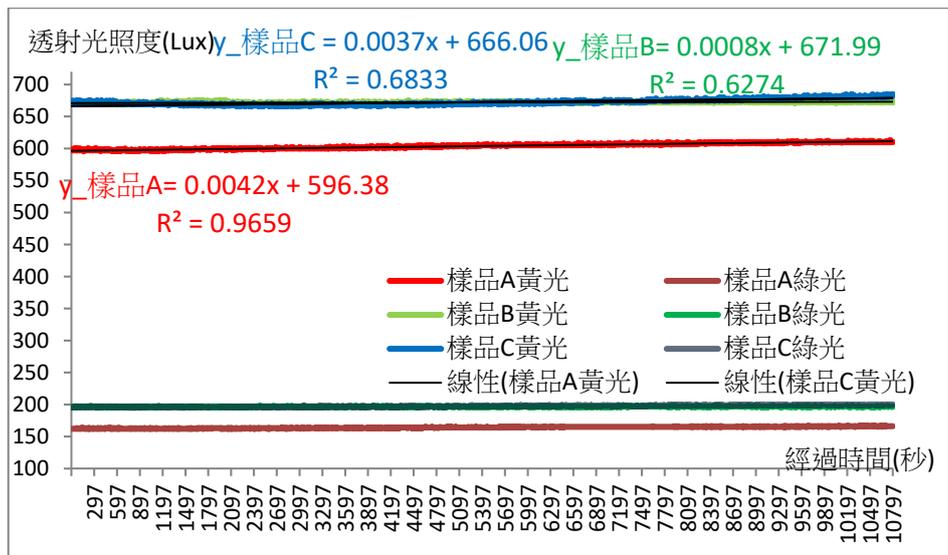


圖 4-17

- (3). 三個樣品在波長 572nm (黃光)及波長 527nm (綠光)的相對的吸光度比值所求出的 Mb%變化率也是隨著時間愈來愈大，但是也愈來愈緩和。

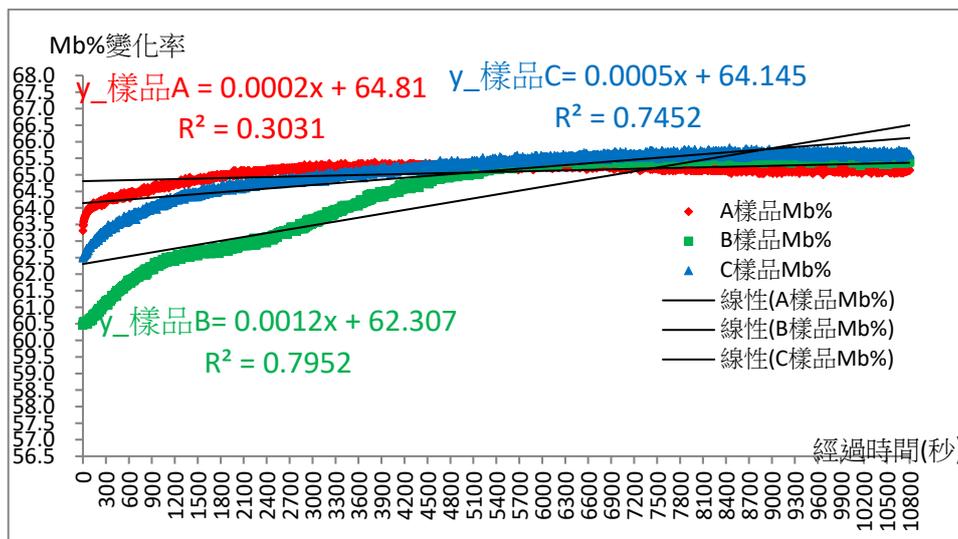


圖 4-18

4. 分析與討論

- (1). 樣品 A 為 1 天效期即期肉品，樣品 B、樣品 C 為有 4 天效期新鮮牛肉。
- (2). 新鮮的肉品(如樣品 B，樣品 C)一離開冷藏的保存環境，暴露在常溫底下，似乎就很快速的產生顏色的變化。相較於 B、C，即期品樣品 A 雖然一直是在冷藏環境保存，似乎檢測已累積了一些顏色的變化，其透光度都不如 B、C。如此可知顏色的變化似乎不只是在常溫下發生，冷藏環境下也會。
- (3). 即期品樣品 A 的 Mb%變化率，在接近 3 小時(10800 秒)相較於 B、C 呈現變化率較減緩。欲知其變化應做更長時間的檢測，如 18 或 24 小時常溫下檢測。
- (4). 總結而言是透過自製的牛肉吸光度檢測器更能查出新鮮轉變為不新鮮的些微變化。
- (5). 透射式的還需準備檢體甚為不便，於是規劃反射式的檢測裝置來比較驗證。

五、自製牛肉吸光度檢測裝置~第2代反射式，並驗證

為了能不破壞檢體而能檢知肉品新鮮度的微量變化，我們覺得可以改進檢測裝置，將原先檢測透射光強度，改為檢測反射光強度，尤其是價值更高的牛排肉，光線是無法透射整塊肉，如果為了檢測就破壞肉塊，又損失其價值，所以我們就做了反射式的檢測裝置。其檢測時不需要打開保鮮膜的透氣包裝，透過透明的保鮮膜就可以測量。

(一) 硬體電路：D1-mini 與 LED 光源(527nm, 572nm)、光度感測器及 RGB 顏色感測器連接電路(圖 5a)

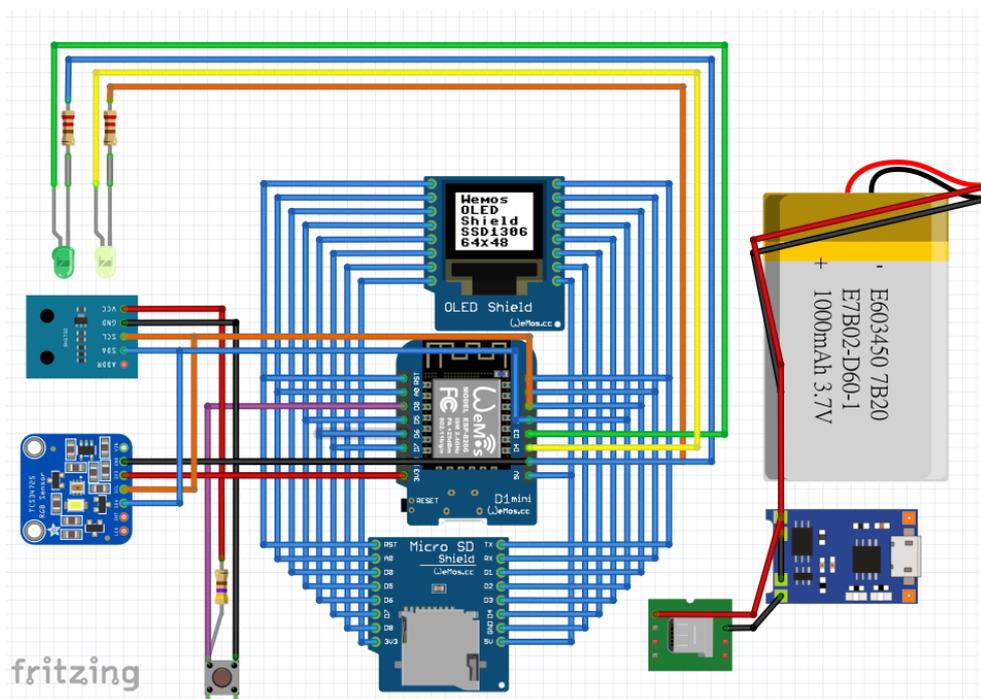
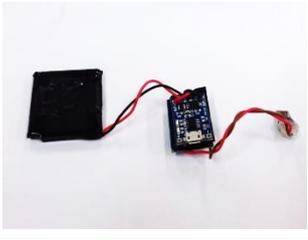
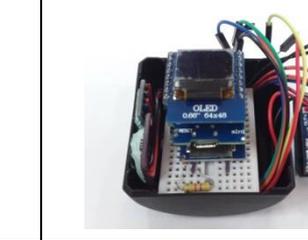
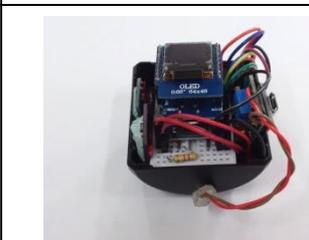


圖 5a

(二) 裝置組裝程序，依照圖號順序(5b~5p)便可組裝完成簡易偵測器。

<p>圖 5b 扭蛋殼</p>	<p>圖 5c 第 1 個感測器孔位</p>	<p>圖 5d LED*2+光照度感測器</p>
<p>圖 5e 安裝定位(正面)</p>	<p>圖 5f 第 2 個感測器孔位</p>	<p>圖 5g RGB 顏色感應器</p>

		
圖 5h 按鈕孔位	圖 5i 按鈕開關	圖 5j 安裝定位(反面)
		
圖 5k 鋰聚合物電池+充電升壓組	圖 5l 安裝電池	圖 5m 安裝 D1mini+SD+OLED
		
圖 5n 連接杜邦線線路	圖 5o 供電	圖 5p 上蓋

(三) 軟體部分：第 2 代反射式 D1-mini 程式碼 (含註解說明)

```

1 // Flag's Block 產生的草稿碼
2 #include <Wire.h> // I2C for Light-Sensor & OLED-Display
3 #include <Adafruit_Sensor.h>
4 #include <Adafruit_TSL2561_U.h> // Light-Sensor
5 #include <Adafruit_GFX.h>
6 #include <Adafruit_SSD1306.h> // OLED-Display
7 #include <SPI.h> // SPI for MicroSD MemoryCard
8 #include <SD.h> // MicroSD MemoryCard
9
10 /* <TSL2561 光照度計模組硬體配置 w/I2C>
11 WeMos data line SDA: D2(GPIO4)
12 WeMos clock line SCL: D1(GPIO5)
13 3V3: 3v3, GND: G */
14 // 啟用光照度計
15 Adafruit_TSL2561_Unified tsl = Adafruit_TSL2561_Unified(TSL2561_ADDR_FLOAT, 12345);
16
17 /* Y_LED572: D3(GPIO0), G_LED527: D4(GPIO2) */
18 const int Y_LED572 = 0; // 硬體配置 Y_LED572 接腳
19 const int G_LED527 = 2; // 硬體配置 G_LED527 接腳
20
21 /* ReadBTN: D0(GPIO16)*/
22 const int ReadBTN = 16; // 硬體配置 ReadBTN 接腳
23 bool reading_fg = 0; // 是否讀值旗標

```

```

24
25 /* <64x48_OLED 顯示模組硬體配置 w/I2C>
26     SCL: D1(GPIO5), SDA: D2(GPIO4) */
27 const int OLED_RESET = -1;
28 Adafruit_SSD1306 oled(OLED_RESET);
29
30 /* <SD 卡模組硬體配置 w/SPI>
31     WeMos Micro SD Shield V1.0.0 CS: D8 (GPIO15)
32     SCK: D5 (GPIO14), MOSI: D7 (GPIO13), MISO: D6 (GPIO12) */
33 const int ChipSelect = 15;           // 硬體配置 CS 接腳
34
35 // setup() 會先被執行且只會執行一次
36 void setup()
37 {
38     Wire.begin();                   // I2C 初始化
39     Serial.begin(9600);              // 序列埠初始化, 並由序列埠視窗監督數據
40
41     tsl.setGain(TSL2561_GAIN_16X);   // 光照度計初始設定
42     tsl.setIntegrationTime(TSL2561_INTEGRATIONTIME_13MS);
43
44     pinMode(Y_LED572, OUTPUT);       // 硬體設定 Y_LED572 輸出接腳
45     pinMode(G_LED527, OUTPUT);       // 硬體設定 G_LED527 輸出接腳
46     digitalWrite(Y_LED572, LOW);     // Y_LED572 初始狀態熄滅
47     digitalWrite(G_LED527, LOW);     // G_LED527 初始狀態熄滅
48     pinMode(ReadBTN, INPUT);         // 硬體設定 ReadBTN 輸入接腳
49
50     oled.begin(SSD1306_SWITCHCAPVCC, 0x3C); // 64x48_OLED 初始設定
51
52     oled.display();
53     delay(1000);
54
55     oled.setTextSize(1);             // 1 號字體, 寬 5 點*高 7 點, 行距 1 點
56     oled.setTextColor(WHITE);
57     oled.clearDisplay();             // 清除顯示內容
58
59     oled.setCursor(0,0);             // 設定顯示內容@第 1 行
60     oled.println("Fresh Test");     // 顯示 Fresh Test
61     oled.display();
62
63     Serial.print("SD 卡初始化中...");
64     if (!SD.begin(ChipSelect)) {     // SD 卡初始化
65         Serial.println("SD 卡失效, 或不在");
66         // return; // 暫停所有工作
67     }
68     Serial.println("SD 卡初始化成功");
69 }
70
71 // loop() 裡面的程式會不斷重複執行
72 void loop()
73 {
74     String dataString = "";          // 設定光照度儲存字串初值
75     // <檢查是否按下讀值按鈕>

```

```

76  if( digitalRead(ReadBTN) == LOW ) {           // 當按下按鈕
77      delay( 60 );                             // 等待 60ms 防彈跳, 再確認
78      if( digitalRead(ReadBTN) == LOW ) {
79          reading_fg = 1;                       // fg=1, 啟動讀值
80          // dataString += "RB:";
81          Serial.println("ReadBTN Pressed");
82      } else {
83          reading_fg = 0;                       // fg=0, 停止讀值
84      }
85  }
86  // 讀值旗標同時傳送序列埠視窗
87  // Serial.print("fg= "); Serial.println(reading_fg);
88
89  if( reading_fg == 1 ) // <讀取 TSL2561 光照度值>
90  {
91      reading_fg = 0;
92      int N = 15;                               // 取樣 N 組
93      uint16_t lux = 0;
94      uint16_t Y[N], G[N], Y_m = 0 , G_m = 0;
95      sensors_event_t detect;
96      oled.clearDisplay();                     // 清除顯示內容
97      oled.setTextColor(WHITE);
98      oled.setCursor(0,0);                    // 設定顯示內容@第 1 行
99      oled.println("Fresh Test");             // 顯示 Fresh Test
100     oled.println("Detecting!");
101     oled.display();
102     for (int i=0; i < N; i++)
103     {
104         String dataString = "";              // 設定光照度儲存字串初值
105         // 點亮波長 572nm LED, 讀取 TSL2561 光照度值-----
106         digitalWrite(Y_LED572, HIGH);       // 點亮波長 572nm LED
107         tsl.getEvent(&detect);               // 讀取 TSL2561 光照度值
108         lux = detect.light;
109         Y[i] = lux;
110         digitalWrite(Y_LED572, LOW);        // 熄滅波長 572nm LED
111         // 更新波長 572nm 光照度至儲存字串
112         dataString += "Y,G=";
113         dataString += String(lux); dataString += ",";
114         oled.setCursor(0,16);               // 設定顯示內容@第 3 行
115         oled.setTextColor(WHITE);          // 點亮.
116         oled.println("...");
117         oled.display();
118         // 點亮波長 527nm LED, 讀取 TSL2561 光照度值-----
119         digitalWrite(G_LED527, HIGH);       // 點亮波長 527nm LED
120         tsl.getEvent(&detect);               // 讀取 TSL2561 光照度值
121         lux = detect.light;
122         G[i] = lux;
123         digitalWrite(G_LED527, LOW);        // 熄滅波長 527nm LED
124
125         // 更新波長 527nm 光照度至儲存字串
126         dataString += String(lux);
127

```

```

128     oled.setCursor(0,16);           // 設定顯示內容@第 3 行
129     oled.setTextColor(BLACK);      // 熄滅.
130     oled.println("...");
131     oled.display();
132     // <儲存至 SD 卡>-----
133     // 開啟記錄檔 datalog2.txt
134     File dataFile = SD.open("datalog2.txt", FILE_WRITE);
135     if (dataFile) {
136         // 若記錄檔已開啟, 則寫入, 後關檔
137         dataFile.println(dataString);
138         dataFile.close();
139         // SD 卡存入情況同時傳送序列埠視窗
140         Serial.print("存入 SD 卡>"); Serial.println(dataString);
141     }
142     else {
143         // 若檔案無法開啟, 則顯示錯誤訊息
144         Serial.println("無法開啟 datalog2.txt 記錄檔");
145     }
146 }
147 // 檢定值計算
148 int i, j, tmp;
149 for( i=0; i < N; i++){           // 排序 Y[]
150     tmp = Y[i];
151     for( j=i; j > 0 && tmp < Y[j-1]; j--)
152         Y[j] = Y[j-1];
153     Y[j] = tmp;
154 }
155 for( i=0; i < N; i++){           // 排序 G[]
156     tmp = G[i];
157     for( j=i; j > 0 && tmp < G[j-1]; j--)
158         G[j] = G[j-1];
159     G[j] = tmp;
160 }
161 for( int k=3; k < N-3; k++)       // 去極端值, 算平均值
162 {
163     Y_m += Y[k]; G_m += G[k];
164     // 排序後值同時傳送序列埠視窗
165     Serial.print("排序值>Y,G="); Serial.print(String(Y[k])); Serial.print(","); Serial.println(String(G[k]));
166 }
167 Y_m /= 9; G_m /= 9;
168
169 // 檢定值同時傳送序列埠視窗
170 Serial.print("檢定值>Y,G="); Serial.print(String(Y_m)); Serial.print(","); Serial.println(String(G_m));
171
172 oled.setCursor(0,8);             // 第 2 行熄滅 Detecting!
173 oled.setTextColor(BLACK);
174 oled.println("Detecting!");
175 oled.display();
176
177 // 依照檢定值判定結果
178 oled.clearDisplay();             // 清除顯示內容
179 oled.setTextColor(WHITE);

```

```

180 oled.setCursor(0,24);
181 if( Y_m > 40 || G_m > 40){
182     oled.println("Get Closer");           // 第 3 行顯示 Get Closer..
183     oled.display();
184 } else if ( (Y_m > 23 && Y_m <= 40) || (G_m > 23 && G_m <= 40) ) {
185     oled.println("Very Fresh");           // 第 3 行顯示 Very Fresh
186     oled.display();
187 } else if ( (Y_m > 15 && Y_m <= 23) || (G_m > 15 && G_m <= 23) ) {
188     oled.println("So So!");               // 第 3 行顯示 So So!
189     oled.display();
190 } else if ( Y_m <= 15 || G_m <= 15) {
191     oled.println("No Good!!");           // 第 3 行顯示 No Good!!
192     oled.display();
193 }
194 }
195 }

```

(四) 功能驗證 ~反射式鮮度計實驗

實驗說明：反射式的牛肉吸光度檢測器，分成兩個階段進行實驗，第一個階段如同透射式的裝置，先大規模且長時間的收集數據作為檢知鮮度的資料庫。由我們收集到的數據分析判別新鮮與否的分界點，加以判斷肉品是否已達不新鮮。接著我們將分界判斷的條件直接寫於程式當中。如此就可以進行第二階段的實驗。

1. 實驗流程

我們準備了十五個牛肉樣品，分別有新鮮的五個、即期的五個以及過期的五個，用以試驗其檢測的準確率。我們將樣品隱藏標記後打亂後，分別請三位新手同學(未操作過檢測器)進行盲測，每份樣品進檢測 1 次，最後依照結果計算準確率。

2. 檢測時按照圖 5q 照片所示，隔著保鮮膜用檢測裝置貼緊肉片樣品，按下檢測鈕，約等 30 秒就會將結果顯示於螢幕。



圖 5q

3. 實驗數據與結果

A 同學	1	正確	2	正確	3	正確	4	正確	5	正確
	6	正確	7	錯誤	8	正確	9	正確	10	正確
	11	正確	12	正確	13	正確	14	錯誤	15	正確
B 同學	1	正確	2	正確	3	錯誤	4	正確	5	正確
	6	錯誤	7	正確	8	正確	9	正確	10	正確
	11	正確	12	正確	13	正確	14	錯誤	15	正確
C 同學	1	正確	2	正確	3	錯誤	4	錯誤	5	正確
	6	正確	7	正確	8	正確	9	正確	10	正確
	11	正確	12	錯誤	13	正確	14	正確	15	正確

4. 分析與討論

- (1). 本實驗正確率為 $37/45 = 82.2\%$ ，已達八成的正確率。
- (2). 判斷錯誤的有 3 個即期(So So)的判斷成新鮮(Very Fresh)，3 個即期的判斷成不新鮮(No Good)，1 個新鮮的判斷成即期，以及 1 個不新鮮的判斷成即期。
- (3). 判斷錯誤可能是即期肉品的吸收度和新鮮肉品相差不多，或是因為所取的部位不同而使得肌紅蛋白所占比例有所差異，這部分需再研究改進。

伍、結論

一、一般零售碎牛肉之真空包裝在 4°C 下冷藏可貯存 7~14 天，而透氣(保鮮膜)包裝效期則為 1 天；切塊牛肉之真空包裝在 4°C 下冷藏可貯存 14 天之久，而透氣包裝效期則為 4 天。零售業者會有 SOP 管控存放條件，但商品到每位消費者手中保鮮方式就可能出現差異，所以食物保存最弱的一環在消費者身上。我們能開發一台專門給消費者使用的肉品鮮度計就能協助檢測牛肉新鮮度，避免主觀的感官判斷。

二、肌紅蛋白莫耳吸光度光譜其中，吸光度波形在 527nm 處相交。另外在 572nm 處只有變性肌紅蛋白 Met-Mb 表現出低莫耳吸光度，脫氧肌紅蛋白 Deoxy-Mb 和氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 有相等且較高的莫耳吸光度，此時總吸光度會隨著變性肌紅蛋白 Met-Mb 所佔比例的增加而下降。若定義肌紅蛋白變化率 $Mb\% = \frac{A_{572}}{A_{527}} = \frac{\epsilon \cdot k_c \cdot k_d}{k_\epsilon \cdot k_c \cdot k_d} = \frac{\epsilon}{k_\epsilon} \times 100\%$ ，

我們便可經由兩個波長的吸光度比值 $\frac{A_{572}}{A_{527}}$ 計算相對應的肌紅蛋白變化率 Mb%，來判定牛肉新鮮度。

三、以 D1 mini 開發版整合，以波長 527nm 和波長 572nm 單一波長 LED 為光源，BH1750 光照度感測器模組為光的接收器量測入射光量和透射光量，並以 MicroSD 卡記憶模組紀

錄，可計算肌紅蛋白變化率 Mb%，來判定牛肉新鮮度。再改進光源強度為高亮度晶片型 LED，縮小體積和 TSL2561 光照度計模組整合在一起，再整合 64x48_OLED 顯示模組，可立即將計算所得的吸光度變化，對應資料庫中的相對位置而判定新鮮度，並於顯示模組顯示結果。加入檢測控制開關，交由使用者主控檢測改善使用者經驗。最後 TCS34725 RGB 顏色感測器，可用於協助限縮顏色範圍於正常的肉品顏色，亦或顏色進入到腐敗肉品的顏色範圍，當作第二個判斷新鮮度的參數。

- 四、透射式檢測裝置實驗給出在波長 572nm 及波長 527nm 的相對的吸光度比值所求出的 Mb% 變化率也是隨著時間愈來愈大。透過自製的牛肉吸光度檢測器更能查出新鮮轉變為不新鮮的些微變化。
- 五、透射式檢測裝置需準備肉片甚為不便，反射式的檢測裝置不需要打開透氣包裝的保鮮膜，透過透明的保鮮膜就可以測量，不會破壞肉塊及損失其價值。由新手消費群進行盲測，對新鮮度的判定正確率為 $37/45 = 82.2\%$ 。

陸、未來展望

- 一、接下來可將我們目前的原型機，經過工業設計的程序，設計使其外殼更流線，更符合人體工學。
- 二、未來可以和手機結合透過 WiFi 將檢測的結果在手機上顯示，甚或可以透過網路做大數據的統計，由物聯網集體快速的收集大批肉類的新鮮度變化。如此也可以取消目前為了研究所加入的 SD 記憶卡模組而能更降低成本。
- 三、利用多波長衰減測量似乎還能繼續研究其他的食品，如有機食物、高單價水果等，觀察其中微小的變化，提早且快速的查出原因減少所有可能的損失。

柒、參考資料

- 一、Meat Science.德州農工大學動物科學系肉品科學網站
<https://meat.tamu.edu/anisc-307-honors/meat-color/>
- 二、「犇」跑吧 CO! 第 50 屆全國中小學科展作品 陳沛蓉，賴佩妤，許家嘉，歐思廷 高雄市立高雄女子高級中學
<https://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/50/pdf/040809.pdf>
- 三、於多波長衰減測量的豬肉中變性肌紅蛋白的形成，積累，降解和肌紅蛋白氧合監測
https://www.researchgate.net/publication/302271171_Met-myoglobin_formation_accumulation_degradation_and_myoglobin_oxygenation_monitoring_based_on_multiwavelength_attenuance_measurement_in_porcine_meat#pf3

【評語】 032808

作品設計一個電子檢測儀以光譜量測牛肉之新鮮度，主題具創新性，對於該主題有深入的領域知識理解，由參考文獻習得量測原理，光譜資訊、萃取技術的相關領域知識，具高度探索精神。作品原型相當完整，可以運作並有適當資訊顯示。肉品的新鮮度定義可以更嚴謹，如能以生物或化學技術取得新鮮度量測標註，結果可能更具信服力與實用性。

壹、研究動機

有一次幫媽媽倒垃圾的時候，看到鄰居竟然將未開封的肉直接倒進廚餘桶，只因食物超過標示日期而丟棄。當時我看到覺得十分可惜，心想要如何才能改善民眾食物浪費的問題？於是找了同學討論，在我們查詢的相關資料中提到「全球每年生產的食物至少有三分之一遭浪費」。相較於其他食物，肉品的保存又更為不易，若是我們使用不當、未依規定存放，單憑肉品上標示的使用期限就能保證其新鮮程度嗎？另外傳統市場的肉品鮮度又該以什麼為依據呢？如能製作利用檢定肌紅蛋白吸光度及顏色變化用以判斷肉品的新鮮度檢測裝置，可否有效降低上述問題？

貳、研究目的

- 一、實地訪查零售超市確認開發牛肉鮮度計的需求，並觀察牛肉鮮度變化。
- 二、評估量化牛肉氧化程度作為新鮮程度的指標的可行性：萃取牛肉肌紅蛋白，進行光譜測定及探討。
- 三、探討可應用於開發檢測裝置開發之電子元件。
- 四、自製牛肉吸光度檢測裝置，並驗證。

一、量測原理：

長久存放時切面表層約 1~6mm 處由內而外肌紅蛋白逐漸失去電子使得氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 減少、變性肌紅蛋白 Met-Mb 增加，則此時牛肉呈現暗棕色。新鮮程度：紫紅色的 Deoxy-Mb > 鮮紅色的 Oxy-Mb > 暗棕色的 Met-Mb。

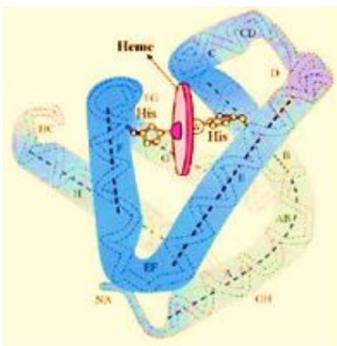


圖 1

	脫氧肌紅蛋白	Deoxy-Mb	最內層	紫紅色	最新鮮
	氧合肌紅蛋白	Oxy-Mb	最外層	與氧結合，鮮紅色	鮮度次之
	變性肌紅蛋白	Met-Mb	中間	失去電子，暗棕色	最不新鮮

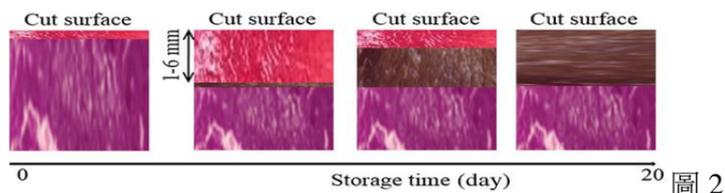


圖 2

二、量測依據：

基於肉類顏色變化的原理機制，通過因變性肌紅蛋白 Met-Mb 增加時所造成吸光度變化率的測量來量化新鮮度。從文獻中得到的三種肌紅蛋白透射光莫耳吸光度光譜（圖 3）。脫氧肌紅蛋白 Deoxy-Mb 主要的吸收峰在於 434、557nm。氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 主要的吸收峰在於 418、544、582nm。變性肌紅蛋白 Met-Mb 主要的吸收峰在於 410、405、634nm。其中三種類型的肌紅蛋白其莫耳吸光度波形①在 527nm 處相交，在定量的肌紅蛋白總濃度下總吸光度為定值，不受個別濃度影響僅隨總濃度變化；另外②在 572nm 處只有變性肌紅蛋白 Met-Mb 表現出低莫耳吸光度，脫氧肌紅蛋白 Deoxy-Mb 和氧合肌紅蛋白 Oxy-Mb 有相等且較高的莫耳吸光度，此時總吸光度隨變性肌紅蛋白 Met-Mb 所佔總體比例的增加而下降。

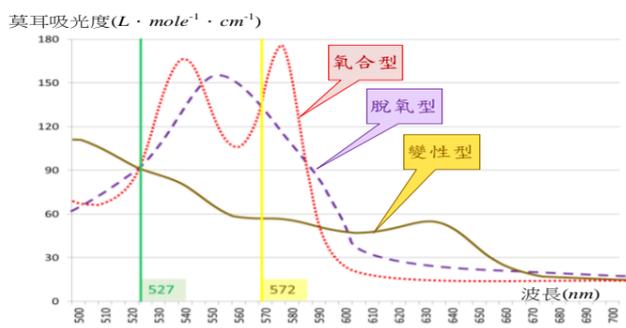


圖 3 肌紅蛋白莫耳吸光度光譜

$$A_{\lambda} = \log_{10} \left(\frac{E_i}{E_t} \right) = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

E_i ：入射光強度， E_t ：透射光強度， c ：莫耳濃度[$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
 ε ：莫耳吸光係數[$\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]， d ：樣品的厚度[cm]

圖 4 朗伯 - 貝爾定律

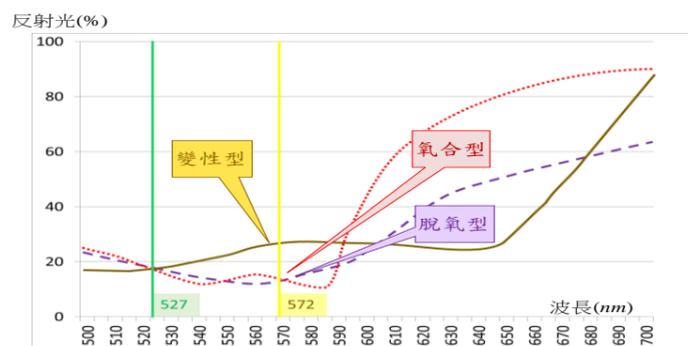


圖 4 肌紅蛋白反射光光譜

$$A_{\lambda} = \log_{10} \left(\frac{E_i}{E_i - E_r} \right)$$

E_i ：入射光強度， E_r ：反射光強度，

圖 6 朗伯定律 - 以反射光計算吸光度

參、研究設備及器材

一、化學儀器及藥品：

- (1)電子秤 (2)離心機 5000rpm (3)分光光度計 (4)離心管 (5)比色管 (6)燒杯 (7)玻棒 (8)量筒 (9)載玻片 (10)試管/架 (11)濾紙 (12)夾子 (13)磷酸一鈉(緩衝溶液) (14)磷酸二鈉(緩衝溶液) (15)氯化鎂(萃取用劑) (16)赤血鹽(氧化劑) (17)低亞硫酸鈉(還原劑)

二、電子零件材料及手工具：

- (1)D1-mini 開發版 (2)MicroSD 卡記憶模組 (3)64x48_OLED 顯示模組 (4)BH1750 光照度計模組 (5)TSL2561 光照度計模組 (6)TCS34725 RGB 顏色模組 (7)鋰聚合物電池 3.7v 850mAh (8)14500 鋰聚合物電池 3.7v 650mAh (9)單節鋰電池 5V 充/放/升壓模組 (10)MicroUSB 無殼公插頭 (11)LED 572nm 3mm (12)LED 572nm 3mm (13)LED 572nm SMD (14)LED 572nm SMD (15)常用電阻組合板 (16)按鈕開關 (17)排針/排針座 (18)杜邦線 (19)麵包版 (20)PCB 洞洞板 (21)電烙鐵 (22)電鑽

肆、研究過程及結果

一、實地訪查零售超市確認開發牛肉鮮度計的需求，並觀察牛肉鮮度變化

- (一)訪查結果：切片牛肉之真空包裝在 4°C 下冷藏可貯存 14 天，而透氣包裝效期為 4 天。零售商都有其進銷存肉品的 SOP，所以食物保存最弱的一環在消費者身上。給消費者使用的肉品鮮度計，可減少食物的浪費並可避免誤食引發中毒損及健康。
- (二)取得實驗用牛肉予以分裝，依照冷藏、常溫等不同存放條件進行觀察記錄：



圖 1-3 於冰箱冷藏存放 1 天

冰箱冷藏(4°C)存放	存放時間	室內常溫(23°C)存放
鮮紅色	1 天	不均勻的棕色
紅棕色	3 天	大部分棕色，有異味
不均勻的棕色，有異味	7 天	暗棕色，有臭味，有黏液
暗棕色，有臭味，有黏液	14 天	<已經丟棄處理>



圖 1-4 於室內常溫存放 1 天

(三) 分析與討論：

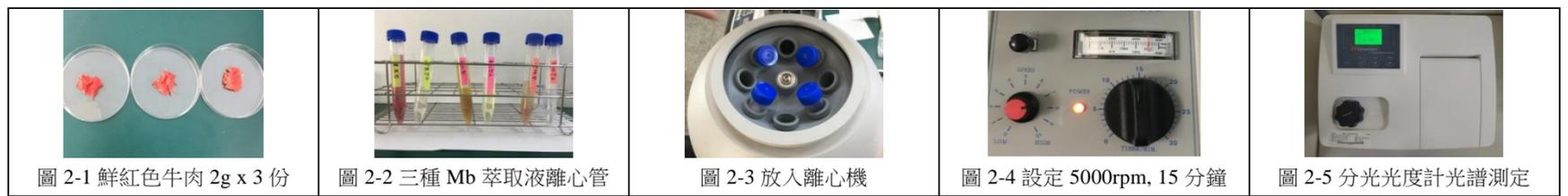
1. 室溫擺放第 1 天過後，有不新鮮的棕色外觀。冷藏存放第 3 天已超過保存期限，但肉品外觀顏色及氣味還在正常狀態。
2. 肉品在分裝時易遭受細菌汙染，常溫存放的部分肉片快速敗壞而產生黏液，4°C 冷藏存放有效減緩細菌增生減緩腐敗。
3. 若經由冷凍保存可以有更長的效期。為了快速觀察到變化，後續實驗均以冷藏肉作為實驗樣品。

肆、研究過程及結果(續1)

二、評估量化牛肉氧化程度作為新鮮程度的指標的可行性：萃取牛肉肌紅蛋白，進行光譜測定及探討

(一)實驗流程及照片：

磷酸緩衝溶液製備⇒ 萃取劑/氯化鎂水溶液製備⇒ 氧化劑/赤血鹽溶液製備⇒ 還原劑/秤量低亞硫酸鈉(固體)備用⇒ 變性 Met-Mb 製備⇒ 脫氧 Deoxy-Mb 製備⇒ 氧合 Oxy-Mb 製備⇒ 空白組製備⇒ 各類肌紅蛋白之萃取後進行光譜測定



(二)實驗結果：

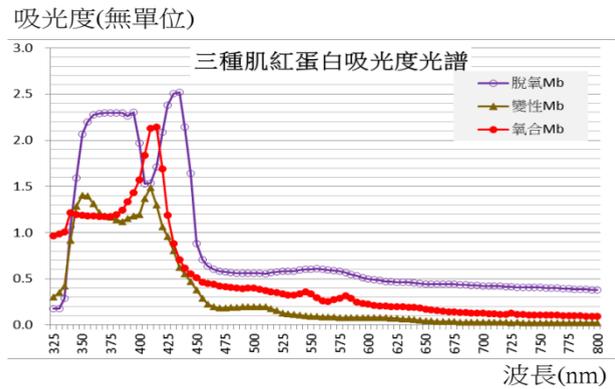


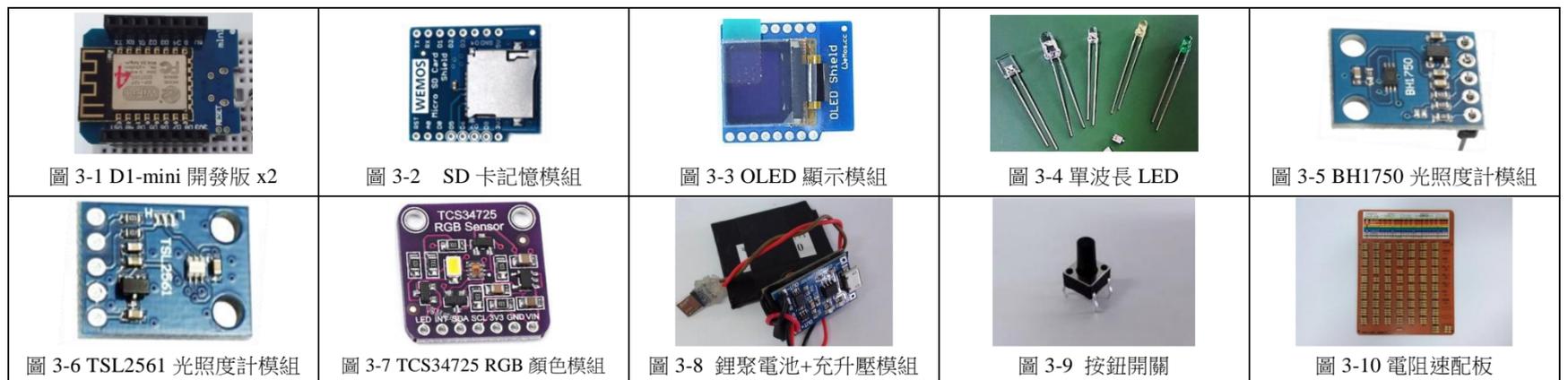
圖 2-6

(三)分析與討論：

- 三種肌紅蛋白主要吸收峰皆有明顯出現。
- 由於萃取出各類肌紅蛋白的濃度不同，無法觀察出像文獻莫耳吸收度光譜所指波形交會處。
- 文獻三種類型肌紅蛋白莫耳吸收度光譜中：吸光度波形在 527nm 處相交。若定義肌紅蛋白變化率 $Mb\% = \frac{A_{572}}{A_{527}} = \frac{\epsilon \cdot k_c \cdot k_d}{k_e \cdot k_c \cdot k_d} = \frac{\epsilon}{k_e} \times 100\%$ ，我們便可經由兩個波長的吸光度比值 $\frac{A_{572}}{A_{527}}$ 計算相對應的肌紅蛋白變化率 Mb%，來判定牛肉新鮮度。

三、探討可應用於開發檢測裝置開發之電子元件

(一)可應用於本研究之電子元件



(二)分析與討論

- 若以 D1 mini 開發版整合，以波長 527nm 和 572nm LED 為光源，BH1750 光照度計量測入射光量和透射光量，並以 MicroSD 卡記憶模組紀錄，可以得兩個波長的吸光度比值 $\frac{A_{572}}{A_{527}}$ 計算肌紅蛋白變化率 Mb%，來判定牛肉新鮮度。
- 若改進光源強度為高亮度晶片型 LED，可縮小體積和 TSL2561 光照度計模組整合在一起。經由檢測開關控制，再由 64x48_OLED 顯示模組立即顯示結果。最後 TCS34725 RGB 顏色感測器，用於協助限縮顏色範圍於正常的肉品顏色，亦或顏色進入到腐敗肉品的顏色範圍，可當作第二個判斷新鮮度的參數。
- 可用體積較小的鋰聚合物電池搭配充電加保護二合一的電路板改進電源。

四、自製牛肉吸光度檢測裝置

第 1 代 ~ 透射式鮮度計

(一)硬體電路：

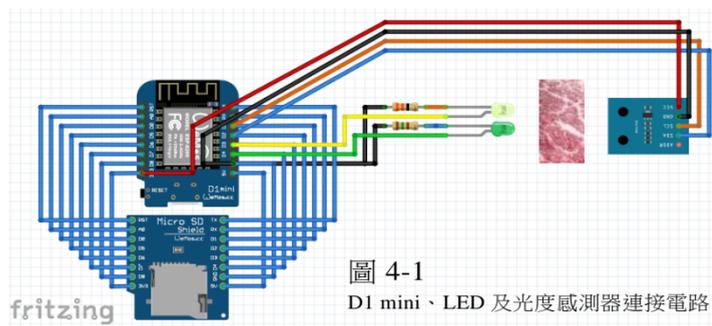


圖 4-1

D1 mini、LED 及光度感測器連接電路

(二)裝置組裝示意：



圖 4-2

圖 4-3

左側 LED 光源，右側 BH1750

中間放置檢測肉片

(三)功能驗證一 ~ 牛肉透射光吸光度實驗：



圖 4-4

功能驗證二 ~ 牛肉 Mb% 變化率：

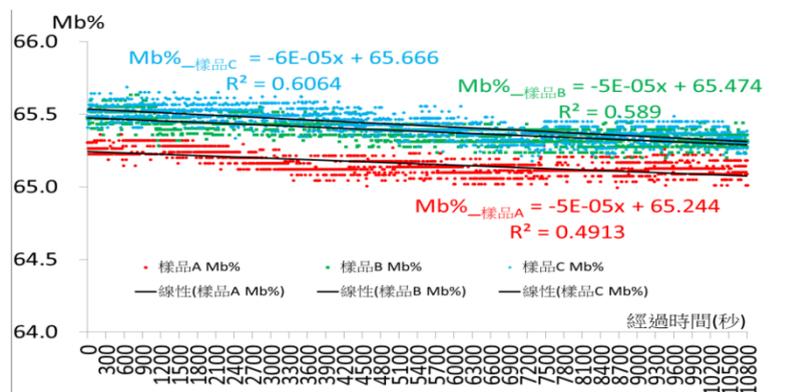


圖 4-5

(四)分析與討論：

- 三個樣品的吸光度，綠光皆呈現定值，黃光則呈漸漸下降的趨勢。
- 相對於樣品 B、C，預期較不新鮮的樣品 A 吸光度會較低，分析可能是因為不同肉品間的個體差異所造成。接著計算 Mb% 後再做比較，發現樣品 A 的 Mb% 確實比樣品 B、C 來的低，而能正確對應鮮度。

肆、研究過程及結果(續 2)

第 2 代 ~ 反射式鮮度計

(一)硬體電路：

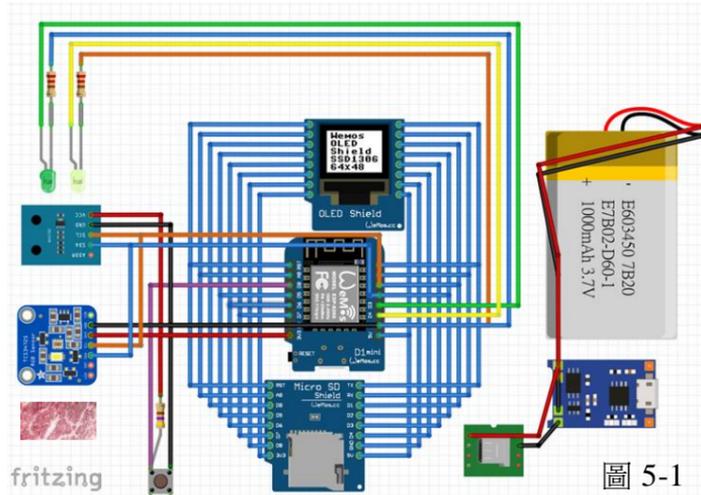


圖 5-1

(二)裝置組裝示意：

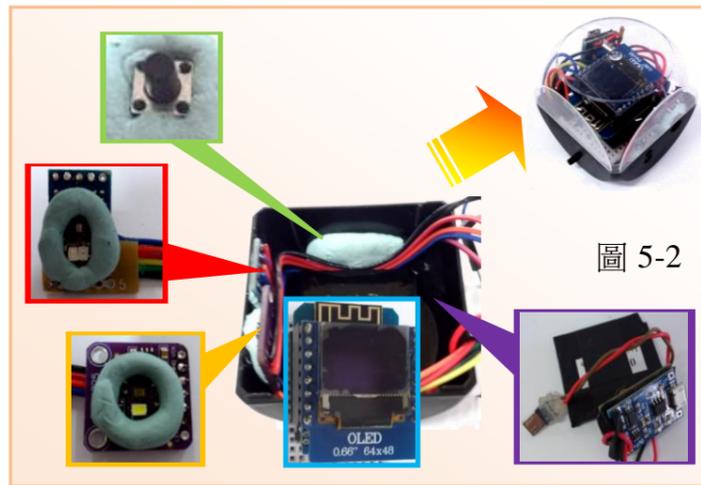


圖 5-2

(三)程式流程圖：

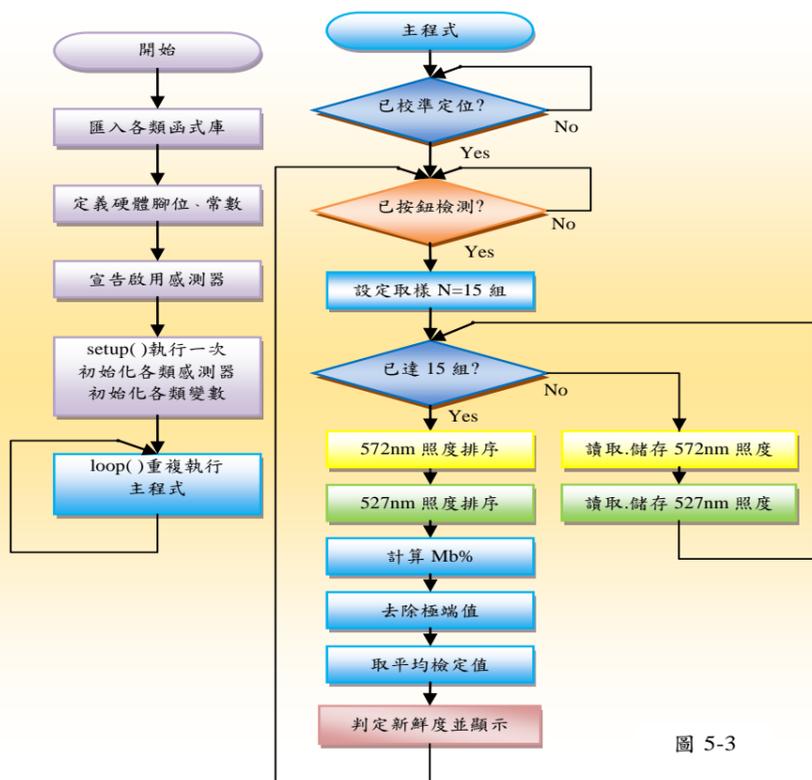


圖 5-3

(四)程式說明(主程式片段)：

```
106 String dataString = ""; // 設定光照度儲存字串初值
107 // 點亮波長 572nm LED, 讀取 TSL2561 光照度值-----
108 digitalWrite(Y_LED572, HIGH); // 點亮波長 572nm LED
109 tsl.getEvent(&detect); // 讀取 TSL2561 光照度值
110 lux = detect.light;
111 Y[i] = lux;
112 digitalWrite(Y_LED572, LOW); // 熄滅波長 572nm LED
113 // 更新波長 572nm 光照度至儲存字串
114 dataString += "Y,G=";
115 dataString += String(lux); dataString += ",";
116 oled.setCursor(0,16); // 設定顯示內容@第 3 行
117 oled.setTextColor(WHITE); // 點亮.
118 oled.println("...");
119 oled.display();
120 // 點亮波長 527nm LED, 讀取 TSL2561 光照度值-----
121 digitalWrite(G_LED527, HIGH); // 點亮波長 527nm LED
122 tsl.getEvent(&detect); // 讀取 TSL2561 光照度值
123 lux = detect.light;
124 G[i] = lux;
125 digitalWrite(G_LED527, LOW); // 熄滅波長 527nm LED
126 // 更新波長 527nm 光照度至儲存字串
127 dataString += String(lux);
128 oled.setCursor(0,16); // 設定顯示內容@第 3 行
129 oled.setTextColor(BLACK); // 熄滅.
130 oled.println("...");
131 oled.display();
```

(五) 功能驗證 ~ 反射式鮮度計實驗

1. 實驗說明：分成 2 個階段進行實驗；第 1 階段，先大規模收集數據作為檢知比對資料庫。我們由收集到的數據分析判別新鮮與否的分界點，接著將閾值寫於程式當中。
2. 第 2 階段我們準備了 60 個牛肉樣品，分別有新鮮的 20 個、即期的 20 個以及過期的 20 個，用以試驗其檢測的準確率。我們將樣品隱藏標記打亂後進行盲測，每份樣品進檢測 1 次，最後依照結果計算正確率。
3. 本實驗正確率為 $57/60 = 93.3\%$ ，已達九成三的正確率。
4. 未來新鮮度閾值的尋找可經由機器學習取得。



伍、結論

1. 食物保存最弱的一環在消費者身上。我們能開發一台專門給消費者使用的肉品鮮度計就能協助檢測牛肉新鮮度，而非只能由主觀的感官判斷。
2. 三種類型肌紅蛋白莫耳吸光度光譜其中，波形在 527nm 處相交吸光度呈定值。另外在 572nm 處只有變性肌紅蛋白表現出低莫耳吸光度，此時總吸光度會隨著變性肌紅蛋白 Met-Mb 所佔總體比例的增加而下降。若定義肌紅蛋白變化率 $Mb\% = \frac{A_{572}}{A_{527}} = \frac{\epsilon \cdot k_c \cdot k_d}{k_\epsilon \cdot k_c \cdot k_d} = \frac{\epsilon}{k_\epsilon} \times 100\%$ ，我們便可經由兩個波長的吸光度比值計算 Mb%，來判定牛肉新鮮度。
3. 以 D1 mini 開發版整合，以波長 527nm 和波長 572nm 單一波長 LED 為光源，BH1750 光照度感測器模組為光的接收器量測入射光量和透射光量，並以 MicroSD 卡記憶模組紀錄，計算肌紅蛋白變化率 Mb%，來判定牛肉新鮮度。
4. 改進光源強度為高亮度晶片型 LED，縮小體積和更準確的 TSL2561 光照度計模組整合在一起，再整合 OLED 顯示模組，可將計算所得的吸光度變化，判定新鮮度，並立即顯示結果。加入檢測控制開關並縮小體積，使用者可握在手中單手操作檢測，十分輕巧便利。
5. 反射式檢測裝置實驗給出在波長 572nm 及波長 527nm 的相對的吸光度比值所求出的 Mb% 也是隨著時間增加而減少。透過自製的牛肉吸光度檢測器更能查出新鮮度的細微變化。
6. 反射式檢測裝置不需要打開透氣包裝的保鮮膜，透過透明的保鮮膜就可以測量，不會破壞肉塊及損失其價值。由新手消費群進行盲測，對新鮮度判定的正確率大於九成。

陸、未來展望

1. 未來可以和手機結合透過 WiFi 將檢測的結果在手機上顯示，甚或可以透過網路做大數據的統計，由物聯網快速的收集大批肉類的新鮮度變化，並經由機器學習取得新鮮度閾值。如此還可移除記錄研究數據用的 SD 記憶卡模組以降低成本。
2. 可利用多波長測量繼續研究其他的食品，如有機植物、高單價水果等，觀察其中微小的變化，快速的查出原因減少損失。
3. 可將我們目前的原型機，經過工業設計的程序，使其外殼更流線、更符合人體工學並縮小體積。

柒、參考資料

1. 陳沛蓉、賴佩好、許家嘉、歐思廷(2010)。「犇」跑吧 CO!。中華民國第 50 屆全國中小學科學展覽會高中組科展作品說明書。
2. Thien Nguyen, Kien Nguyen Phan, Jee-Bum Lee, and Jae Gwan Kima。Met-myoglobin formation, accumulation, degradation, and myoglobin oxygenation monitoring based on multiwavelength attenuance measurement in porcine meat。https://www.researchgate.net/publication/302271171_Met-myoglobin_formation_accumulation_degradation_and_myoglobin_oxygenation_monitoring_based_on_multiwavelength_attenuance_measurement_in_porcine_meat#pf3
3. S. De Smet, Laboratory for Animal Nutrition and Animal Product Quality, Ghent University。Color formation and color stability of fresh meat。https://www.pack4food.be/files/documents/events/Kleurvorming%20en%20kleurstabiliteit%20van%20vers%20vlees.pdf