

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

國中組 化學科

佳作

030207

手機偵測螢光及吸收光譜探討橄欖油中葉綠素  
及類胡蘿蔔素熱降解的臨界行為

學校名稱：臺北市私立復興實驗高級中學(附設國中)

作者：  國三 陳柏翰  國三 李昕陽	指導老師：  馬瑪宣
---------------------------------	------------------

關鍵詞：螢光光譜、橄欖油、葉綠素

## 摘要

本研究以兩枚光柵（600 條 / mm）、一 0.5 mW 藍雷射光（450 nm）、兩台手機錄影偵測，搭配 3D 列印，利用自製螢光及吸收雙功能光譜儀，可迅速監控葉綠素的存在或分解，其中吸收光為排除雜訊，以光柵讀取 450 nm 的二次（second order）光，以 Tracker 軟體將光譜照片數位化。偵測一滴油 30  $\mu$ l 的橄欖油的及時螢光光譜配合二次吸收光譜，分析 2 種品牌橄欖油中葉綠素遇熱分解過程，發現橄欖油中葉綠素遇熱呈現兩階段式分解。透射二次光隨溫度變化曲線，可用指數函數表示，揭示 B 牌橄欖油中葉綠素的熱分解係數僅為 A 牌的  $(31.9/87.8) = 0.36$  倍，加熱到 200°C 保有 21% 葉綠素。橄欖油中的油提升葉綠素及類胡蘿蔔素的降解溫度。即時螢光光譜，顯示 95°C 時，A 牌橄欖油中葉綠素含量是 B 牌的 6 倍。

# 壹、前言

## 一、研究動機

在現今的化學分析中，光譜儀（Spectroscope）是將成分複雜的光，分解為光譜線的科學儀。陽光中的七色光是肉眼能分的部分（可見光），但若通過光譜儀將陽光分解，按波長排列，可見光只佔光譜中很小的範圍，其餘都是肉眼無法分辨的光譜，如紅外線、微波、紫外線、X 射線等。通過光譜儀對光信息的抓取，或電腦化自動顯示數值儀器顯示和分析，從而測知物品中含有何種元素。光譜儀是應用光學原理，對物質的結構和成分進行觀測、分析和處理的基本設備，具有分析精度高、測量範圍大、速度快和樣品用量少等優點。但對現今市面上而言，光譜儀的造價依據其精細程度約 25 至 60 萬不等，由於因為價錢的昂貴，在物理課堂上，教導了許多有關於光譜儀的相關知識，因此若可以做一個簡易、造價費用低的光譜儀，並且能取代原有價格較昂貴的光譜儀，再加上橄欖油是煮飯時常用的食用油，因此探討橄欖油之兩階段分解，檢定橄欖油之健康度。

## 二、目的

- (一) 利用 3D 列印技術自製測量螢光光譜及吸收光譜的雙功能光譜儀。
- (二) 檢測自製光譜儀之準確度，透過萃取菠菜中的葉綠素與文獻進行比對。
- (三) 探討不同溫度及不同加熱時間下測量橄欖油中的葉綠素螢光光譜，進而探究橄欖油中葉綠素的含量或穩定度。
- (四) 以 Tracker、Origin 軟體，分析數據中待測物螢光光譜的強度分析，並且將光譜進行積分量化。
- (五) 利用積分數據圖表探討橄欖油中葉綠素的遇熱兩階段分解。

## 三、文獻回顧

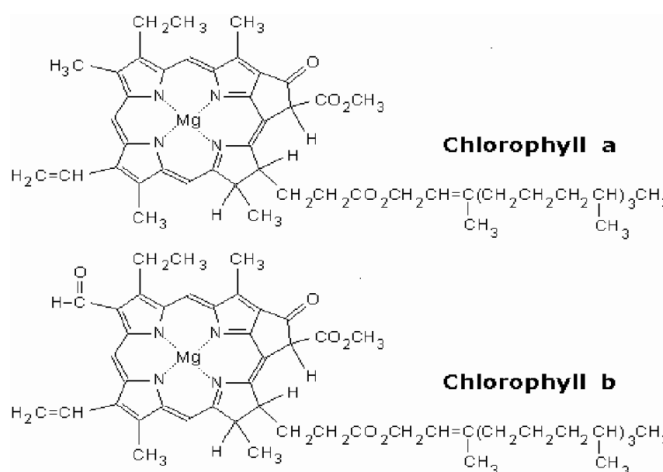
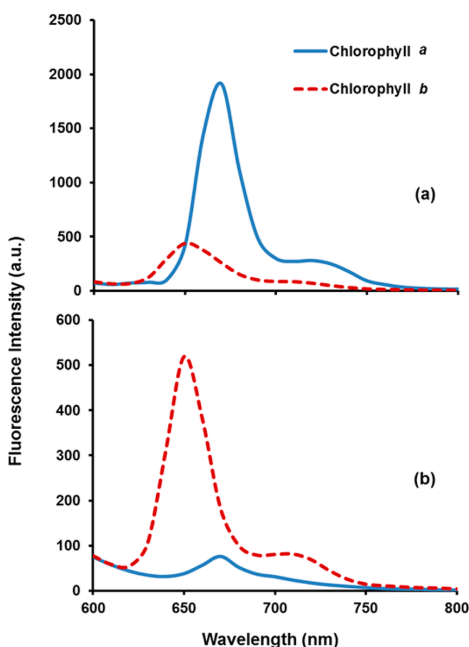
- (一) 葉綠素，光合作用最重要的一類色素的成員，光合作用是光能通過有機化合物的合成轉化為化學能的過程。葉綠素幾乎存在於所有光合生物中，它從光中吸收能量；這種能量隨後被用於將二氧化碳轉化為碳水化合物。葉綠素以幾種不同的形式存在：葉綠素 a 和 b 是在高等植物和綠藻中發現的主要類型。  
葉綠素分子由一個中心鎂原子組成，周圍環繞著一個稱為卟啉環的含氮結構；附在環上的是一條長碳氫側鏈，稱為葉綠醇鏈。變化是由於某些側基的微小修改造成的。葉

綠素在結構上與血紅蛋白非常相似，血紅蛋白是在哺乳動物和其他脊椎動物的紅細胞中發現的攜氧色素。[7] [ Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2023, May 11) ]

1. 葉綠素 a 和葉綠素 b 的不同：

	Chlorophyll a	Chlorophyll b
解釋	葉綠素 a 是光合作用主要的色素	葉綠素 b 是輔助色素
吸收光譜顏色	光譜中吸收紫藍色和橙紅色光	光譜中吸收橙紅色光
反射光	藍綠色	黃綠色
吸收範圍	430 nm 至 660 nm	450 nm 至 650 nm

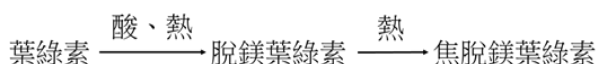
[10] [BYJU Learning Difference between Chlorophyll a and b]



文獻 8 之葉綠素螢光光譜 [8] [M. Pérez, Jaime a. teixeira da silva, & Maria teresa lao. (2006) ]

(二) 脫鎂反應

青菜在烹煮加熱的過程或酸性環境下，葉綠素會進行脫鎂反應，葉綠素中央的鎂離子會被氫離子取代使原來的綠色轉變為深橄欖綠。為了避免青菜變黃，烹煮食可用快炒而不加蓋的方法使有機物揮發，有的以加蓋的方法烹煮蔬菜，以減少酸（氫離子）的含量，也可加小蘇打粉來中和酸，並保持翠綠。[6][呂鉞香, 張明如, 鄒伶俐. (2005) ]



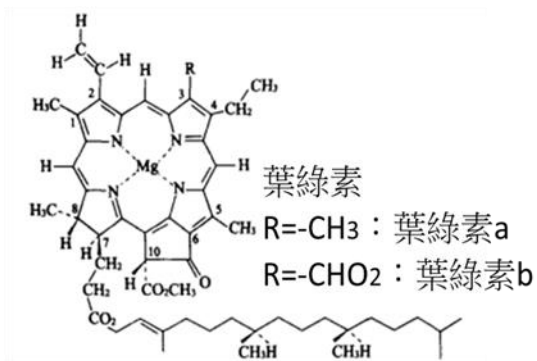


圖 1. 葉綠素

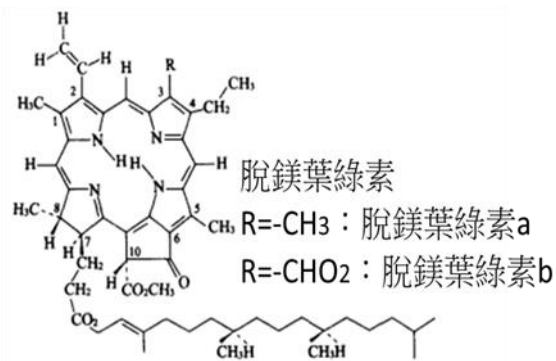


圖 2. 脫鎂葉綠素

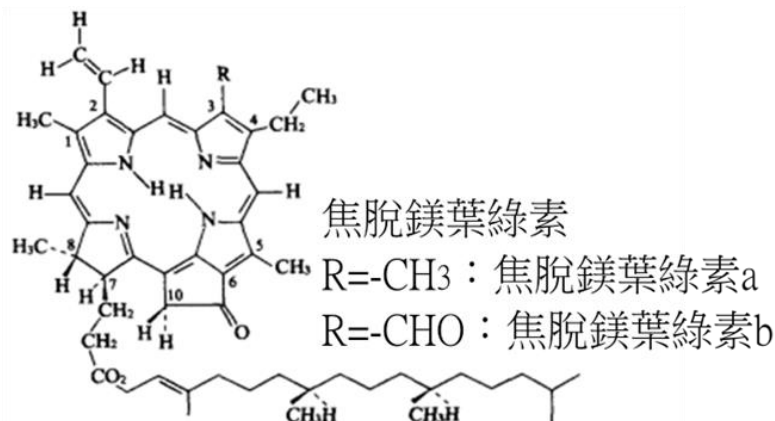


圖 3. 焦脫鎂葉綠素

### (三) 葉綠素螢光原理

1. 葉綠素的螢光原理其實相當簡單，葉子中葉綠素分子吸收的光能會經歷三個過程的其中之一：可以用來驅動光合作用（光化學），多餘的能量可以作為熱量消散，或者可以作為光重新發射——葉綠素螢光。這三個過程相互競爭，任何一個過程的效率提高都會導致另外兩個過程的產量下降。因此，通過測量葉綠素螢光的產量，可以獲得有關光化學和散熱效率變化的消息。
2. 雖然葉綠素螢光的總量非常小（僅占吸收光總量的 1% 或 2%），但測量非常容易。螢光的光譜與吸收光的光譜不同，螢光發射峰的波長比吸收峰的波長長。因此，可以通過將葉子暴露在定義波長的光下並測量在較長波長處重新發射的光量來量化螢光產量。然而，重要的是要注意，這種測量只能是相對的，因為光不可避免地會損失。[9] [ Kate Maxwell, Giles N. Johnson. (2000) ]

### (四) 橄欖油

1. 橄欖油是植物油的一種，由木犀科油橄欖的果實壓榨而成，是一種常用的食油，也可用以製作化妝品、藥物及油燈燃料等。
2. 橄欖油的顏色由兩種色素決定。一種是綠色的，叫做葉綠素，另一種叫做類胡蘿蔔素，是黃色的。葉綠素有著十分重要的作用，使植物有著綠色的外表和幫助植物變茂

盛。橄欖油有多種顏色，提早收穫橄欖時，葉綠素特別強烈，使油呈深綠色。隨著收穫的時間順序，橄欖油的顏色會變成更淺、更亮的綠色。[10] [Facts About the Color of Olive Oil That Will Blow Your Mind]

### 3. 營養價值:

- (1) 一湯匙橄欖油含有 9.86 克單不飽和脂肪、1.42 克多不飽和脂肪和 1.86 克飽和脂肪。儘管大部分脂肪都是有益脂肪，但由於它的熱量密度很高，因此控制攝入量仍然有益。
- (2) 每 3 ml 橄欖油中大約含有 1.9 毫克維生素 E。維生素 E 有助於保護我們的細胞免受自由基侵害，同時增強免疫力並防止血液在血管內凝結，從而保持細胞健康。同樣數量的橄欖油還含有 8.1 微克的維生素 K。這種維生素在許多功能中發揮作用，其中一些功能包括血液凝固、骨骼代謝和骨骼礦化。食用橄欖油可提供微量鉀，每湯匙約 0.1 毫克。鉀支持腎臟和心臟的健康功能；它還在肌肉收縮中發揮積極作用。
- (3) 增強免疫力：橄欖油富含維生素 E，這是一種脂溶性維生素，在免疫和疾病預防中發揮作用。一些研究還表明，在您的飲食中加入橄欖油可能有助於控制免疫炎症性疾病，例如類風濕性關節炎和炎症性腸病。
- (4) 改善心血管的健康：改善心血管健康 橄欖油中的多酚可能有助於保護心臟。這是因為多酚可以阻止血小板聚集在一起，這是心臟病發作的一個原因。根據研究，每天食用半湯匙以上的橄欖油可降低患心臟病的風險。橄欖油含有最高百分比的單不飽和脂肪，可降低血壓，並提供具有抗炎和抗氧化特性的植物化合物，可起到保護作用對抗疾病，包括心臟病。
- (5) 維持膽固醇的平衡：橄欖油富含單不飽和脂肪，已證明可增加「好膽固醇」或 HDL，並降低「壞膽固醇」或 LDL。雖然身體確實需要一些膽固醇來保持細胞和荷爾蒙的健康，但高膽固醇水平會增加心臟病發作和中風的風險。
- (6) 抗炎性：CRP（C 反應蛋白 C-Reactive Protein 是由肝臟生成的血漿蛋白，主要被當作發炎的指標）水平是體內存在炎症的代表。一些研究表明，在飲食中添加特級初榨橄欖油（每天約一到兩湯匙）可以降低 CRP 來產生抗炎作用。
- (7) 保護大腦功能：研究表明，食用橄欖油可以防止認知能力下降。隨著年齡的增長，認知能力自然會減慢，並且可能更難回憶起某些事情，這一點變得更加重要。對橄欖油的研究表明，食用橄欖油的人每天超過半湯匙的阿茲海默症發病率往往較低。目前已發現  $\beta$ -澱粉樣蛋白斑（Beta-Amyloid Plaque）在大腦細胞的推積，是造成阿茲海默症的主要原因，而在一項在動物實驗中發現，橄欖油能夠去除這種蛋白斑。[13] [Barbie Cervoni MS, RD, CDCES, CDN.2022]

## (五) 橄欖油好壞辨別

1. 橄欖油顏色差異：橄欖油的顏色並不能說明其品質。根據氣候和橄欖的成熟度，橄欖油的顏色從深綠色到 金黃色都有，而橄欖油的流動性能說明其所含成分，可以將約兩湯匙橄欖油倒入藍色鈷玻璃杯中，並旋轉玻璃杯，再將其放在光線下以觀察油的流動的情況。高品質特級初榨橄欖油具有中等流動性至低流動性，並且含大量健康的單不飽和脂肪酸而顯得較厚。
2. 橄欖油味道差異：特級初榨橄欖油的香味是一種果味和新鮮青草香的混合。它可能會讓您聯想到剛剛切碎的草藥的味道。無論是什麼油，如果發出酸味、黴味或金屬氣味及油耗味，都很可能已經變質。
3. 橄欖油口味差異：特級初榨橄欖油的口味會讓人聯想到新鮮的橄欖味，帶有一些果味、青草味，還伴有微微苦澀的餘味，吞嚥時有微刺感。然而，這種類似苦味的味道代表著橄欖油含有天然多酚（抗氧化劑），天然多酚可增強我們身體的抗氧化能力，降低患多種慢性疾病的風險。

[14] [張佩蓉. (2016). 橄欖油的顏色，深色比淺色好？]

## 貳、研究設備與器材

### 一、研究設備及器材

<p>實驗 材料 及藥 品</p>				<p>丙酮 (萃取液)</p>
	<p>A 牌橄欖油</p>	<p>B 牌橄欖油</p>	<p>菠菜 (萃取葉綠素)</p>	
<p>實驗 器皿 及耗 材</p>	<p>分光片、膠帶、卷尺、剪刀、鋁箔紙、電線、3 號電池、黑紙、製作 3D 列印線材、載玻片</p>			
<p>實驗 儀器</p>	<p>筆記型電腦、自製光譜儀、加熱板、電晶爐、微量滴管 (Research Plus)、屏幕、光柵、3D 列印機、雷射頭、熱電偶溫度計</p>			
<p>軟體</p>	<p>OriginPro、Tracker、TinkerCAD、XMind</p>			



## 參、研究過程與方法

### 一、實驗架構圖

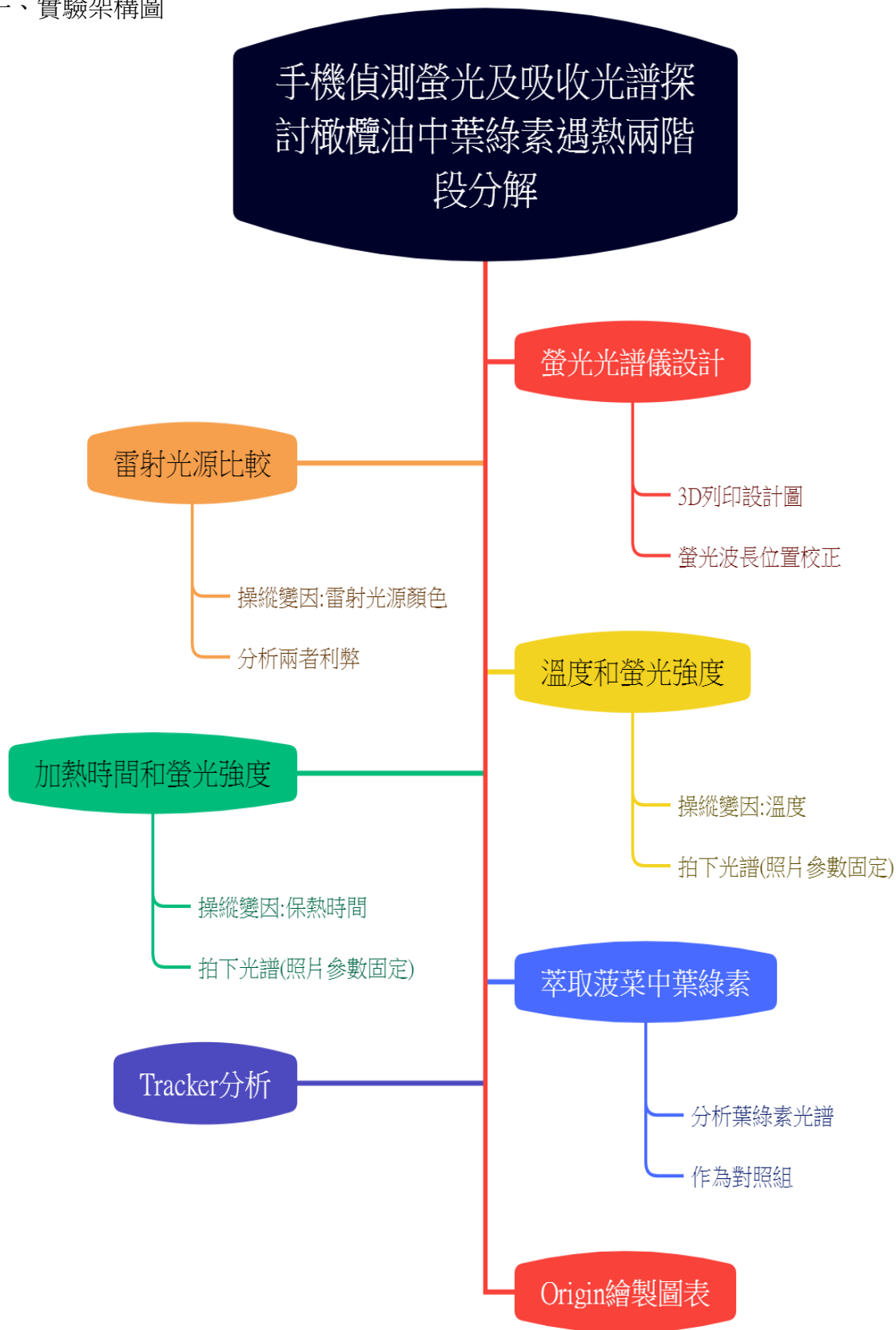


圖 4. 研究架構圖

## 二、螢光/穿透光譜設計

目的：用 3D 列印製作出一個可以同時、及時量測做螢光光譜及吸收光譜的簡易裝置。

### (一) 全部架設

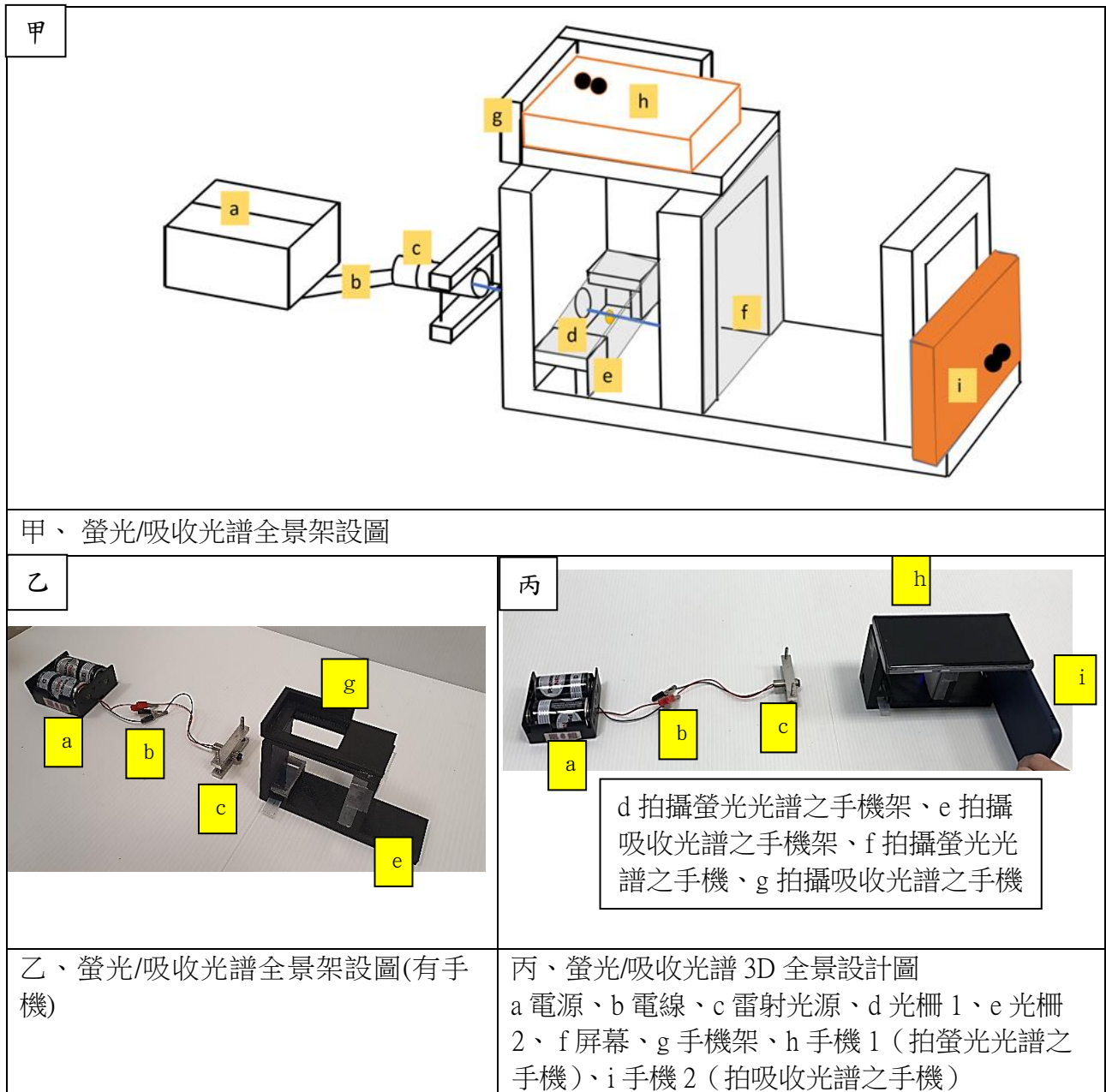


圖 5. 自製螢光及吸收光兩用光譜儀的架設

說明：

1. 雷射頭通電後，發出雷射光。
2. 當雷射光照射到油滴位置時，激發出螢光，透過光柵 1 可看見橄欖油之螢光光譜，使用手機 1 拍下在光柵 1 上的螢光光譜。
3. 當雷射筆照射到油滴位置時，穿透油滴，透過光柵 2 開始分光，位置則會出現在 f 屏幕上，利用手機 2 拍下屏幕上的吸收。
4. 最後，利用 Tracker 及 Origin 軟體分析螢光光譜。

(二) 微量橄欖油滴樣本

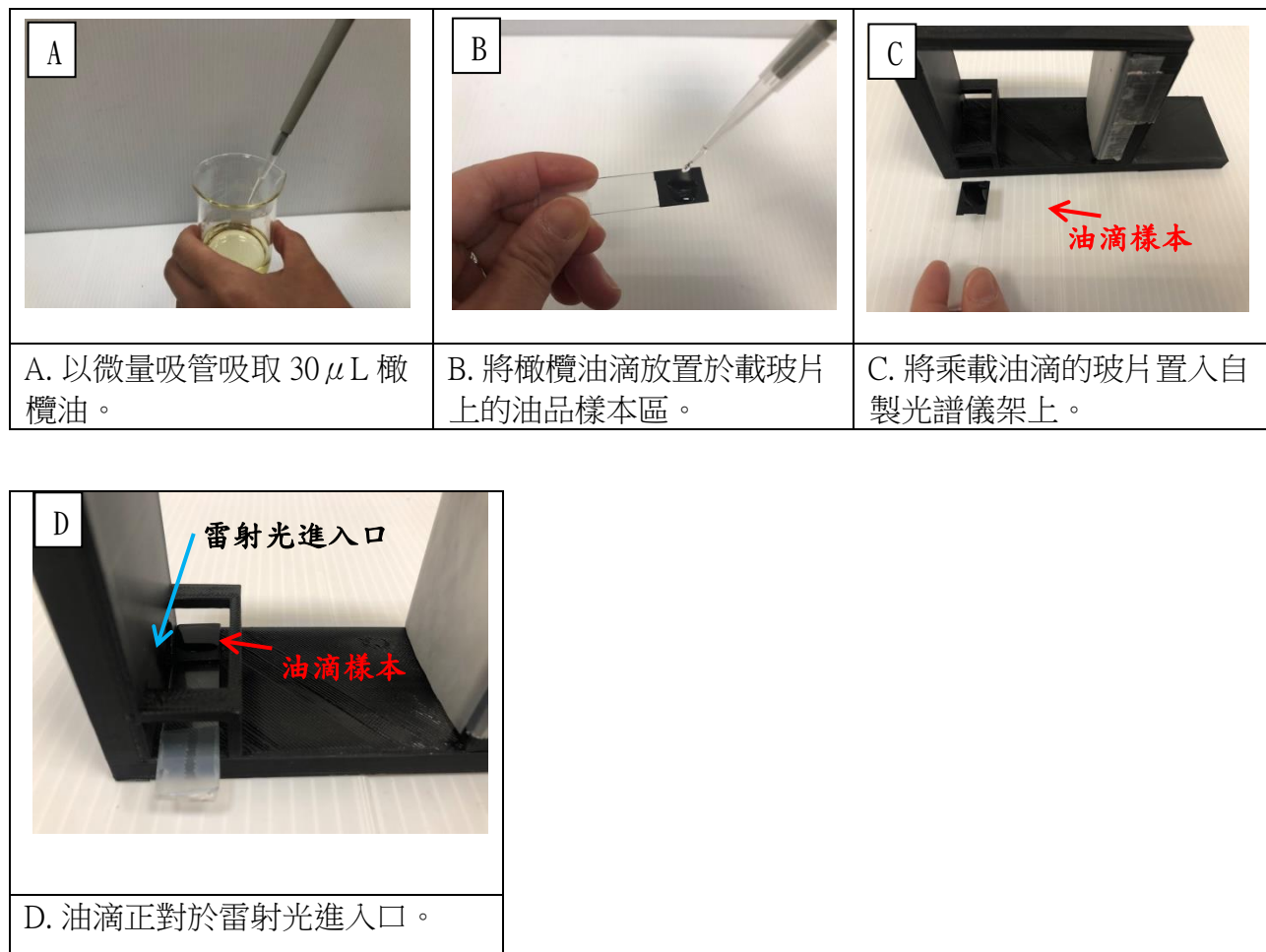


圖 6. 以微量橄欖油測定之螢光光譜的步驟

(三) 光譜儀雷射光光線路徑示意圖

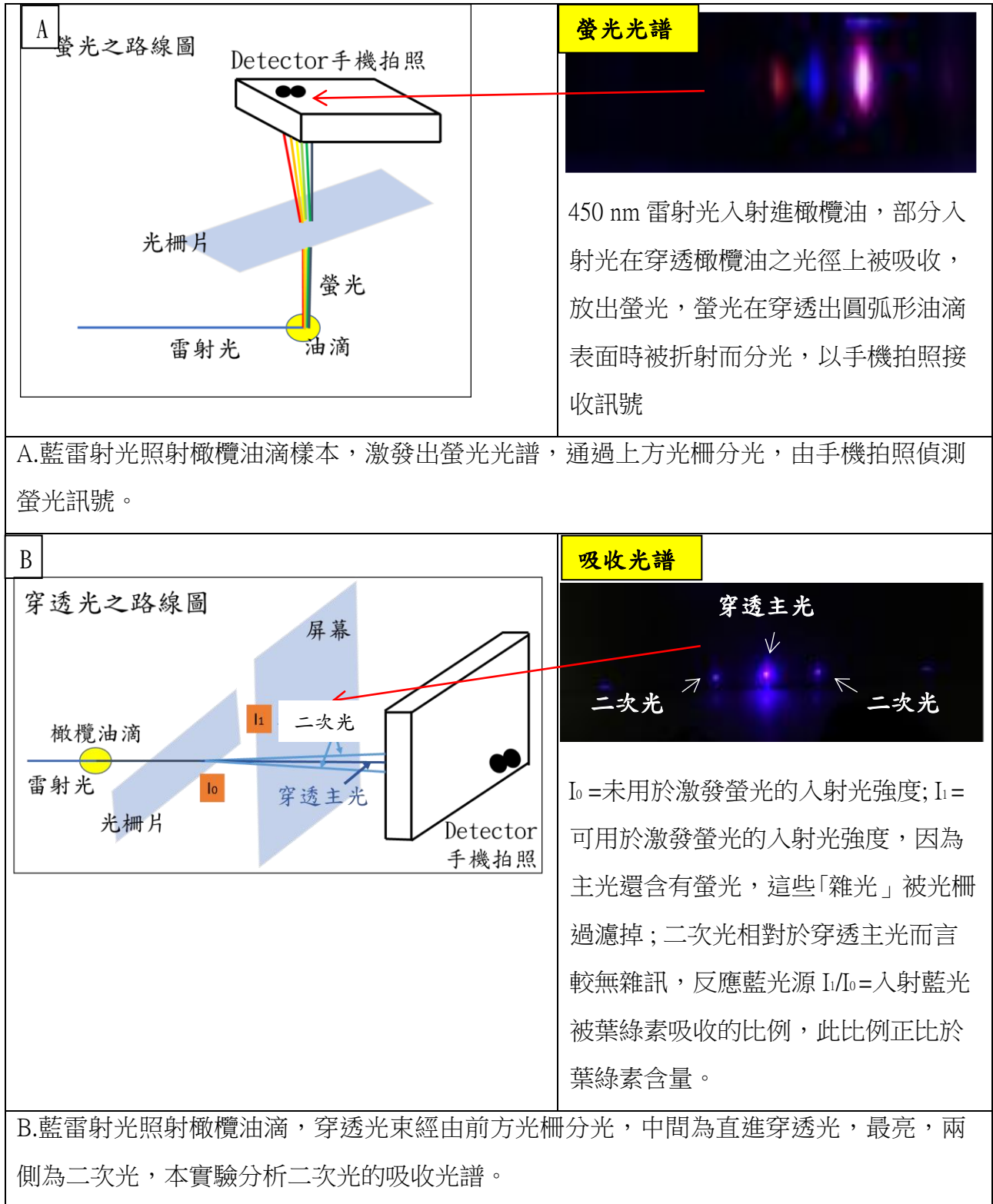


圖 7. 螢光以及穿透光之光路徑圖

#### (四) Tracker 分析光譜強度分布

目的：以軟體 Tracker 分析自製光譜儀測量螢光光譜之螢光強度

1. 將手機照片匯入（以 55°C 為例）。
2. 圖 8 A~F 紅框裡有要標示出紅光與藍光波長位置的校正點，以定位所拍攝的光譜波長。

**A. 先利用 ppt 將多張光譜螢光位置對齊**

**B. 在 tracker 中開啟圖片，並新增座標軸**

**C. 更改單位**

**D. 新增一對校正點**

**E. 分析螢光強度**

**F. 輸出所選數據即可**

圖 8. Tracker 軟體分析數據的步驟

## (五) 葉綠素萃取

目的：以丙酮萃取菠菜中的葉綠素，作為橄欖油中的葉綠素螢光光譜對照。

步驟：

1. 用微量天平秤取寄主菠菜 1.00 g，置於研鉢中，磨碎成漿狀，加 10 ml 80%丙酮萃取葉綠素，用濾紙過濾。
2. 將濾出的溶液盛於三角瓶中並加蓋，再在濾紙上的殘渣重複磨碎、過濾，直到殘渣中的綠色色素全部被抽出為止。
3. 以 10 ml、80%丙酮洗下留在研鉢中的綠色色素，將綠色抽取液均盛於同一三角瓶，以 80%丙酮稀釋至總體積為 100 ml。
4. 取出一滴的葉綠素，滴在載玻片上，透過光柵片拍下葉綠素之螢光光譜。
5. 使用 Tracker 分析光譜並取得光譜數據及利用 Origin 製作圖表。最後在使用積分分析量化。
6. 同 4 和 5 步驟，取一滴橄欖油，透過光柵片拍下其螢光光譜。

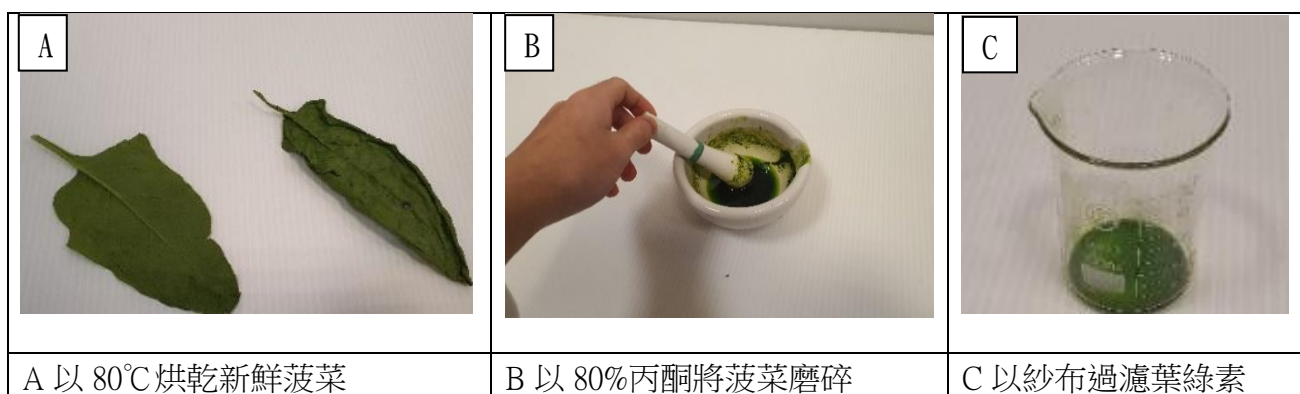


圖 9. 菠菜葉綠素萃取步驟

## 肆、研究結果

一、探討不同色光雷射光源對葉綠素螢光光譜強度之比較，並取得校正螢光光譜的位置

步驟：

1. 使用三種紅色雷射光源（650 nm）、藍色雷射光源（450 nm）、綠色雷射光源照射油滴
2. 在光柵片上方拍下橄欖油之螢光光譜
3. 使用 Tracker 分析光譜並取得光譜數據及利用 Origin 製作圖表。最後在使用積分分析量化。

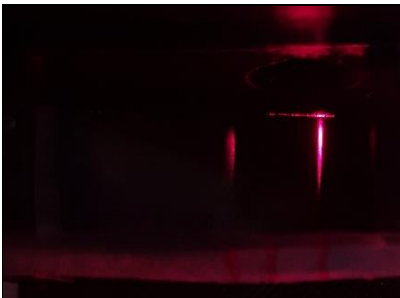


圖 10. 以紅雷射光激發橄欖油光譜

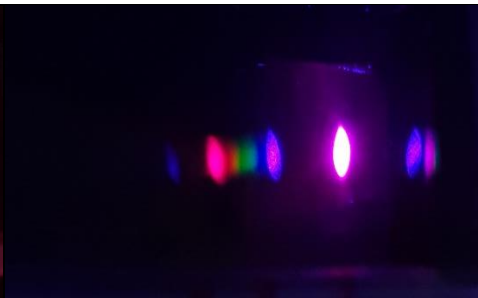


圖 11. 橄欖油螢光光譜（藍色雷射光激發）

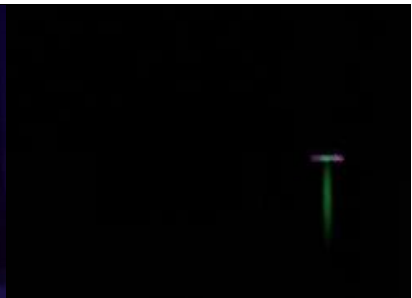


圖 12. 以綠雷射光激發橄欖油光譜

結果：

由此實驗可知，以藍雷射光照射橄欖油，才能激發出螢光（圖 8）。紅、綠雷射光不會激發橄欖油發出螢光。

二、以自製螢光及吸收光雙功能光譜儀探討菠菜植物色素的螢光光譜

步驟：

1. 萃取菠菜葉綠素，以本研究開發之兩用光譜儀偵測其螢光光譜，並與文獻資料比對作為橄欖油葉綠素螢光光譜之參考。

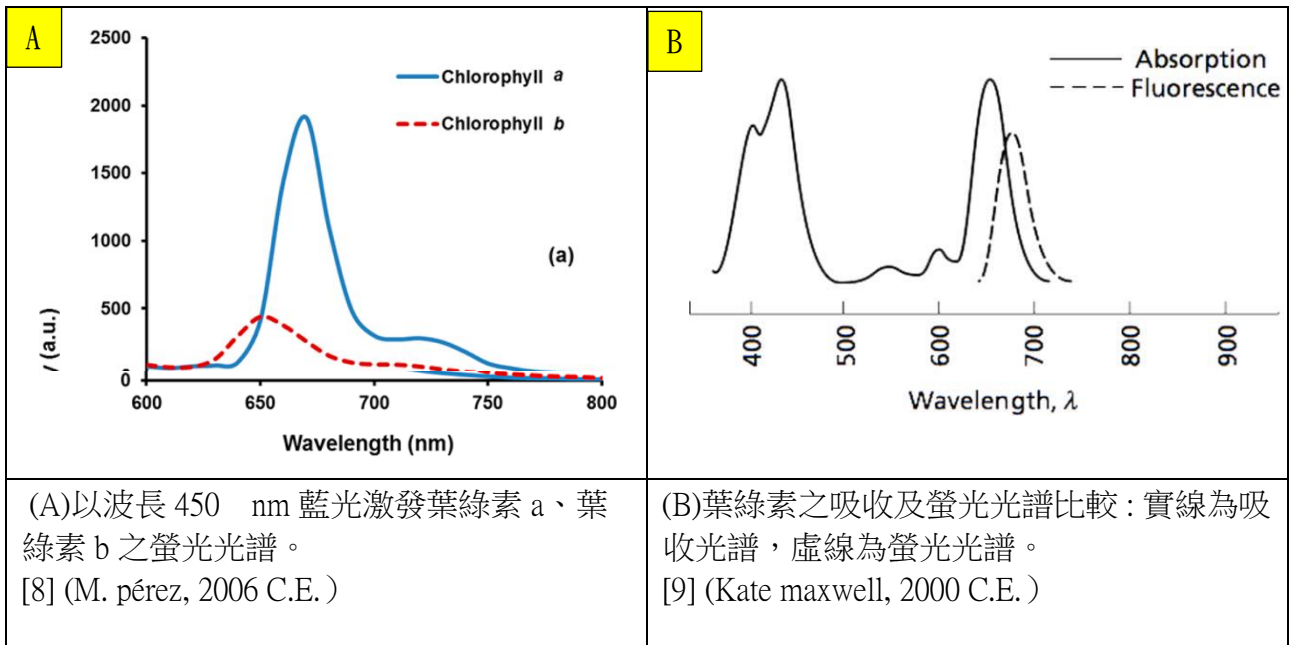
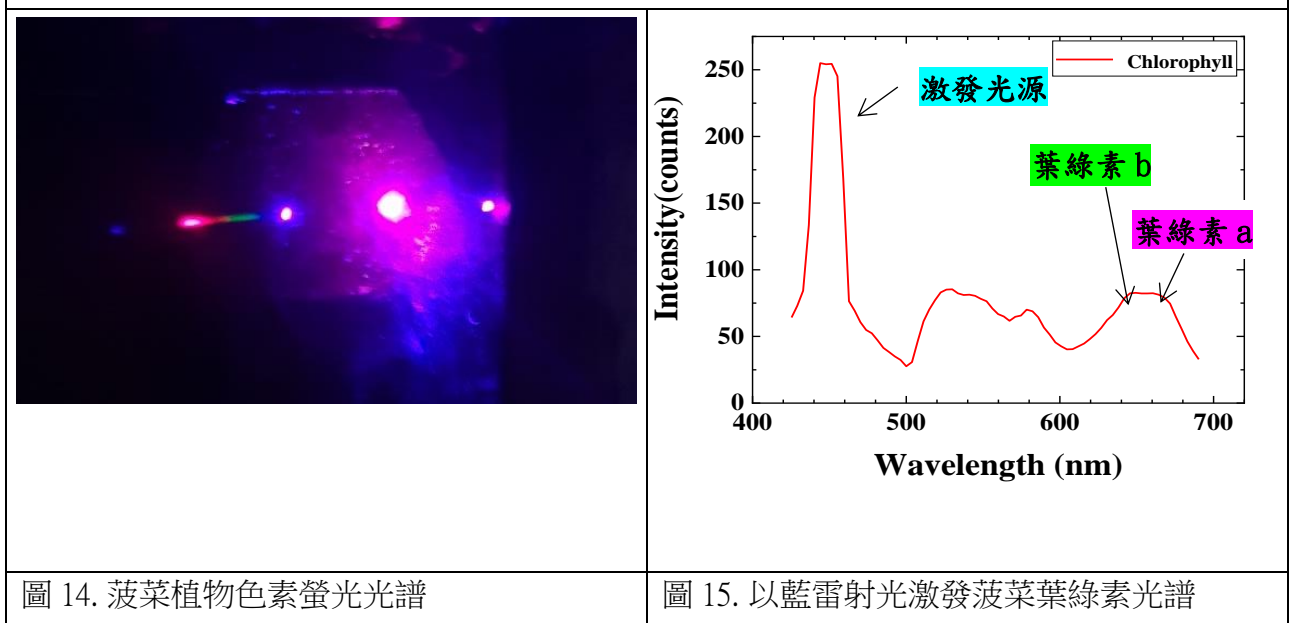


圖 13. (A)葉綠素 a、葉綠素 b 之螢光光譜 (B)葉綠素之吸收及螢光光譜比較



結果：

為解讀以本研究兩用光譜儀製作之橄欖油螢光光譜峰值意義，萃取常見的菠菜葉綠素，並製作其螢光光譜為對照(圖 15)，加上文獻資料佐證(圖 13 (A)(B))。實驗結果發現，葉綠素之螢光光譜與吸收光譜有明顯的不同。受適當光源照射後葉綠素發出波長 620~680 nm 之紅光，而吸收光譜則是在波長 440 nm 之藍光以及 660 nm 紅光有明顯吸收。



## 二、探討橄欖油在不同溫度時葉綠素螢光強度的變化

步驟：

1. 為固定加熱效率，以加熱板加熱橄欖油，20°C 加熱至 100°C (A 牌) 170°C (B 牌)，總共耗時約 5~6 分鐘。
2. 每 10°C 時取一次的橄欖油。
3. 將每 10°C 取一次橄欖油，滴至兩用光譜儀的樣本位置，上方手機對準光柵片拍下橄欖油之螢光光譜，前方手機同時拍下透過前方光柵片之吸收光譜。以 Traker 和 Origin 軟體進行螢光強度分析且將數值進行積分量化，重複此實驗三次。

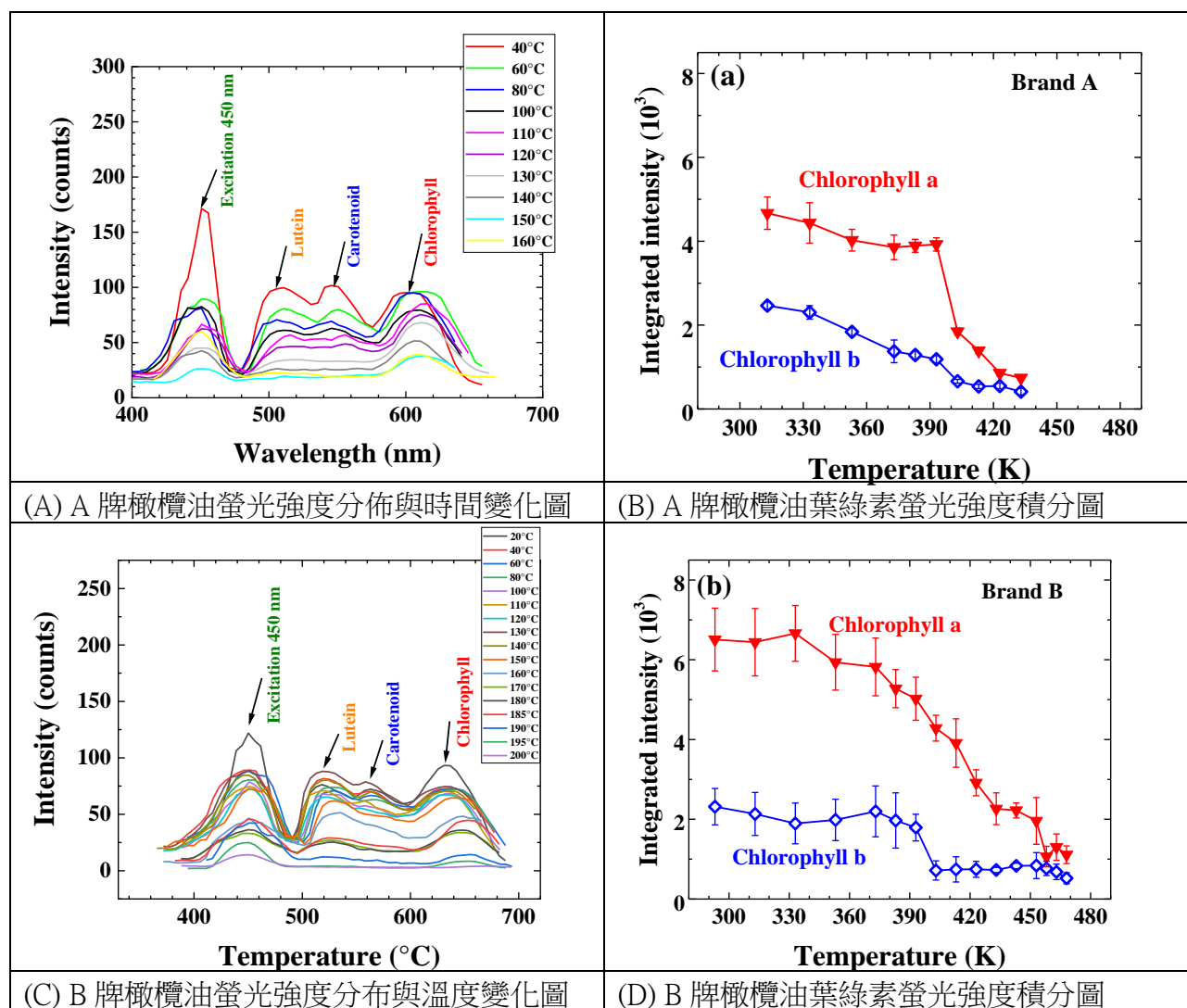


圖 16. A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析

結果：

1. A 牌橄欖油中葉綠素 a 含量為葉綠素 b 含量的 1.9 倍(圖 16. B)，而 B 牌橄欖油中葉綠素 a 含量為葉綠素 b 含量的 3.2 倍(圖 16. D)。
2. 純葉綠素熔點為 150°C，純葉綠素 b 熔點為 125°C。
3. 加熱使得葉綠素中央的鎂離子被氫離子取代，稱為脫鎂。

- A 牌橄欖油加熱到 393K(120°C)，葉綠素 a 及葉綠素 b 含量即大幅減少(圖 16. B)。B 牌則橄欖油加熱到 393K(120°C)，葉綠素 b 含量大幅減少，而葉綠素 a 含量僅逐漸減少，在 473K(200°C)仍保有 15%(圖 16. D)。
- 橄欖油中的油大幅提升葉綠素的降解溫度。
- B 牌橄欖油中的油保存葉綠素的效率比 A 牌者高甚多，而能在 200°C 仍能保存油中的葉綠素。

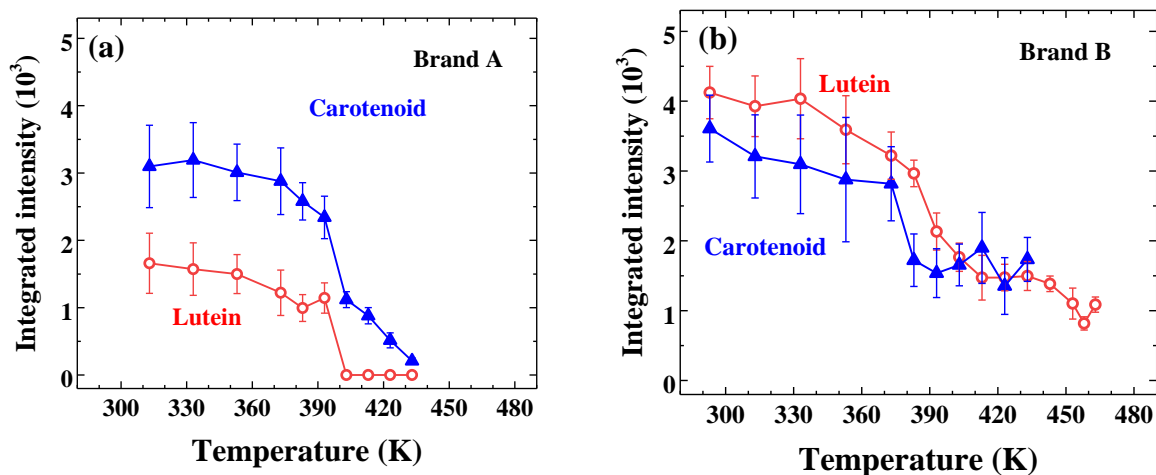


圖 17.(a) A 牌橄欖油葉黃素即類胡蘿蔔素螢光光譜  
(b) B 牌橄欖油葉黃素即類胡蘿蔔素螢光光譜

- 室溫時，B 牌橄欖油中葉黃素含量為 A 牌橄欖油的 2.5 倍(圖 17. a、b)。
- A 牌橄欖油加熱到 403K，葉黃素全被降解消失(圖 17. a)。
- B 牌橄欖油加熱到 473K，葉黃素保有 25%，而類胡蘿蔔素保有 50% (圖 17. b)。

四、A、B 牌橄欖油隨溫度變化之吸收光譜

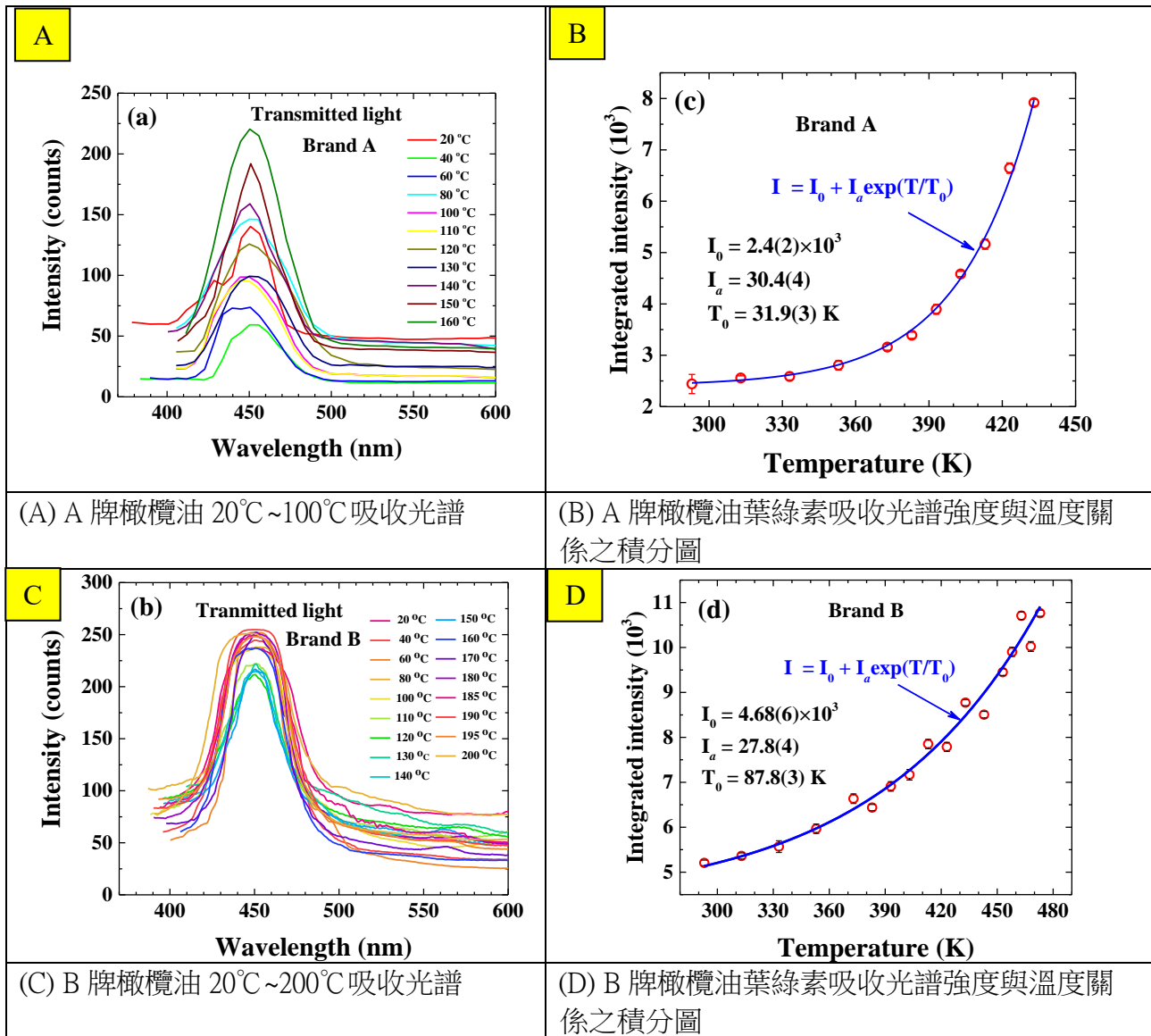


圖 18. A、B 牌橄欖油葉綠素吸收光譜分析

結果：

1. A 牌及 B 牌橄欖油的透射光強度，隨油滴的溫度昇高而逐漸變強，顯示油滴溫度越高用於激發螢光的入射光越少(圖 18. A、C)。
2. 升高油滴溫度會減少油滴中葉綠素及類胡蘿蔔素的含量。
3. 透射光強度隨油滴溫度的變化曲線，可以用指數函數描述： $I = I_0 + I_a \exp(T/T_0)$ 。(圖 18. B、D)
4.  $I_0$  = 未用於激發螢光的入射光強度
5.  $I_a$  = 可用於激發螢光的入射光強度
6.  $T_0$  = 橄欖油中葉綠素及類胡蘿蔔素的熱分解係數
7. A 牌橄欖油  $T_0 = 31.9 \text{ K}$ ；B 牌橄欖油  $T_0 = 87.8 \text{ K}$
8. B 牌橄欖油中葉綠素的熱分解係數僅為 A 牌的  $(31.9/87.8) = 0.36$  倍。

五、探討定溫時，不同加熱時間對於橄欖油之螢光光譜強度的影響

步驟：

1. 根據溫度實驗找出螢光在哪一溫度開始會消失，加熱至此溫度減 10 度後保持溫度加熱。
2. 每 1 分鐘取一次橄欖油，加熱實驗進行至螢光消失。
3. 同 1.之步驟，再往下每次 10 度，取至最低溫 35 度為止，取樣本的週期可逐漸增加。
4. 最後以 Tracker 和 Origin 軟體進行螢光強度分析且將數值進行積分，重複實驗三次。

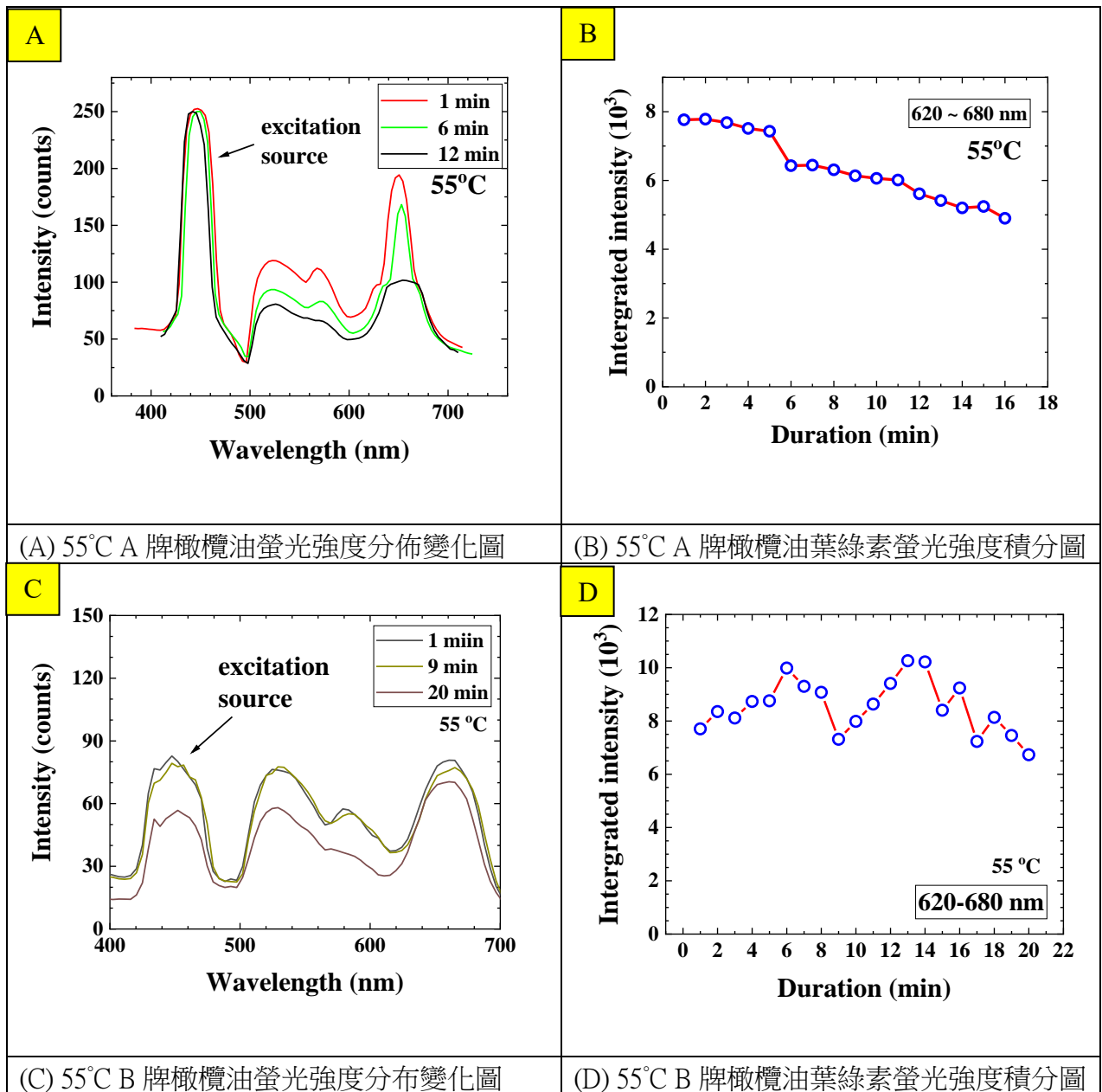
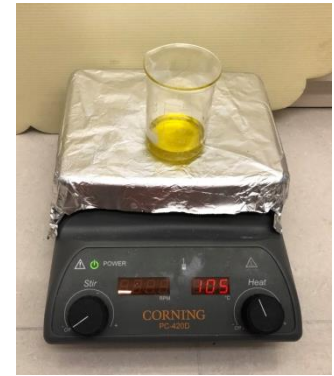


圖 19. 55°C A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析

結果：

1. 光譜強度出現二階段減弱，顯示 A 牌葉綠素分解速度分成兩階段（圖 14. B）。
2. 55°C 時，加熱前 1~6 分鐘，主要是葉綠素 b 減弱，但並非已全部分解。
3. 在 55°C，加熱 5 分鐘，可以看到 A 牌部分葉綠素開始第一階段分解。
4. 55°C 加熱 16 分鐘後，A 牌減少約 35 %。B 牌葉綠素含量相對穩定，減少約 10%

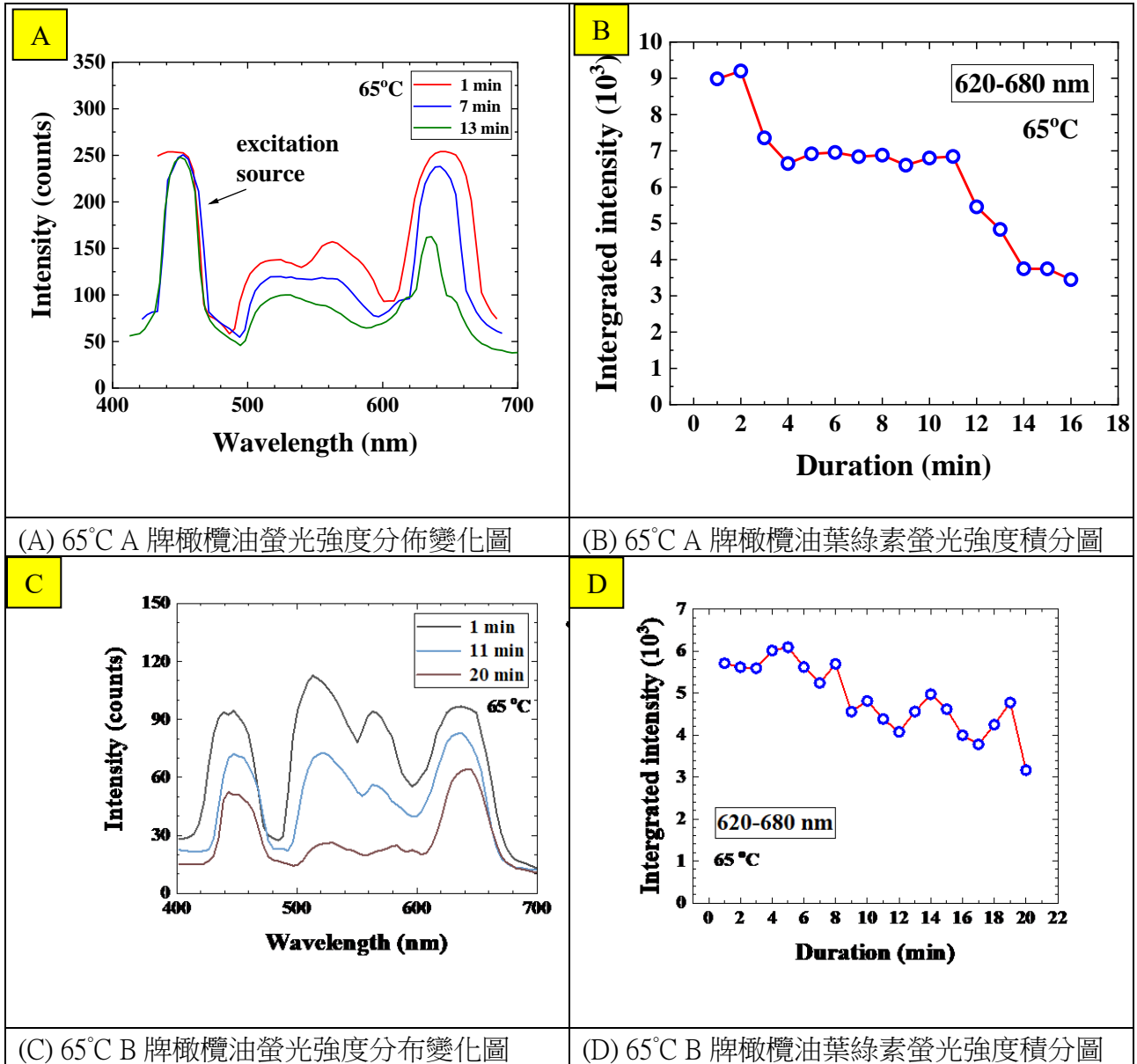


圖 20. 65°C A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析

結果：

1. A 牌葉綠素光譜強度出現二階段減弱（圖 20. B）。
2. 在 65°C，加熱 2 分鐘，明顯看到部分 A 牌葉綠素開始分解（圖 20. B）。
3. 加熱 12 分鐘後，明顯看到 A 牌葉綠素第二階段分解（圖 20. B）。
4. 加熱 16 分鐘後，A 牌葉綠素減少約為 60 %（圖 20. B）。
5. 加熱 20 分鐘之後，B 牌橄欖油葉綠素約減少 50%，耐熱度較 A 牌佳（圖 20.D）。

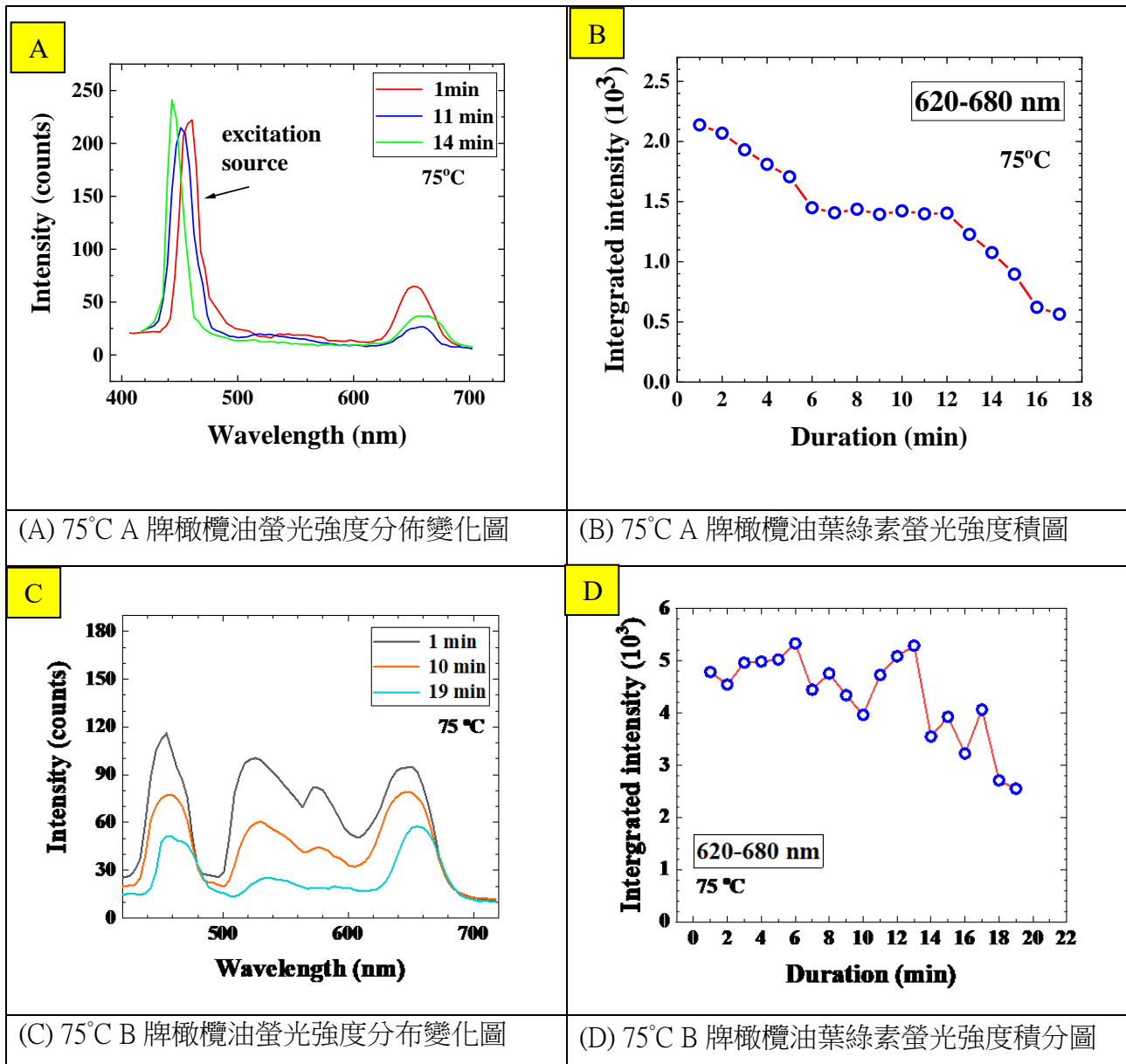


圖 21. 75°C A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析

結果：

1. 75°C時，加熱12分鐘後，葉綠素a開始分解，加熱16分鐘後，減少約75%（圖21.B）。
2. B牌葉綠素於75°C加熱的耐熱效果仍然比A牌佳。

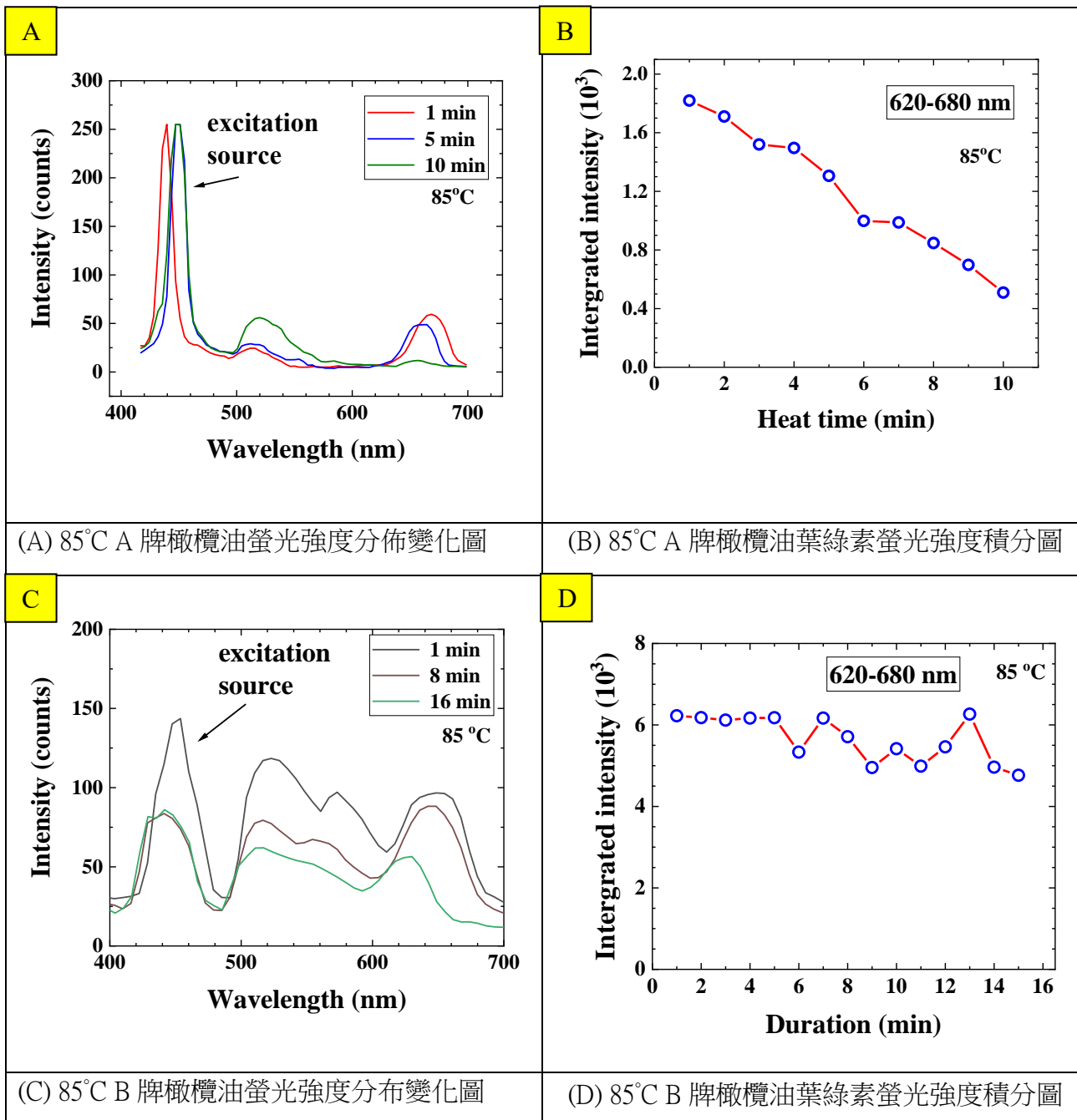


圖 22. 85°C A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析

結果：

1. A 牌葉綠素光譜強度已出現一階段減弱。
2. 在 85°C，加熱一開始就看到 A 牌部分葉綠素開始分解，加熱 16 分鐘後，減少約 75%。
3. B 牌橄欖油 85°C 加熱 15 分鐘後約下降 20%。

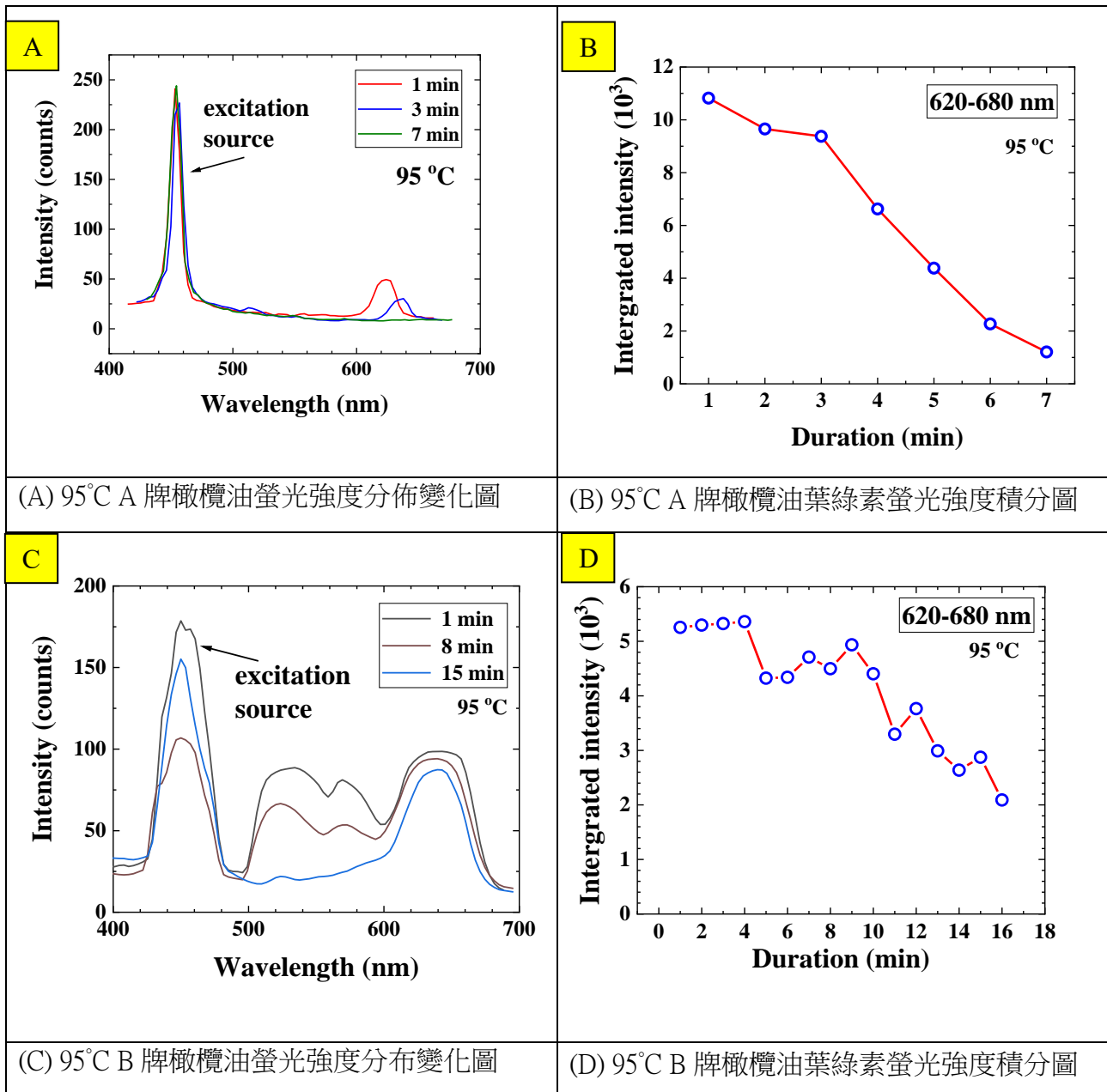


圖 23. 95°C A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析

結果：

1. A 牌 95°C 加熱 3 分鐘以後，光譜訊號急速減弱，顯示葉綠素已急速分解。
2. A 牌 95°C 加熱 7 分鐘後，已無葉綠素光譜訊號。
3. B 牌 95°C 加熱 16 分鐘後，約剩下 40%。



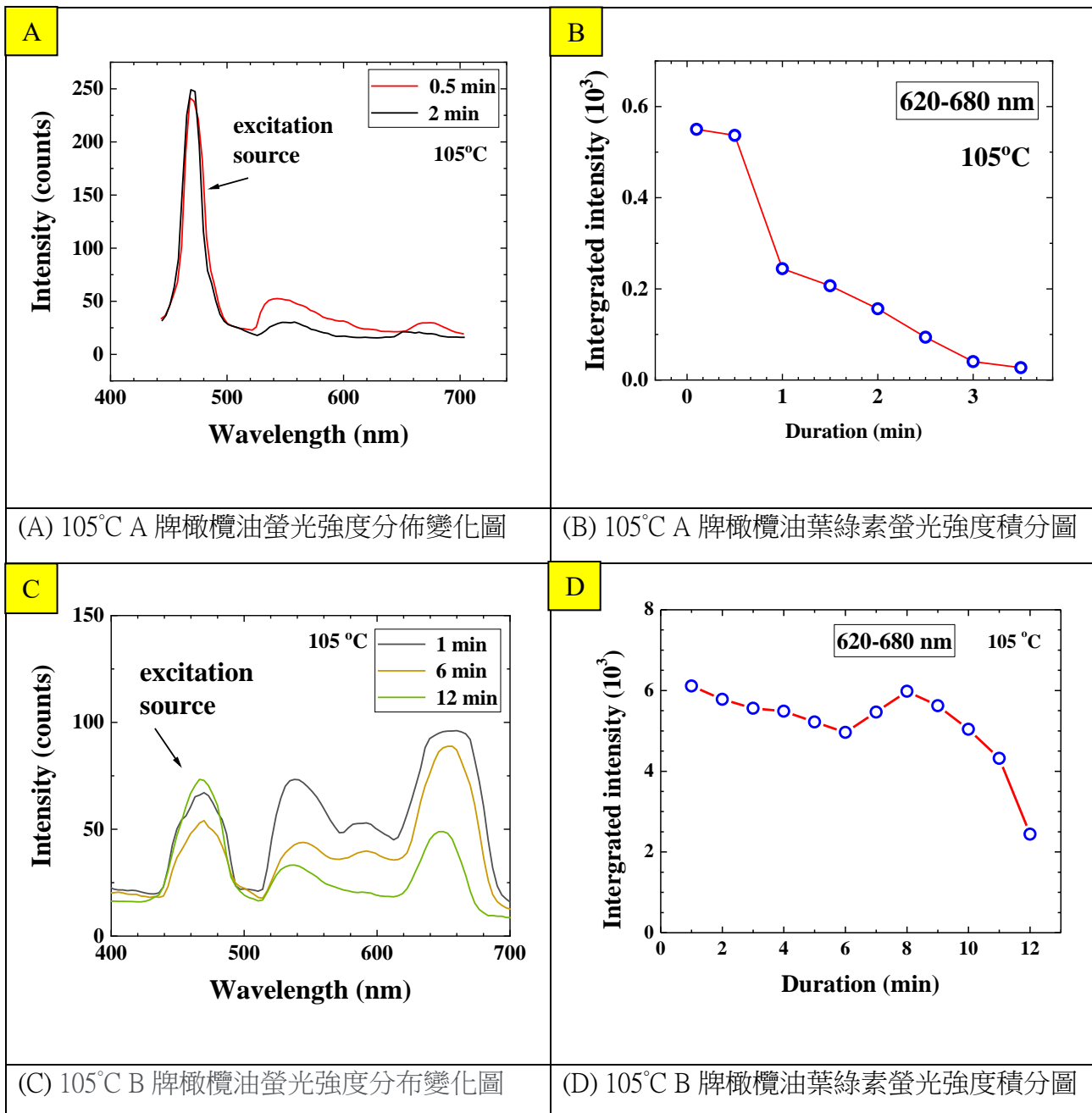


圖 24. 105°C A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析

結果：

1. A 牌 105°C，加熱 1 分鐘以後，葉綠素已 50% 分解。
2. A 牌 105°C 加熱 3 分鐘後，葉綠素已全數分解。
3. B 牌 105°C 加熱 12 分鐘後，葉綠素已分解剩 36%。

六、A、B 牌橄欖油定溫加熱葉綠素螢光強度積分比較：

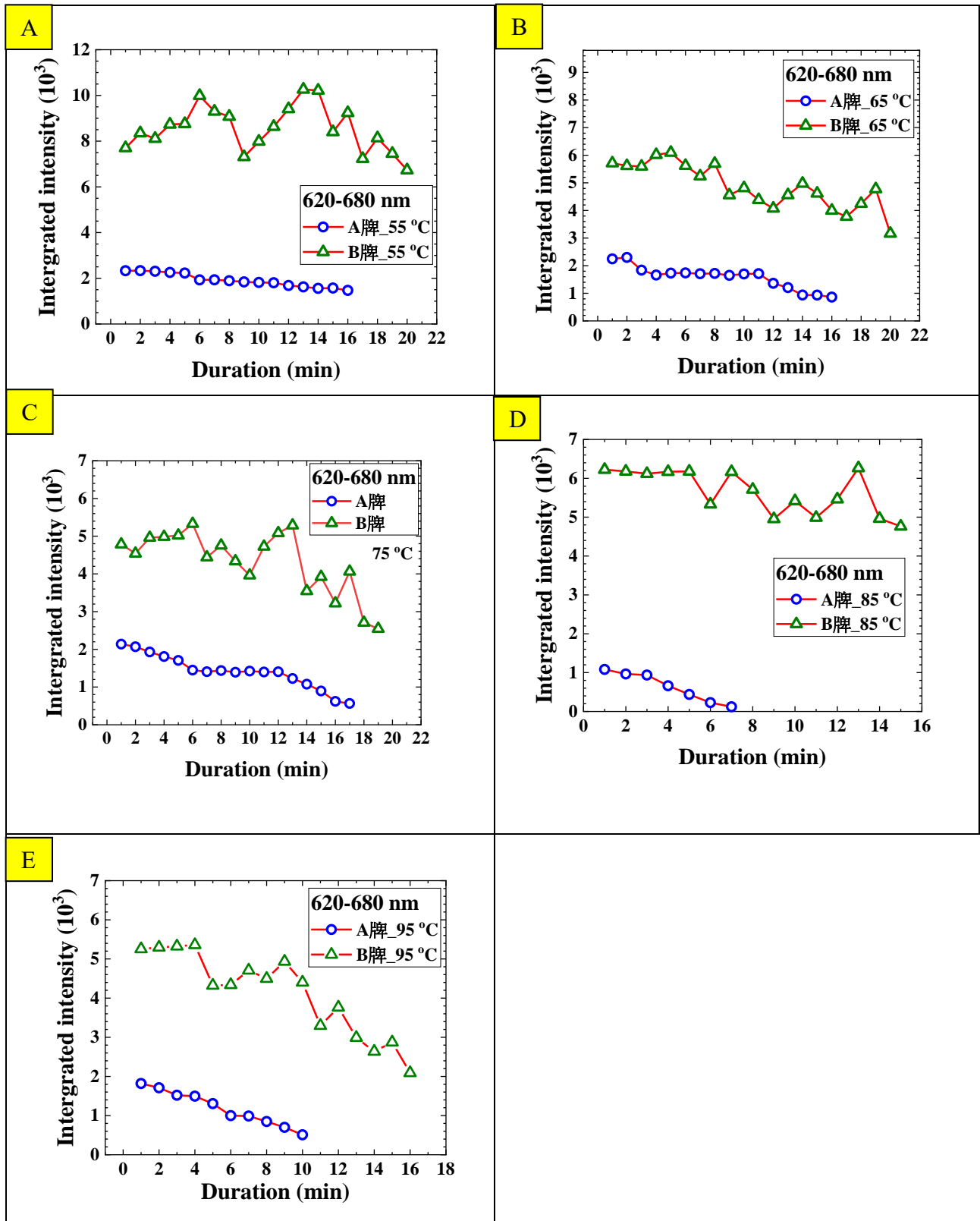


圖 25. A 牌橄欖油、B 牌橄欖油葉綠素螢光光譜分析比較

結果：

1. 圖 25 (A)~(E)中螢光光譜強度，是由 450nm 藍雷射光入射進一滴油所激發出的螢光，在油滴正上方偵測所得。
2. 若油滴中葉綠素含量為均勻分布，積分螢光光譜強度正比於油滴中葉綠素的含量。
3. 葉綠素 a 及葉綠素 b 的螢光譜線未被光柵清楚分離，圖中積分螢光光譜強度顯示葉綠素 a 及葉綠素 b 的總含量。
4. A 牌的葉綠素含量明顯比 B 牌高許多，外觀上看也比較綠(如下圖所示)。
5. 圖 C 可知溫度剛達 75°C 時，A 牌的葉綠素含量是 B 牌的 $(5/2)=2.5$  倍。
6. 圖 E 可知溫度剛達 95°C 時，A 牌的葉綠素含量是 B 牌的 $(6/1)=6$  倍。
7. 圖 E 可知在 95°C，6 分鐘後，A 牌的葉綠素已全然分解消失。
8. 圖 25(D)可知，在 105°C，12 分鐘後，B 牌的葉綠素僅分解剩下 36%。



圖 26. A 牌與 B 牌橄欖油之外觀比較

## 伍、討論

### 一、螢光及吸收雙功能光譜設計重點

(一) 製作簡易：3D 列印支架、藍雷射光（600 元）、光柵（15.2\*15.2 公分 = 台幣 120 元）、描圖紙當屏幕、載玻片乘載油滴、兩台手機收偵測光譜。

(二) 可檢測微量樣本：只需要 30  $\mu$ l 橄欖油。

(三) 可同時檢測螢光以及吸收光譜：

一般市售光譜儀只能檢測螢光或吸收光譜，而且價錢高昂，動輒數十萬。本研究開發之螢光以及吸收兩用光譜儀，應用光譜儀原理，設計螢光激發以及穿透光線路徑分開裝置，利用兩個光柵分光以及兩台手機收光，成功架設螢光及吸收兩用光譜儀。

### 二、光譜儀比較

	特色	價錢
本研究螢光吸收光雙功能光譜儀 Fluorescence Absorbance Spectrometer (FASP)	可以同時偵測螢光以及吸收兩光譜	不到 1000 元 台幣 (手機價錢不算)
紫外線-可見光-全波段光譜儀	可測試樣本波長 200~1000 nm 全波段吸收光譜，製作出連續的光譜譜圖	台幣 20 萬~60 萬不等
螢光光譜儀	測量分析物質的放射光總量	台幣 60 萬起跳
固定波長按鍵式吸收光譜儀	可輸入固定波長檢測段快速獲得吸收光數值	台幣 5 萬~10 萬
FTIR 傅立葉轉換紅外光譜儀	可用來獲得固體、液體或氣體的紅外線吸收光譜和放射光譜的技術。傅立葉轉換紅外光譜儀同時收集一個大範圍範圍內的光譜數據。	台幣 60 萬

### 三、葉綠素加熱變化

用本實驗的兩用螢光吸收光譜偵測 A 牌與 B 排橄欖油，皆可以看到兩段式的螢光強度下降，與橄欖油加熱後葉綠素結構改變相關。葉綠素容易受加熱影響，而且葉綠素 a 的熔點約為 150°C，葉綠素 b 熔點約為 125°C，但是在 100°C 高溫長時間加熱狀況下，以藍雷射光照射，葉綠素 a 與 b 的螢光強度皆同時下降，且整體的螢光積分數值，呈現兩階段式下降。因此，我們推論橄欖油葉綠素在烹煮加熱的過程或酸性環境下，葉綠素會進行脫鎂反應，葉綠素中央的鎂離子會被氫離子取代使原來的綠色轉變為深橄欖綠。再繼續加熱，會變成焦脫鎂葉綠素，比脫鎂葉綠素，少了  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ 。

#### 四、螢光/吸收雙功能光譜儀使用時注意事項

- (一) 實驗架設之位置在實驗開始後即不能變動，雷射光源螢光波長位置校正可使 Tracker 取螢光強度分佈數據時避免早成螢光波長位置偏差，進而使 Origin 繪製圖表時更加準確。
- (二) 使用 Tracker 分析光譜圖數值時須對準校正點使每個螢光光譜都有一樣的校正位置，以免造成使用 Origin 時造成不便，較不會產生數值上及不同圖片取數值之誤差存在。
- (三) 由於光譜中紅色螢光及藍色螢光亮度最為明顯，因此螢光強度較大，對比實驗數據圖後，發現藍色螢光強度變化較明顯。
- (四) 因為從 Origin 繪製的圖表看不出其螢光的確切強度，因此需要透過積分的方式，也就是求區域面積，將強度量化，較方便解讀。
- (五) 使用 Tinkercad 設計 3D 列印設計圖，需要考慮到拍攝裝置的規格，需要經過縝密的計算才能夠確定各邊長的長度，並設計能固定好手機的位置，方便維持照片的一致性。
- (六) 為了使實驗只有一個操縱變因，因此需要保證照片參數的一致性，因此需要將手機調為專業相機模式，並調好 ISO 值等參數（ISO 值：50、SPEED：0.25 sec），保證照片參數的一致，這樣才能保證實驗結果的準確性。

## 陸、結論與應用

- 一、實驗結果發現了藍光為較適合的雷射光源，通過特定雷射光源之食用油產生之光譜，會產生不同色光之吸收光譜及可分析出不同光的波長及吸光度。自製螢光及吸收光雙功能光譜儀能及時並同時偵測螢光光譜以及吸收光譜，探討橄欖油中組成結構的改變。
- 二、溫度越高，螢光能量越低，也造成紅色以及藍色螢光之間的強度越弱，因此，溫度對食用油中葉綠素的耐高溫效率尤其重要，在達到一定溫度，綠色螢光消失，代表葉綠素遭到破壞。
- 三、當溫度一定時，螢光強度會隨著保熱時間增加而減弱直至消失，因此，保熱時間對於螢光強度也是很重要的，在保熱一定時間之後，螢光會消失。
- 四、不同廠牌的橄欖油有不同的葉綠素含量及來源不同，葉綠素 a 與 b 的比例也不同，因此螢光光譜也會不一樣。本實驗結果顯示，B 牌橄欖油葉綠素耐熱較佳，而 A 牌橄欖油葉綠素含量較多。
- 五、當橄欖油的溫度到達臨界時，在積分後的螢光光譜分析上呈現降解的趨勢。由研究結果得知，B 牌橄欖油中葉綠素的熱分解係數僅為 A 牌的  $(31.9/87.8) = 0.36$  倍，加熱到 200 °C 仍保有 21% 葉綠素，而類胡蘿蔔素在油溫上升時，隨著溫度的增加而降解。
- 六、不論是 A 牌或 B 牌的橄欖油，建議以常溫涼拌或低溫快炒的方式，葉綠素變質或流失的情形較少。
- 七、以本研究開發的螢光/吸收兩用光譜儀，可以量化出隨溫度變化，葉綠素被破壞程度。未來可以量化其他營養物質因溫度或其他環境因素改變的變化情形，為一簡便、即時、低成本的檢測方式。

## 柒、參考文獻資料

- 一、劉敏莉；葉綠素螢光在作物耐熱性篩選之應用；高雄區農業改良場研究彙報 第 21 卷 第 1 期。
- 二、吳庭年（2012）。以雷射激發螢光系統建立國內油品特性光譜及風化效應影響之研究。崑山科技大學。
- 三、潘瑞熾（2008）。植物生理學。台北市。藝軒圖書出版社。
- 四、梅鎮安等（1995）。光合作用。台北市：淑馨出版社。
- 五、王月雲等（1993）。植物生理學實驗。台北市：藝軒出版社。
- 六、呂鉞香, 張明如, 鄒伶俐. (2015) 模擬酸雨與光強處理對苜蓿葉綠素及螢光特性的影響. 浙江農林大學學報, , 32 (1) :52-59.

- 七、Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2023, May 11). *Chlorophyll*. *Encyclopedia Britannica*
- 八、M. Pérez, Jaime A. Teixeira da Silva, & Maria Teresa Lao. (2006 C.E., December 0). Light Management in Ornamental Crops
- 九、Kate Maxwell, & Giles N. Johnson. (2000 C.E., March 0). Chlorophyll Fluorescence.
- 十、Facts About the Color of Olive Oil That Will Blow Your Mind
- 十一、Theppawut Israsena Na Ayudhya, Frederick T. Posey, Jessica C. Tyus Jessica C. Tyus This Person is Not on ResearchGate, or hasn't claimed this research yet., & Nin Dingra. (2015 C.E., February 0). Using a Microscale Approach To Rapidly Separate and Characterize Three Photosynthetic Pigment Species from Fern. [272366292](https://doi.org/10.272366292)\_Using\_a\_Microscale\_Approach\_To\_Rapidly\_Separate\_and\_Characterize\_Three\_Photosynthetic\_Pigment\_Species\_from\_Fern
- 十二、Arturo Alfonso Fernández-Jaramillo, Duarte-Galvan Carlos, Luis Miguel Contreras-Medina, Irineo Torres Pacheco, René de Jesús Romero-Troncoso, Ramón Gerardo Guevara-González, & Jesús Roberto Millán-Almaraz. (2012 C.E., December 0). Instrumentation in Developing Chlorophyll Fluorescence Biosensing
- 十三、Barbie Cervoni. (2022 C.E., December 15). *Olive Oil Nutrition Facts and Health Benefits*
- 十四、張佩蓉. (2016). 橄欖油的顏色，深色比淺色好？

## 【評語】 030207

本研究以兩枚光柵（600 條/ mm）、一 0.5mW 藍雷射光（450 nm）、兩台手機錄影偵測，搭配 3D 列印，利用自製螢光及吸收雙功能光譜儀，可迅速監控葉綠素的存在或分解，其中吸收光為排除雜訊，以光柵讀取 450 nm 的二次（second order）光，以 Tracker 軟體將光譜照片數位化。偵測一滴油 30  $\mu$ l 的橄欖油的及時螢光光譜配合二次吸收光譜，分析 2 種品牌橄欖油中葉綠素遇熱分解過程，發現橄欖油中葉綠素遇熱呈現兩階段式分解。透射二次光隨溫度變化曲線，可用指數函數表示，揭示 B 牌橄欖油中葉綠素的熱分解係數僅為 A 牌的  $(31.9/87.8) = 0.36$  倍，加熱到 200°C 保有 21% 葉綠素。橄欖油中的油提升葉綠素及類胡蘿蔔素的降解溫度。即時螢光光譜，顯示 95°C 時，A 牌橄欖油中葉綠素含量是 B 牌的 6 倍。

1. 自製光譜儀，以 3D 列印支架、藍雷射光(600 元)、光柵(15.2\*15.2 公分 = 台幣 120 元)、描圖紙當屏幕、載玻片乘載油滴、兩台手機收偵測光譜。搭配 Tracker 和 Origin 軟體進行螢光強度分析且將數值進行積分, 頗具創意



2. 葉綠素 a 及葉綠素 b 的螢光譜線未被光柵清楚分離，探討原因？  
是否可改進設計來改進？如光源？光柵？解釋何謂二次光？
3. 口頭報告有條理，發揮團隊合作精神。對自製光譜儀原理需再加  
強
4. 57 屆國中化學有類似作品未列入參考資料，反而有不少國外文  
獻。可多強化歷屆作品回顧與文獻探討，以確認研究主題。
5. p26, 結論中，有些錯誤。圖 25 也有誤。
6. 所提到的兩階段分解產物（脫鎂葉綠素、焦脫鎂葉綠素）在本自  
製光譜儀的鑑定沒提供。因此如何確認產物為何？

# 作品海報

# 簡介

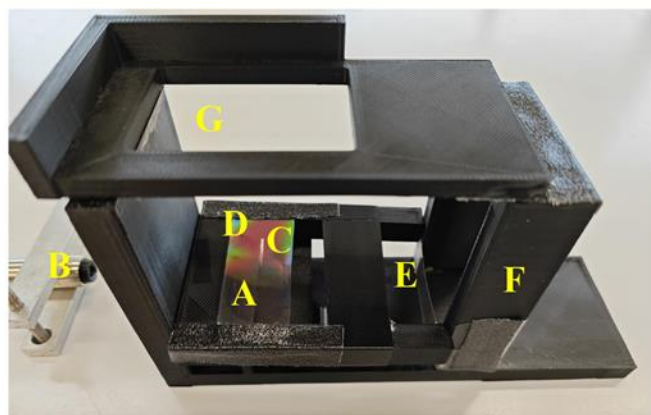
本研究以兩枚光柵(600條/mm)、一0.5mW藍雷射光(450 nm)、兩台手機錄影偵測，搭配3D 列印支架，自製螢光及吸收雙功能光譜儀，能即時並同時偵測螢光及透射光，其中透射光為排除雜訊，以一光柵讀取 450 nm的二次(second order)光，再以 Tracker 軟體將光譜照片數位化。偵測來自於一滴油(~30  $\mu$ l)橄欖油的即時螢光光譜配合二次吸收光譜，分析 2 種品牌橄欖油中葉綠素遇熱分解過程，發現橄欖油中葉綠素遇熱係呈現兩階段式分解。透射二次光隨溫度變化曲線，可以用指數函數表示，揭示 B 牌橄欖油中葉綠素的熱分解係數僅為 A 牌的 0.36倍，加熱到 200°C 仍保有 21% 葉綠素。橄欖油中的油大幅提升葉綠素的降解溫度。即時螢光光譜，顯示 95°C 時，A 牌橄欖油中葉綠素含量是 B 牌的 6 倍。

# 創新設計

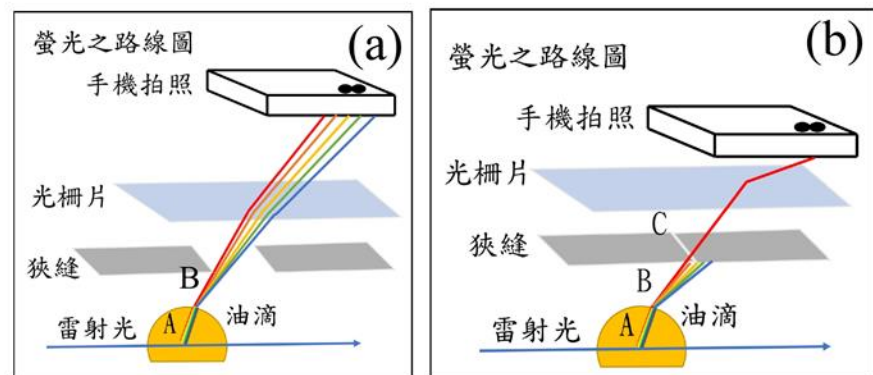
1. 藉由在自然形成的圓弧形油滴上方，放置一可移動及寬度可調的狹縫(0.5~5 mm寬)，在特定角度偵測被圓弧形油滴折射的螢光，大幅提升螢光光譜解析度。
2. 藉由在穿透光後端再設置一光柵，偵測 450 nm的二次光，排除非 450 nm光之雜訊，大幅提升透射光的解析度，並保護手機相機不被直接穿透強光損壞。
3. 手機錄影偵測光譜，得以讀取動態化學的即時光譜。
4. 建構一可攜性微量樣品即時(real time)螢光及透射光雙功能光譜儀。

# 研究方法與架設

## 一、螢光/吸收雙功能即時光譜儀

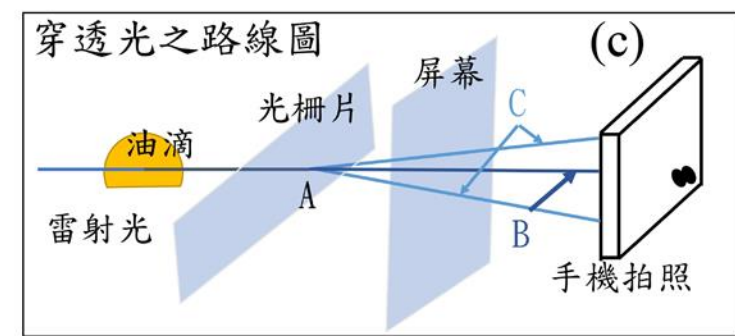


1. 一滴油(~30  $\mu$ l)放置在載玻片上。(圖1之A)
2. 藍雷射光(圖1之B)水平方向入射油滴，激發螢光。
3. 在油滴上方，螢光通過一狹縫(圖1之C)及一條紋式分光光柵(圖1之D)後，讀取螢光光譜。
4. 在藍雷射光穿透油滴後，再通過一條紋式分光光柵(圖1之E)後，讀取透射光譜。
5. 手機(圖1之F及G)錄影拍攝螢光及透射光譜。



- 450 nm雷射光入射進橄欖油。
- 部分入射光在穿透橄欖油之光徑上被吸收，放出螢光。(圖2a之A)
- 螢光在穿透出圓弧形油滴表面時被折射而分光，不同波長的光以不同角度折射出油滴。(圖2a之B)

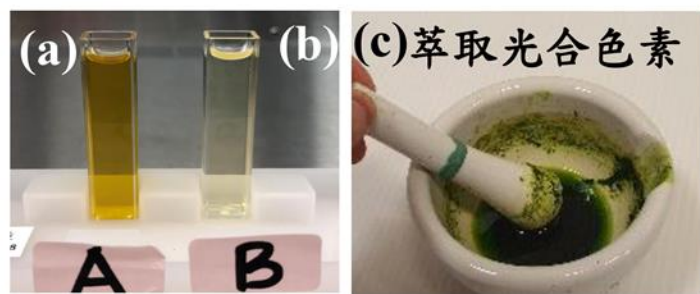
- 以一細狹縫(1 mm)限定折射出特定角度的光(圖2b之C)，以手機讀取光譜。
- 移動狹縫，讀取不同波長的螢光。



- 透射光以一條紋式分光光柵(圖2c之A)沿水平方向干涉，形成主透射光(圖2b之B)、二次透射光(圖2c之C)、及各高次透射光。
- 排除非 450 nm雜光，以手機擷取二次透射光。

圖2.(a)-(b)螢光光譜(c)透射光譜光路圖。

## 二、樣品



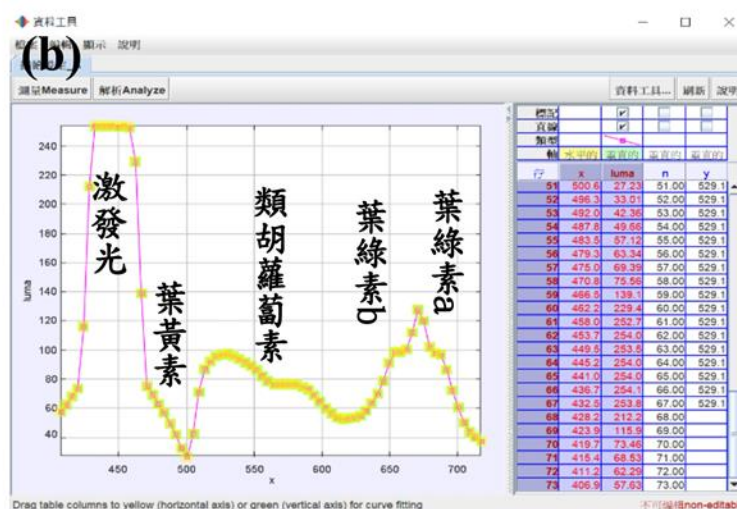
- 市售 A 牌橄欖油。(圖3a)
- 市售 B 牌橄欖油。(圖3b)
- 以 80% 丙酮萃取烘乾碾碎之菠菜中的光合色素。(圖3c)

圖3.應用實例所採用的三種樣品。

## 三、數位化分析



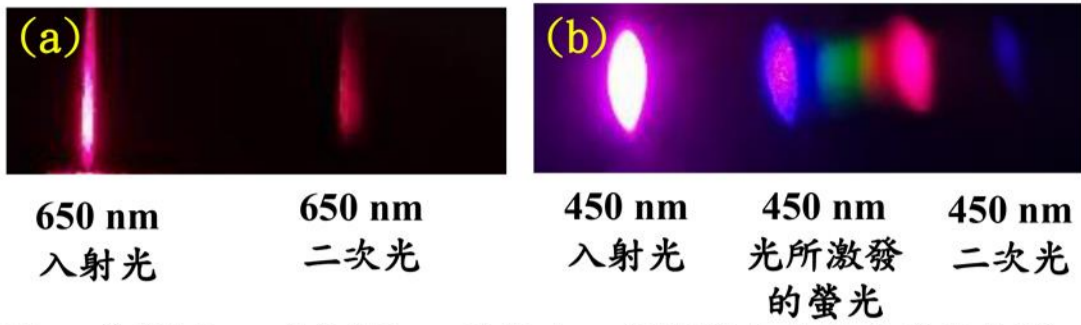
圖4.(a)以手機讀取的螢光光譜照片圖。(b)以Tracker程式數位化照片所得的螢光光譜圖。



1. 以 Tracker 程式數位化照片，轉換成光譜圖(圖4a)。
2. 以 450 nm及 650 nm雷射光定位校準光譜之波長(圖4b)。

# 結果與討論

## 一、可激發發光的雷射光源



- 市售橄欖油常含光和色素：  
葉綠素a(C<sub>55</sub>H<sub>72</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub>Mg，螢光420、680 nm)、葉綠素b(C<sub>55</sub>H<sub>70</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub>Mg，螢光460、620 nm)[1]、葉黃素(螢光490 nm)[2]、及類胡蘿蔔素(螢光500~600 nm)[3]。
- 以650 nm紅光入射橄欖油滴，只偵測到入射光及二次入射光，無法激發其他波長光。(圖5a)
- 以450 nm藍光入射橄欖油滴，除偵測到入射光外，還激發出一系列跨藍到紅螢光。(圖5b)

圖5. 以(a)650 nm(b)450 nm雷射光入射橄欖油滴所激發的光譜。

## 二、光合色素遇熱分解

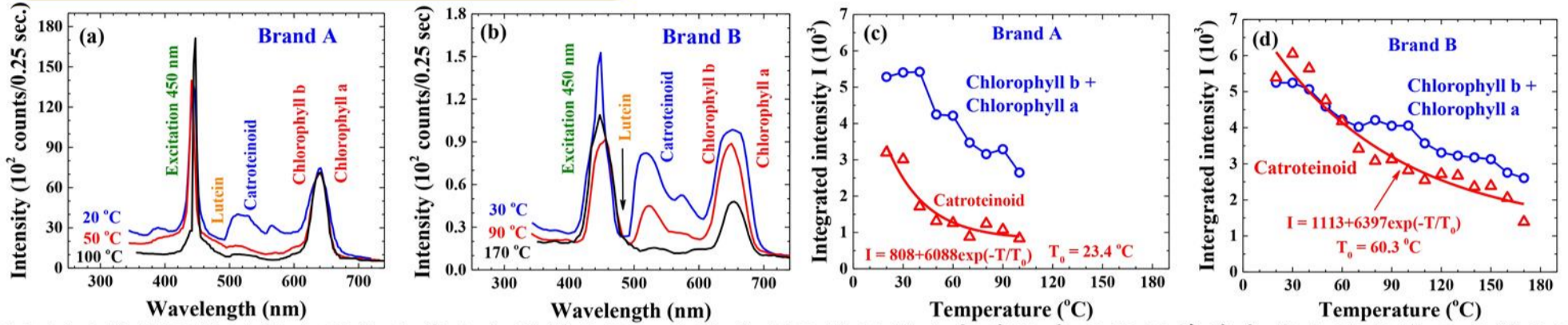
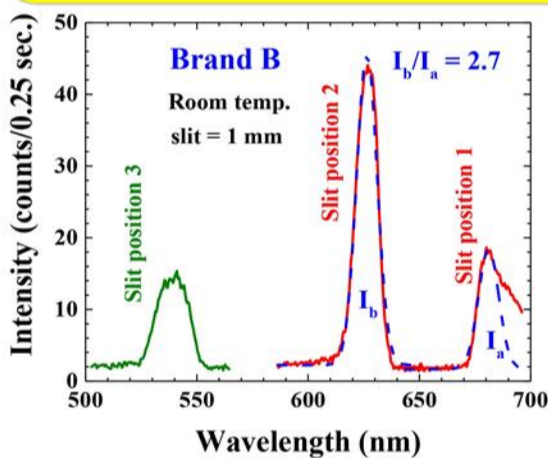


圖6.(a)A牌(b)B牌橄欖油遇熱的螢光光譜變化圖。(c)A牌(d)B牌橄欖油中葉綠素及類胡蘿蔔素螢光強度隨溫度變化圖。

- 490 nm峰為葉黃素、500~600 nm為類胡蘿蔔素、620 nm峰為葉綠素b、680 nm為葉綠素a的螢光。(圖6a、6b)
- 溫度升高光譜強度下降，其中類胡蘿蔔素螢光強度下降比葉綠素螢光強度明顯。葉綠素比類胡蘿蔔素耐熱。
- A牌橄欖油每升溫23.4°C，類胡蘿蔔素減少63%(圖6c)；B牌橄欖油每升溫60.3°C，類胡蘿蔔素減少63%。(圖6d)
- A牌橄欖油的葉綠素螢光強度，隨溫度升高下降比B牌橄欖油明顯。(圖6c、圖6d)
- 加熱到100°C，B牌橄欖油中葉綠素減少23%，而A牌已減少50%。B牌橄欖油中葉綠素比A牌耐熱甚多。
- 純葉綠素a熔點為150°C，純葉綠素b熔點為125°C。在橄欖油中，加熱到170°C仍然保有葉綠素。

## 三、葉綠素、類胡蘿蔔素的含量



- 移動狹縫(寬度1 mm)到三個選定位置，每位位置僅包含特定波長範圍，取得高解析度螢光光譜。
- 葉綠素a的680 nm螢光峰與葉綠素b的620 nm螢光峰能清楚解析。(圖7)
- 入射光被葉綠素吸收，激發螢光光譜，螢光總強度正比於油滴中葉綠素的含量。
- 螢光峰強度比：B牌橄欖油在室溫時葉綠素b含量為葉綠素a的2.7倍。

圖7.B牌橄欖油在室溫的高解析螢光光譜。

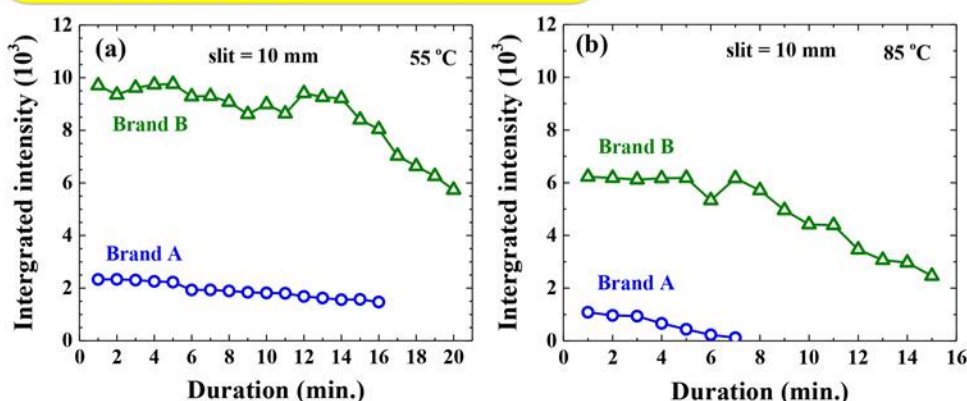
表1.室溫時，B牌橄欖油中葉綠素及胡蘿蔔素的含量。

激發光 (nm)	$I_0$	$I_t$	$A = \log_{10}(I_0/I_t)$	L (cm)	$\epsilon C = A/L$	吸光分子	$\epsilon$ [4] ( $\mu\text{L}\cdot\text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	C (mM)
535	7856	7439	0.024	1.4	0.017	類胡蘿蔔素	$\epsilon_c = 0.0169$	$\text{Volume} = 3.14 \times (0.5\text{mm})^2 \times (14\text{mm}) = 11 \mu\text{L}$ $C_c = \epsilon C / (0.0169 \times 11) = 0.091 \text{ mM}$ $= 0.091 \times 840 \text{ ppm} = 76 \text{ ppm}$
						葉綠素a	$\epsilon_a = 0$	
						葉綠素b	$\epsilon_b = 0$	
450	9274	3088	0.48	1.4	0.34	類胡蘿蔔素	$\epsilon_c = 0.136$	$\epsilon C = \epsilon_a C_a + \epsilon_b C_b + \epsilon_c C_c, C_b = 2.7 C_a$ $\rightarrow \epsilon C = C_a (\epsilon_a + 2.7 \epsilon_b) \times 11 + \epsilon_c C_c \times 11$ $\rightarrow C_a = 0.077 \text{ mM} = 0.077 \times 890 \text{ ppm} = 69 \text{ ppm}$ $\rightarrow C_b = 0.21 \text{ mM} = 20.21 \times 910 \text{ ppm} = 189 \text{ ppm}$
						葉綠素a	$\epsilon_a = 0.039$	
						葉綠素b	$\epsilon_b = 0.075$	

$I_0$  = 入射光強度， $I_t$  = 透射光強度， $A$  = absorbance， $L$  = light path length， $\epsilon$  = molar extinction coefficient， $C$  = molar concentration， $C_a$  = 葉綠素a含量， $C_b$  = 葉綠素b含量， $C_c$  = 類胡蘿蔔素含量。

- 室溫時，A牌橄欖油中 $C_a = 83 \text{ ppm}$ ， $C_b = 217 \text{ ppm}$ ， $C_c = 87 \text{ ppm}$ 。

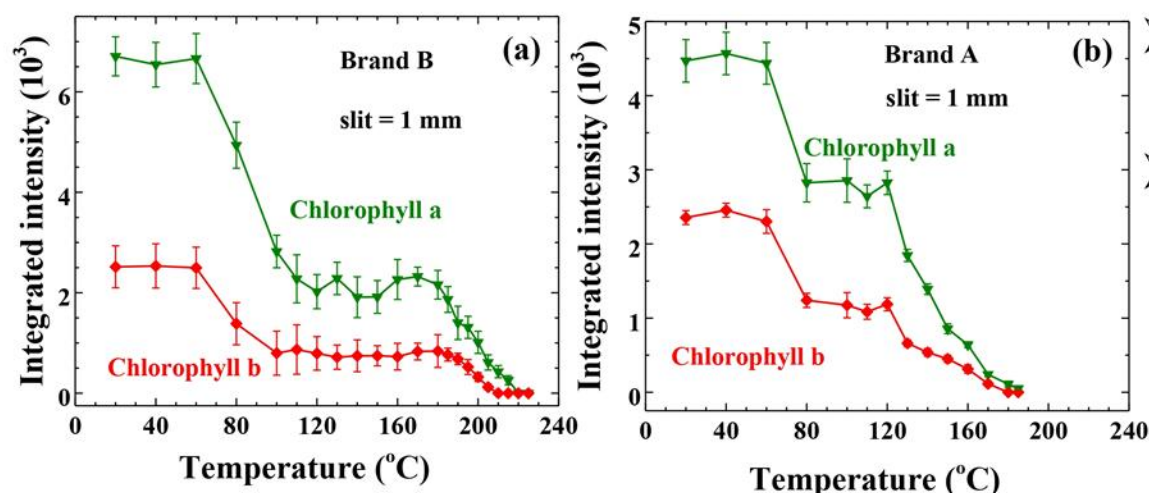
## 四、耐熱比較



- 溫度剛達55°C時，B牌的葉綠素含量是A牌的(9.7/2.3)=4.2倍，加熱14分鐘後B牌油滴中葉綠素含量開始下降，20分鐘後已剩50%。(圖8a)
- 溫度剛達85°C時，B牌的葉綠素含量是A牌的(6.2/1.1)=5.6倍，加熱7分鐘後B牌油滴中葉綠素含量開始下降，A牌油滴中葉綠素已消失。(圖8b)

圖8.(a)55°C (b)85°C葉綠素含量隨加熱時間降解圖。

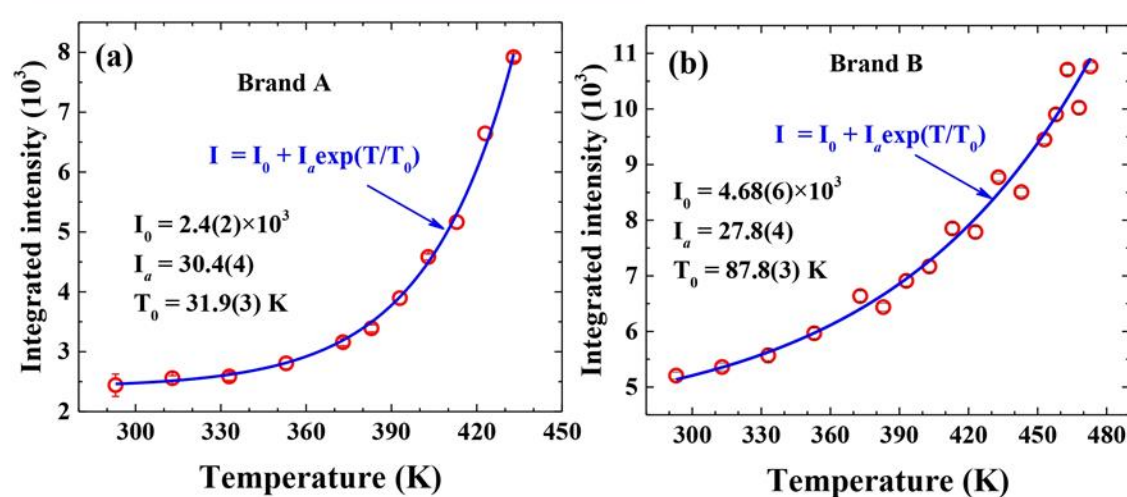
## 五、葉綠素的二階段分解



- 移動狹縫(寬度1 mm)到選定位置，以讀取葉綠素 a 或葉綠素 b 的螢光光譜。
  - 隨溫度升高，葉綠素 a 及葉綠素 b 的螢光強度衰減過程，出現二階段減弱，中間連接一強度未明顯減弱的平台。
- 圖9.(a)B牌、(b)A牌橄欖油中葉綠素a及葉綠素b的螢光強度隨溫度的改變圖。

- 各曲線均在 60°C 開始出現螢光強度大幅減弱。(圖9a、9b)
- 60°C 遠低於葉綠素的降解溫度，螢光強度減弱與葉綠素降解無關。
- 已知加熱使得葉綠素中央的鎂離子被氫離子取代，稱為脫鎂，螢光能譜出現藍位移。
- 60°C 為葉綠素開始出現大幅脫鎂，脫鎂葉綠素的螢光能譜移出原波段。
- 葉綠素脫鎂的活化能為  $(273+60)/11.6 = 28.7$  meV。
- 室溫時，B牌橄欖油中葉綠素 a 含量為葉綠素 b 含量的  $(6707/2516) = 2.7$  倍。(圖9a)
- B牌橄欖油中葉綠素 a 及葉綠素 b 的降解溫度，分別提升到 230°C 及 210°C。(圖9a)
- A牌橄欖油中葉綠素 a 及葉綠素 b 的降解溫度，分別提升到約 180°C 及 170°C。(圖9a)
- 橄欖油中的油大幅提升葉綠素的降解溫度。B牌中的油保存葉綠素的效率比 A牌者高甚多。

## 六、吸收溫度係數 $T_0$ (K)



- 選定加熱板溫度，油滴持續加熱。
- 連續量測溫度、螢光、吸收光譜。
- 透射光強度隨溫度升高而升高，指出油滴中葉綠素含量隨溫度升高而降低。(圖10a、10b)
- 透射光隨溫度變化曲線，可以用指數函數表示。(圖10a、10b中實線)

圖10.(a)A牌、(b)B牌橄欖油對450 nm入射光的吸收係數。

- 升溫：油滴中葉綠素及類胡蘿蔔素含量降低，吸收較少入射光，透射光變強。
- A牌橄欖油：吸收溫度係數  $T_0 = 31.9$  K → 溫度每升高 31.9 K 就有 63% 光合色素被分解。
- B牌橄欖油：吸收溫度係數  $T_0 = 87.8$  K → 溫度每升高 87.8 K 就有 63% 光合色素被分解。

## 結論

1. 以兩枚條紋式光柵、一 0.5mW 藍雷射光、一可移動狹縫、兩台手機偵測光譜，搭配 3D 列印支架，自製螢光及吸收光雙功能光譜儀，能即時並同時偵測螢光及吸收光譜。
2. 以自製簡易雙功能光譜儀量測兩種品牌橄欖油，能測定出兩種油中葉綠素含量比例，並定量區分出兩種油中葉綠素及類胡蘿蔔素的耐熱效率之優劣。
3. 橄欖油加熱升溫，油中葉綠素降解過程呈現二階段式，出現脫鎂及降解溫區。
4. 葉綠素脫鎂的活化溫度為 60°C，即活化能為 28.7 meV。
5. 橄欖油中的油大幅提升葉綠素的降解溫度。
6. B牌橄欖油中葉綠素 a 及葉綠素 b 的降解溫度，分別提升到 230°C 及 210°C。

## 未來展望與應用

1. 設置一容置多雷射光源的裝置，更動雷射光源，開發可探討多種營養物質光譜儀。
2. 縮小加熱板體積，並設置熱絕緣單元，提升光譜儀的溫度適用範圍。
3. 量化光合色素物質因溫度或環境改變的降解情形。
4. 整合所有元件於一體，發展成可攜性吸收螢光雙功能光譜儀為一簡便、即時、低成本的檢測方式。

## 參考資料

- [1] T. I. N. Ayudhya, F. T. Posey, J. C. Tyus, and N. N. Dingra Using a Microscale Approach To Rapidly Separate and Characterize Three photosynthetic Pigment Species from FernChem, Chem. Educ. 92, 920-923 (2002).
- [2] J. S. Josue and H. A. Frank, Direct determination of the S1 excited-state energies of xanthophylls by low-temperature fluorescence spectroscopy. J. Phys. Chem. A, 106, 19 (2015).
- [3] H. A. Frank, J. S. Josue, J. A. Bautista, I. van der Hoef, F. J. Jansen, O. Lugtenburg, G. Wiederrecht, and R. L. Christensen, Spectroscopic and Photochemical Properties of Open-Chain Carotenoids, J. Phys. Chem. B, 106, 2083-2092 (2002).
- [4] M. Afzal, C. Obuekwe, N. Shuaib, and H. Barakat. Photosynthetic pigment profile of *Cordia myxa* L. and its potential in folklore medicinal application, Food, Agriculture & Environment, 2(2), 114-120 (2004).