

中華民國第 64 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

高級中等學校組 化學科

050209

神奇藍水瓶

學校名稱： 國立鳳新高級中學

作者：  高二 吳奇融  高二 黃士洋  高二 龔俊豪	指導老師：  劉昇昌
---	------------------

關鍵詞： 自製光度計、藍瓶實驗、還原糖鹼性降解

## 摘要

本研究探討藍瓶實驗的動力學以及糖與鹼久置、藍瓶實驗不再變色後會產生黃褐色物質的問題。自製光度計，由電壓變化更能更精確測量亞甲藍濃度隨時間變化。

對葡萄糖而言，推論整體反應變色速率定律式為  $r=k[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{1.6}[\text{NaOH}]^{0.8}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{0.8}$ ，亞甲藍濃度範圍  $2.6 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1.01 \times 10^{-3} \text{ M}$ 。

對乳糖而言，推論整體反應變色速率定律式為  $r=k[\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}]^{1.6}[\text{NaOH}]^{1.0}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{1.1}$ ，亞甲藍濃度範圍  $2.6 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1.01 \times 10^{-3} \text{ M}$ 。

糖與鹼混合後要立即與亞甲藍反應，久置或高溫可能會有糖的降解或其他反應發生。經由 UV 光譜動力學分析，在 272nm 處吸收值隨時間增加而增加，推論乳糖也類似葡萄糖，在鹼性條件下也可能會降解產生低分子量有機酸、醛類和酮，以及形成具有共軛雙鍵的高分子量物質。

## 壹、前言

### 一、研究動機

因為學校專題製作之課程引導我們自行發想主題並深入研究，在查詢主題時，偶然見到變色水之實驗，雖然本主題並不新穎，但我們認為此實驗之反應機制仍值得去探討與深入，且反應原理及操作步驟看似易上手，而老師也建議我們嘗試並參加科展。所以我們設計了實驗並付諸行動，但發現各實驗結果與網路資料有些出入，而透過本次科展的探究與研析，希望可以使大家對“藍瓶實驗”有更深的認識與了解。

### 二、研究目的

(一)、以自製光度計分析葡萄糖、氫氧化鈉、亞甲藍濃度、通入空氣對亞甲藍變色速率的影響

(二)、以自製光度計分析乳糖、氫氧化鈉、亞甲藍濃度對亞甲藍變色速率的影響

(三)、以恆溫槽控制溫度，`測量溫度對葡萄糖、乳糖與亞甲藍變色速率的影響並以阿瑞尼士方程式求出活化能(肉眼直接觀測)。

(四)、探討葡萄糖、乳糖等與強鹼靜置後產生的黃色物質。

## 貳、研究設備及藥品

藥品	
1%亞甲藍	氫氧化鈉 NaOH

乳糖 $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$	葡萄糖 $C_6H_{12}O_6$
麥芽糖 $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$	蔗糖 $C_{12}H_{22}O_{11}$

設備&器材			
Vernier 簡易型分光光度計	SH-U830 桌上型分光光度計	SHIMADZU UV-1900	橘色 LED 燈泡
Arduino uno 板	電源供應器	pH 計(EZDO pH5011A)	容量瓶
分度吸量管	電動打氣機	40 毫升樣本瓶	量筒
電子天平	桌上型電腦	恆溫槽	漏斗

## 參、研究過程及方法

### 一、光度計設計原理

本自製光度計利用光學原理，光源是橘色 LED 燈，底部是光敏電阻，當光線穿過一定量高度的溶液時，溶液會吸收某些特定的波長，從光敏電阻的電壓變化可以推論水溶液的濃度變化。

#### 【設計圖及成品圖】



照片拍攝：指導老師

Arduino 程式:

```
void setup() {
  Serial.begin(9600); //Baud rate: 9600
}
void loop() {
  int sensorValue = analogRead(A0); // read the input on analog pin 0:
  float voltage = sensorValue * (5.0 / 1024.0); // Convert the analog reading (which
  goes from 0 - 1023) to a voltage (0 - 5V):
  if(voltage>0)Serial.println(voltage); // print out the value you read:
  else Serial.println("stop"); // print stop
  delay(1000);
}
```

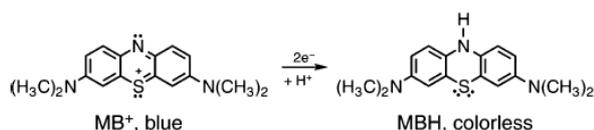
## 二、化學反應原理與文獻回顧

### 【化學反應原理】

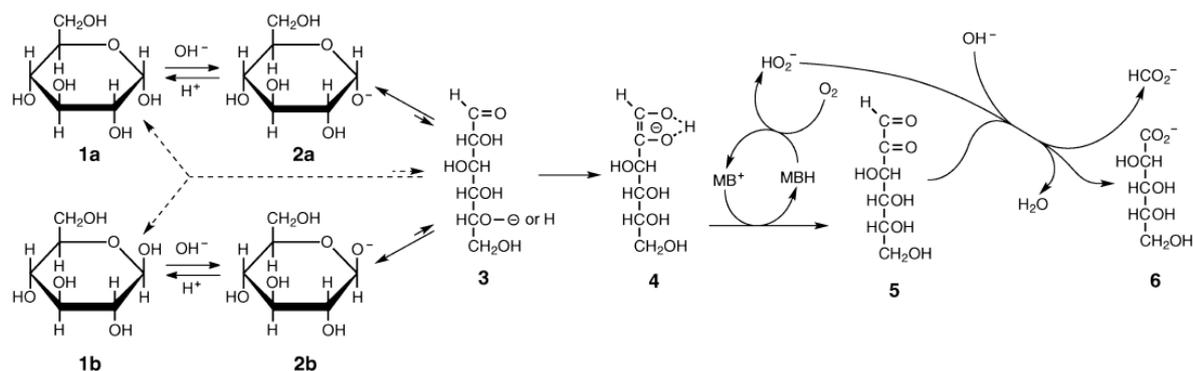
由Laurens Anderson等人(2012)，藍瓶反應可能涉及兩個主要的步驟，第一階段初始階段涉及環狀葡萄糖在鹼性條件的解離( $\alpha$ -葡萄糖的 $pK_a$ 值為12.5， $\beta$ -葡萄糖的 $pK_a$ 值為12.2)，少部分的平衡移動至直鏈結構，拔走 $\alpha$ 位置的氫離子，形成烯二醇陰離子，然後是烯二醇陰離子與亞甲基藍發生氧化還原反應，生成glycosulose D-arabino-hexos-2-ulose (5) (傳統名稱：glucosone)和亞甲基白 (MBH)。

在第二階段，亞甲基白色一形成，溶氧立即重新將其氧化，從而保持染料主要呈現藍色 $MB^+$ 形式。此反應產生過氧化氫。這最後一步也是葡萄糖的裂解，生成五個碳的酸根陰離子。當氧氣耗盡，亞甲藍會被還原成無色的溶液。

Laurens Anderson 等人(2012)，認為藍瓶反應的速率直接與還原糖和亞甲藍的濃度成正比，但與氫氧根離子濃度非線性相關。但是要注意的是增加 $MB^+$ 的濃度確實會導致速率增加，然而，隨著 $MB^+$ 濃度越大，反應速率增加的量越少，這是因為亞甲藍在濃度高時會偶合。這種行為以速率的雙曲線圖表示。而亞甲藍的還原半反應為：



Scheme 1. Reactions Occurring in the Blue Bottle Experiment<sup>a</sup>



<sup>a</sup> 1a,  $\alpha$ -D-glucopyranose; 1b,  $\beta$ -D-glucopyranose; 2a,  $\alpha$ -D-glucopyranosyloxy anion; 2b,  $\beta$ -D-glucopyranosyloxy anion; 3, open chain form of glucose; 4, enediolate anion; 5, D-arabino-hexos-2-ulose (glycosulose, open chain form); 6, D-arabinonate anion;  $MB^+$ , methylene blue; MBH, methylene white;  $HO_2^-$ , hydroperoxide anion;  $HCO_2^-$ , formate anion.

圖片摘錄自 Laurens Anderson 等人(2012)

由 L'Ubica Adamč'iková 等人(1999)測量亞甲藍在鹼性溶液中的 UV-vis 600nm 吸收光譜，亞甲藍在  $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5} M$  之間，滿足比爾定律，但亞甲藍濃度大於  $10^{-5} M$  時會二聚化。

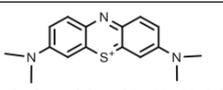
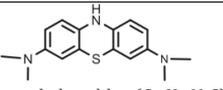
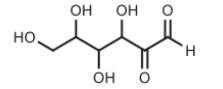
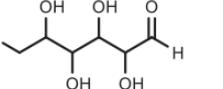
L'Ubica Adamč'iková 等人(1999)在研究動力學時，同時用溶氧電極與 UV 光譜分析證明可將藍瓶實驗分成兩階段，第一階段是誘導期，在此期間亞甲藍的淨消耗非常少，但氧氣是以零級反應被消耗；第二階段是當氧氣濃度趨近於耗盡時，亞甲藍在無氧狀態下被葡萄糖還原，亞甲藍吸收度才開始明顯減少，與 Laurens Anderson 等人(2012)所述，亞甲藍一被還原成亞甲白，就馬上被水中溶氧氧化，直到氧氣幾乎耗盡為止，都說明了水中溶氧要幾乎耗盡，亞甲藍才會開始褪色。L'Ubica Adamč'iková 等人(1999)提出第一階段氧氣存在下，耗

$$\text{氧速率 } v = \frac{-d[O_2]}{dt} = \frac{c[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}{1+d[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}, \text{ (亞甲藍濃度介於 } 7 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ M) 耗氧速率與葡萄糖濃度關係圖為曲線關係(葡萄糖濃度越大時耗氧速率增加較少);}$$

第二階段亞甲藍(MB<sup>+</sup>)無氧狀態下消耗速率 =  $\frac{-d[MB^+]}{dt} = k_{obs}[MB^+]$ ,  $k_{obs} = \frac{a[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}{1+b[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}$ , a=6.4M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, b=76 M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, 若 b[葡萄糖][氫氧根] > 1, 則 k<sub>obs</sub> 與葡萄糖濃度無關, 若 b[葡萄糖][氫氧根] < 1, 則 k<sub>obs</sub> 與葡萄糖與氫氧根濃度各呈一級反應(亞甲藍濃度介於 6 × 10<sup>-6</sup> ~ 3 × 10<sup>-5</sup> M)。

又參考英國皇家化學會網頁資料，整體變色速率，Rate = k[亞甲藍][葡萄糖][氫氧根]。

Limpanuparb T (2017)提出藍瓶實驗相關反應物的還原半反應電位，摘錄與本實驗相關者如下：藍瓶實驗中主要發生三組反應：氧氣還原反應、氧化還原指示劑(亞甲藍)的氧化/還原和還原劑(葡萄糖)的氧化。在鹼性條件下，典型的藍瓶實驗可以透過 2 個電子或 4 個電子的氧氣還原 (約 4.7 V) 進行，用亞甲藍作為催化劑 (3.70 V)，葡萄糖作為還原劑 (3.30 V)。符合作者所述成功的循環變色實驗的要求：還原電位的高低為 E<sup>0</sup>(氧氣) > E<sup>0</sup>(染料) > E<sup>0</sup>(還原劑)。

氧化型式	#e <sup>-</sup>	還原型式	E <sup>0</sup> red(鹼性)pH=14
O <sub>2</sub>	4	H <sub>2</sub> O 或 OH <sup>-</sup>	4.68
O <sub>2</sub>	2	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 或 HO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	4.66
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 或 HO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	2	H <sub>2</sub> O 或 OH <sup>-</sup>	4.71
 methylene blue (C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> S <sup>+</sup> )	2	 leucomethylene blue (C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> S)	3.70
 C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	2	 chain glucose (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	3.30

本表摘錄自 Limpanuparb T(2017)

在水中氧氣耗盡之前，亞甲藍先被葡萄糖還原成亞甲白，隨即又被氧氣氧化成亞甲藍，是催化劑的角色，實際上是氧氣與葡萄糖按 1：2 的比例消耗，而氧氣耗盡之後，亞甲藍與葡萄糖以 1：1 反應至亞甲藍全部變成無色亞甲白。

Wen-Jing Luo 等人(2020)為研究六碳糖在鹼性環境的降解與聚合，將等體積的葡萄糖(w/w, 20%) 和 NaOH 溶液 (w/w, 5%) 混合，60°C 下反應 1 小時，產生的高分子量聚合物經過透析等純化程序，並以各種包含 NMR、UV、FTIR 等方法確認結構與官能基，此高分子量聚合物含有醛基、羧酸鹽、烯基(UV 吸收峰在 272nm 的大量共軛雙鍵)、醇類羥基、飽和烷類，

Wen-Jing Luo 等人(2020)推論在己糖鹼性降解反應過程中產生大量低分子量有機酸、醛類和酮，醛和部分酮容易參與羥醛縮合反應(aldolization reaction)，從而生成含有羥基的醛化合物。羥醛縮合產物可以高溫脫水轉化成烯烴醛。羥醛縮合是一種重要的有機反應，形成新的 C-C 或 C=C 鍵並增加碳鏈。烯烴醛含有兩個不飽和雙鍵，具有活躍的化學性質，可以聚合形成高分子量化合物。

#### 【科展文獻回顧】

第 48 屆科展，搖哩！搖勒！變色水，提出不僅葡萄糖會呈現藍瓶反應，半乳糖及果糖均會，而且與葡萄糖結構相近的戊五醇、己六醇也有藍瓶反應，只要可以繼續氧化的官能基(羥基或醛基)在其官能基附近有拉電子基的存在，易產生效果絕佳的藍瓶反應，速率方程式  $r=k[\text{葡}]^0[\text{O}_2]^0[\text{亞甲藍}]^0[\text{NaOH}]^1$ ，在藍瓶反應反覆的變色過程，不論是葡萄糖還是果糖第一次所變色的時間都比較長，第二次以後反應時間有縮短的趨勢。

第 51 屆科展，DCPIP 變色比一比，提出不僅葡萄糖、果糖、半乳糖可出現藍瓶反應，只要可以繼續氧化的官能基（例如羥基或醛基），在其官能基附近有拉電子基的存在，亦產生效果絕佳的藍瓶反應。單糖的半縮醛基先進行氧化反應 -OH 仍會繼續氧化。並且發現的新的染料 DCPIP 亦有相同的現象。同時也比較了單糖、醛、一至六元醇的變色效果。由溶氧電極偵測水中溶氧量可知 pH 值愈高，溶液中的耗氧速率愈快。

第 53 屆科展，振盪藍色小精靈。自製儀器，使用 LED(白光)對實驗分析採集器的光感應器照光，來觀察光度變化量與反應時間。所得的反應速率定律式：

$R=k[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{-2}[\text{NaOH}]^1[\text{O}_2]^2$ 。利用改變溫度下的條件求得第一次變色活化能  $E_a=88.968\text{kJ}$  耳；第二次變色的活化能  $E_a=1.297$  千焦耳；第三次變色的活化能  $E_a=1.127$  千焦耳。

### 三、實驗部份

(一)實驗一：以市售簡易型可見光光度計分析亞甲藍可見光吸收光譜

(步驟一) 先前準備：取蒸餾水 30mL，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 步驟一的溶液取約 1.5mL，置入簡易型可見光光度計測量可見光各波長吸收度。

(步驟三) 本實驗可決定自製光度計採用 Led 光源的顏色。

(二) 實驗二：以自製光度計分析不同滴數的亞甲藍電壓變化(溫度 21.4°C)

(步驟一) 先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，分別用滴管滴入亞甲藍 1 至 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的樣本瓶置入自製光度計，紀錄電壓。

(三) 實驗三：以自製光度計分析葡萄糖濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 21.4°C)

(步驟一) 先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，分別加入 0.54、0.81、1.08、1.35、1.62 克葡萄糖混合後，確定葡萄糖溶解，靜置約 20 分鐘，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的樣本瓶置入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(四) 實驗四：以自製光度計分析氫氧化鈉濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 22.4°C)

(步驟一) 先前準備：分別取 0.5M、0.42M、0.33M、0.25M、0.17M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，加入 0.54 克葡萄糖混合後，確定葡萄糖溶解，靜置約 20 分鐘，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的溶液倒入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(五) 實驗五：以自製光度計分析通入空氣時間對亞甲藍顏色變化速率的影響 (溫度 23.8°C)

(步驟一) 先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，加入 0.54 克葡萄糖混合後，確定葡萄糖溶解，靜置約 20 分鐘，再用滴滴管滴入亞甲藍 10 滴，分別打入空氣 10、20、30、40、50 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的溶液倒入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(六) 實驗六：以自製光度計分析亞甲藍濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響 (溫度 22.8°C)

(步驟一) 先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，加入 0.54 克葡萄糖混合後，確定葡萄糖溶解，靜置約 20 分鐘，再用分度吸量管滴入亞甲藍 0.25mL、0.50mL、0.75mL、1.00mL、1.25mL，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的溶液倒入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(七) 實驗七：以恆溫槽控制溫度測量溫度對亞甲藍顏色變化速率的影響並以阿瑞尼士方程式求出活化能(肉眼觀察)

(步驟一) 取 0.5M NaOH 30 毫升與 0.63 克葡萄糖的混合液置入樣本瓶，確定葡萄糖溶解，靜置約 2 分鐘，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

置入 25°C 恆溫槽，以肉眼觀察藍色變無色所需時間

(步驟二) 重複步驟一，但溫度改成 30°C、35°C、40°C、45°C、50°C、55°C

(八) 實驗八：以自製光度計分析乳糖濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 22.4°C)

(步驟一) 先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，分別加入 1.03 克、1.54 克、2.05 克、2.57 克、3.08 克乳糖混合後，確定乳糖溶解，靜置約 20 分鐘，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的樣本瓶置入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(九) 實驗九：以自製光度計分析氫氧化鈉濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 23.5°C)

(步驟一) 先前準備：分別取 0.5M、0.42M、0.33M、0.25M、0.17M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，加入 1.03 克乳糖混合後，確定乳糖溶解，靜置約 20 分鐘，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的樣本瓶置入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(十) 實驗十：以自製光度計分析亞甲藍濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 22.8°C)

(步驟一) 先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，加入 1.03 克乳糖混合後，確定乳糖溶解，靜置約 20 分鐘，再分別用分度吸量管滴入亞甲藍 0.25mL、0.50mL、0.75mL、1.00mL、1.25mL，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二) 將步驟一的溶液倒入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(十一)實驗十一：以恆溫槽控制溫度測量溫度對亞甲藍顏色變化速率的影響並以阿瑞尼士方程式求出活化能。(肉眼觀測)

(步驟一)取 0.5M NaOH 30 毫升與 1.03 克乳糖的混合液置入樣本瓶，確定乳糖溶解，靜置約 2 分鐘，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

置入 25°C 恆溫槽，以肉眼觀察藍色變無色所需時間

(步驟二)重複步驟一，但溫度改成 30°C、35°C、40°C、45°C、50°C、55°C

(十二)實驗十二：以自製光度計分析相同濃度葡萄糖、乳糖、麥芽糖變色速率的快慢(溫度 25.5°C)

(步驟一)先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入樣本瓶，加入 0.54 克葡萄糖(0.10M)混合後，確定葡萄糖溶解，靜置約 20 分鐘，再用滴管滴入亞甲藍 10 滴，打入空氣 20 秒，此時溶液成藍色。

(步驟二)將步驟一的樣本瓶置入自製光度計，監控溶液透光度與時間關係，作圖。

(步驟三)重複步驟一與步驟二，但將溶質改成 1.08 克乳糖(0.10M)。

(步驟四)重複步驟一與步驟二，但將溶質改成 1.08 克麥芽糖(0.10M)。

(十三)實驗十三：相同濃度葡萄糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖與氫氧化鈉靜置後以簡易型分光光度計(Vernier)掃描吸收波長並以桌上型光光度計(SH-U830)確認吸收度 (29°C)

(步驟一)先前準備：取 0.5M 氫氧化鈉 30mL 置入燒杯，加入 0.1M 葡萄糖、蔗糖、麥芽糖、乳混合後，確定溶解，靜置約 20 分鐘(每 5 分鐘測量 pH)。

(步驟二)將步驟一的樣本置入市售簡易型光度計，掃描可見光吸收波長。

(步驟三)由步驟二所得知吸收波長，再以桌上型可見光分光光度計確認吸收值

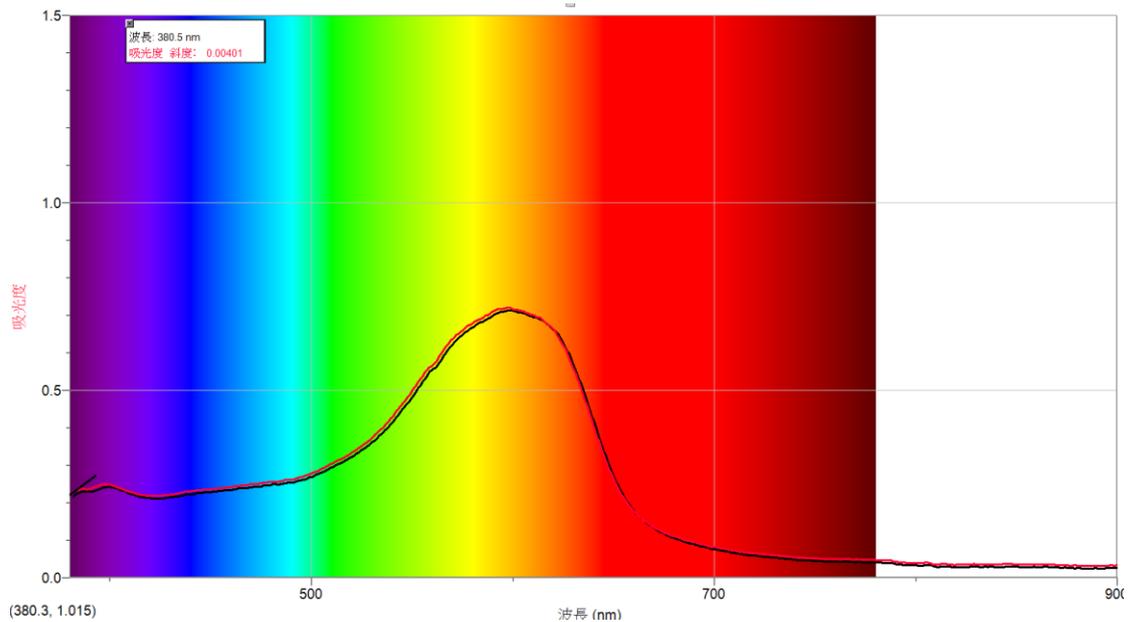
(步驟四)掃描葡萄糖與乳糖在 200-400nm 吸收度

(十四)實驗十四：相同濃度葡萄糖、乳糖與氫氧化鈉靜置後以 UV(SHIMADZU)掃描 200-400nm 吸收度(29°C)

(十五)實驗十五：重作實驗六、七，但將糖與鹼靜置時間縮短為 2 分鐘，確認濃度與變色速率(29°C)

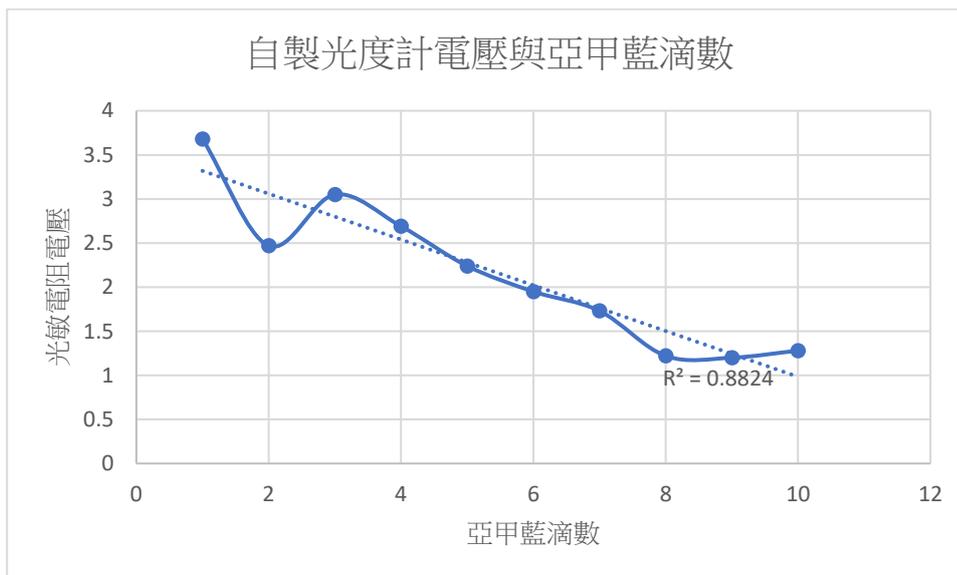
## 肆、研究結果

### 一、實驗一：以市售簡易型可見光光度計分析亞甲藍可見光吸收光譜



由吸收度圖形可知最大吸收峰的波長為 597nm，但是因為市售光度計的樣品槽只有 1.5 毫升，在接上打氣管通入氣體時，溶液會噴濺出來，所以我們打算利用 40 毫升的樣品瓶來自製光度計。利用橘色光 Led 燈(約 590-620nm)來當光源，而我們遇到的問題是，市面上並沒有高亮度的橘色光 Led 燈，而一個普通亮度的橘色 Led 燈無法穿透亞甲藍溶液，最後的解決辦法是串連兩個 Led 燈，用直流電源 4.5V，恰好可以讓光敏電阻有適當的電壓變化。

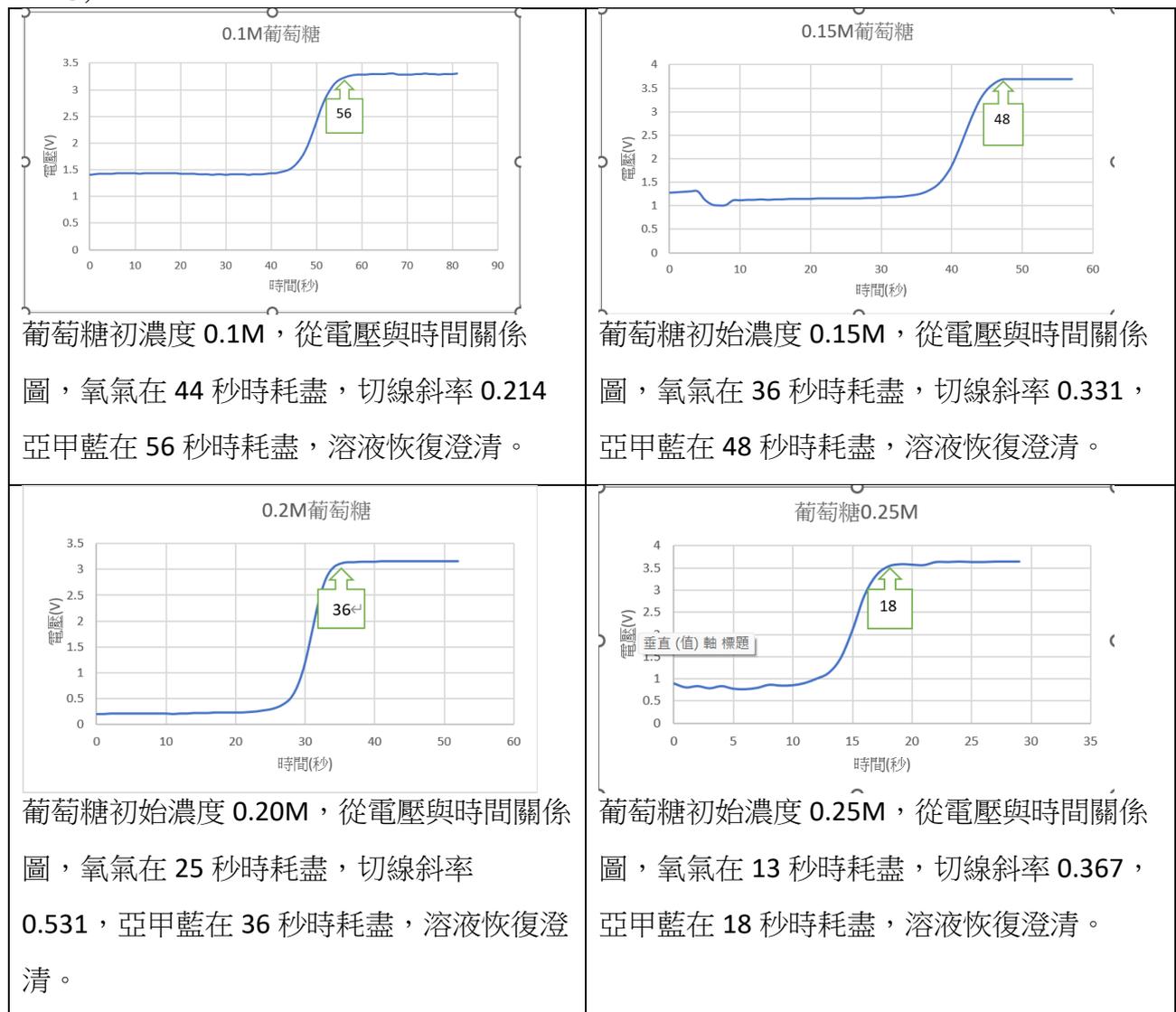
### 二、實驗二：以自製光度計分析不同滴數的亞甲藍電壓變化(溫度 21.4°C)

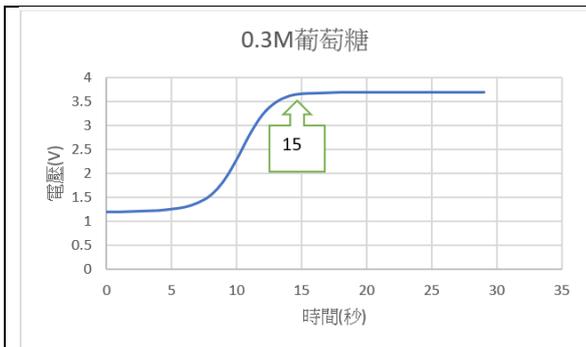


光敏電阻的電壓與亞甲藍滴數關係圖相當於透光度與亞甲藍滴數關係圖，可以看出亞甲藍滴數越多，代表濃度越高，透光度越差；彼此約略成線性關係，在亞甲藍濃度  $5.1 \times 10^{-5} \text{ M} \sim 4.6$

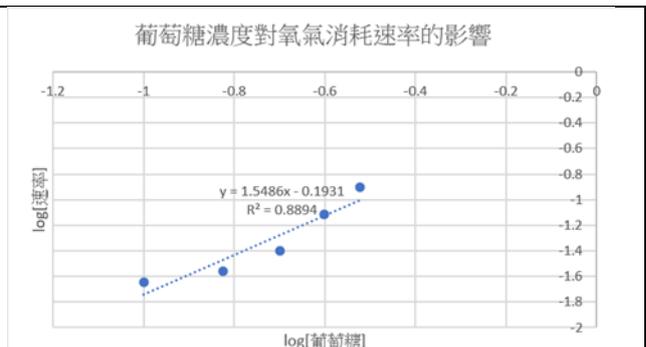
$\times 10^{-4} \text{ M}$  之間(1~9 滴，扣除第 10 滴)相關係數達 0.8889；比較 L'Ubica Adamč'ikov'a 等人 (1999)所述，亞甲藍在 pH 值 $>13$  的水溶液中緩慢分解，[亞甲藍] $>10^{-5} \text{ M}$  時二聚化，L'Ubica Adamč'ikov'a 等人(1999)測量亞甲藍在鹼性溶液中的 600nm 吸收光譜，[亞甲藍]在  $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5} \text{ M}$  之間，滿足比爾定律，而我們自製的光度計測定的濃度範圍約高一個數量級。雖然亞甲藍超過 9 滴之後可能如文獻所述會部分二聚合而失去線性關係，但是我們要觀察的主要是亞甲藍即將消耗完畢的瞬間，研判此自製光度計仍然非常適合接下來的實驗使用。

### 三、實驗三：以自製光度計分析葡萄糖濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 $21.4^{\circ}\text{C}$ )





葡萄糖初始濃度 0.30M，從電壓與時間關係圖，氧氣在 8 秒時耗盡，切線斜率 0.469，亞甲藍在 15 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



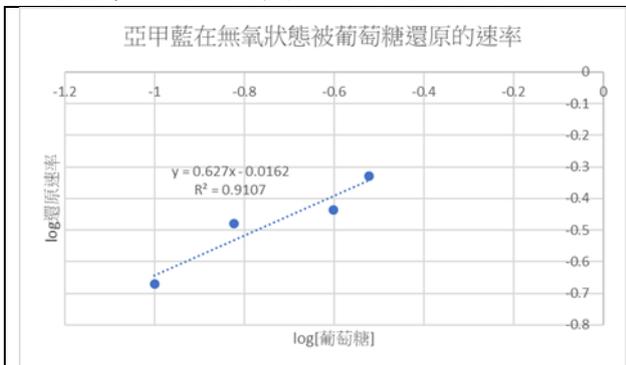
由斜率可知反應級數為 1.5 級， $r^2=0.89$

將葡萄糖濃度與經過時間作表

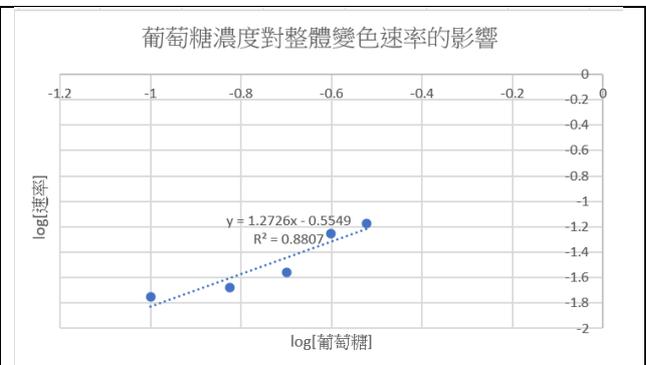
葡萄糖濃度 (M)	氧氣耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	氧氣消耗速率(1/ $\Delta t$ )	切線斜率(亞甲藍無氧還原)	亞甲藍耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	亞甲藍消耗速率(1/ $\Delta t$ )
0.10	44	0.023	0.214	56	0.018
0.15	36	0.028	0.331	48	0.021
0.20	25	0.040	0.531 *	36	0.028
0.25	13	0.077	0.367	18	0.056
0.30	8	0.125	0.469	15	0.067

\* 該數據偏大捨棄不用

註:假設每個實驗打氣 20 秒後，該溫度水中溶氧已達飽和，故取氧氣耗盡時間的倒數為氧氣消耗速率，之後的實驗皆以此方式操作



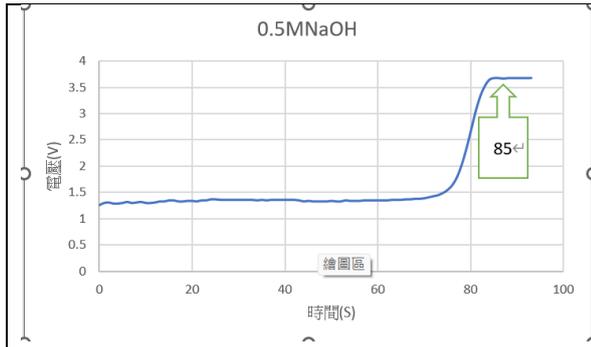
由斜率可知亞甲藍在無氧狀態被葡萄糖還原的反應級數為 0.6 級， $r^2=0.91$ (扣除 0.2M 偏大的速率)



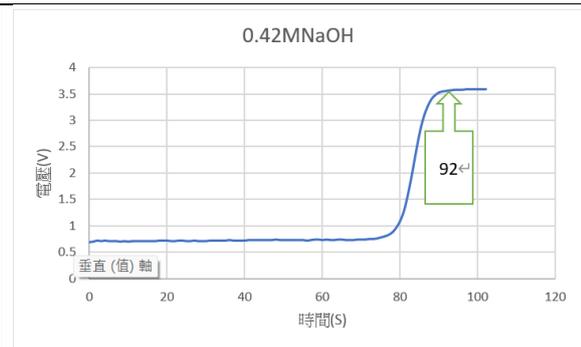
由斜率可知整體反應級數為 1.3 級， $r^2=0.88$

從電壓與時間關係圖，可看到亞甲藍在反應初始濃度幾乎不變，而氧氣幾乎耗盡時，亞甲藍濃度才快速減少，而且減少的過程斜率幾乎是固定的斜直線。這一結果可與 L'Ubica Adamč'ikov'a 等人(1999)在研究動力學時，同時測定亞甲藍吸收度與水中氧氣濃度變化參照，當氧氣濃度趨近於耗盡時，亞甲藍吸收度才開始明顯減少，呼應 Laurens Anderson 等人(2012)所述，亞甲藍一被還原成亞甲白，就馬上被水中溶氧氧化，直到氧氣幾乎耗盡為止。

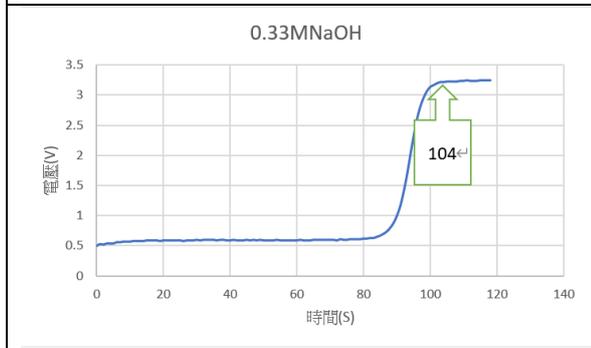
四、實驗四：以自製光度計分析氫氧化鈉濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 22.4°C)



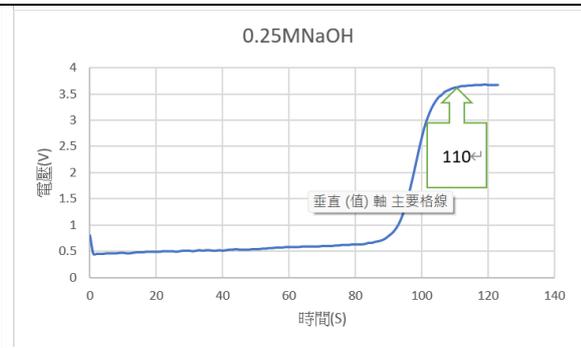
氫氧化鈉初始濃度 0.5M，從電壓與時間關係圖，氧氣在 73 秒時耗盡，切線斜率 0.304，亞甲藍在 85 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



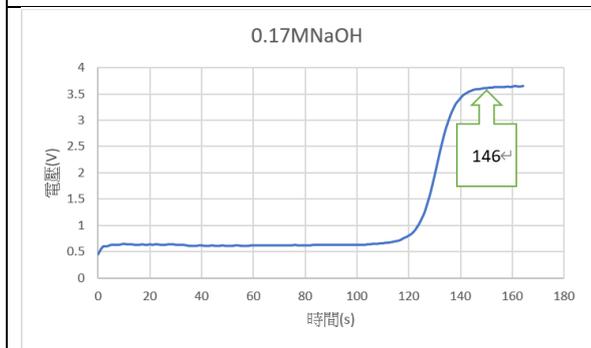
氫氧化鈉初始濃度 0.42M，從電壓與時間關係圖，氧氣在 77 秒時耗盡，切線斜率 0.342，亞甲藍在 92 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



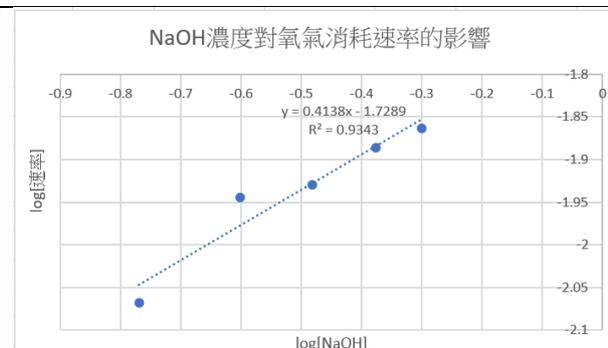
氫氧化鈉初始濃度 0.33M，從電壓與時間關係圖，氧氣在 85 秒時耗盡，切線斜率 0.264，亞甲藍在 104 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



氫氧化鈉初始濃度 0.25M，從電壓與時間關係圖，氧氣在 88 秒時耗盡，切線斜率 0.239，亞甲藍在 110 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



氫氧化鈉初始濃度 0.17M，從電壓與時間關係圖，氧氣在 117 秒時耗盡，切線斜率

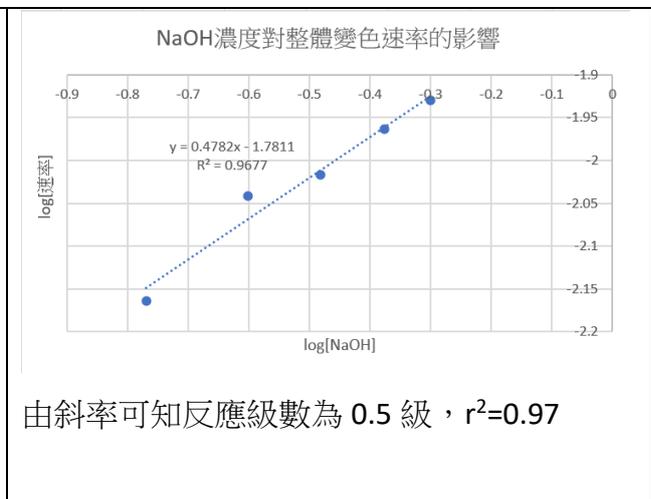
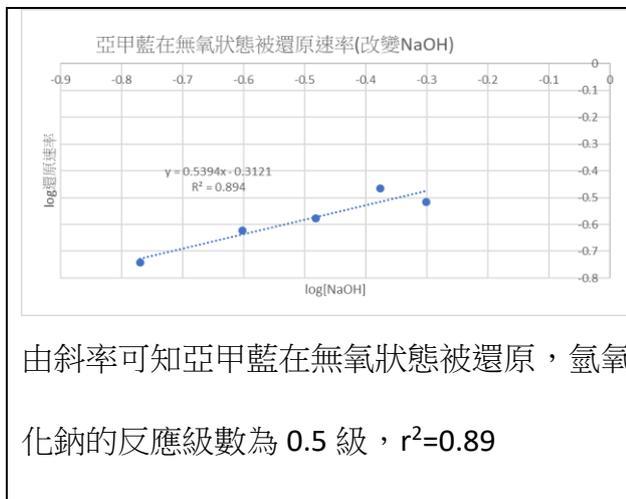


由斜率可知反應級數為 0.4 級， $r^2=0.94$

0.181，亞甲藍在 146 秒時耗盡，溶液恢復澄清。

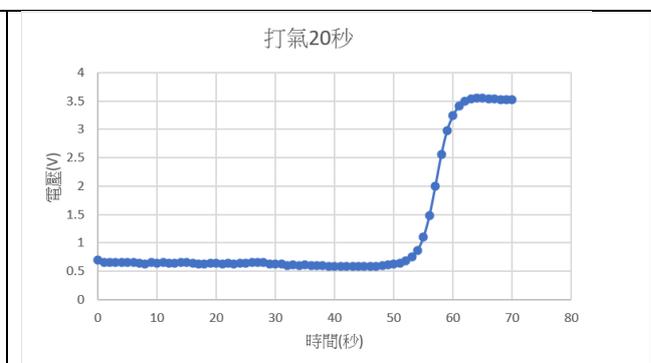
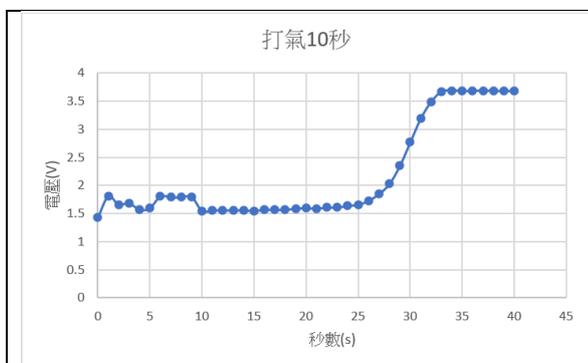
將氫氧化鈉濃度與經過時間作表

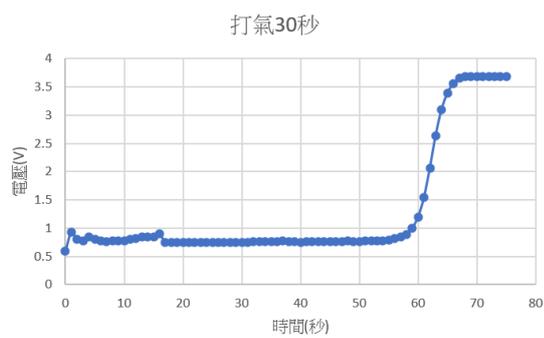
氫氧化鈉濃度(M)	氧氣耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	氧氣消耗速率( $1/\Delta t$ )	切線斜率(亞甲藍無氧還原)	亞甲藍耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	亞甲藍消耗速率( $1/\Delta t$ )
0.50	73	0.0137	0.304	85	0.0118
0.42	77	0.0130	0.342	92	0.0109
0.33	85	0.0118	0.264	104	0.0096
0.25	88	0.0114	0.239	110	0.0091
0.17	117	0.0085	0.181	146	0.0068



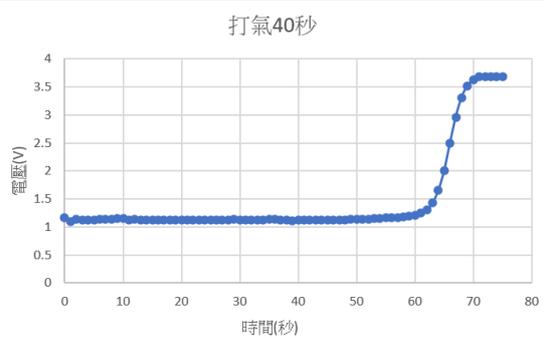
從這個實驗可以知道無論是在耗氧階段、亞甲藍無氧還原階段還是整體變色速率，氫氧化鈉反應級數約 0.5 級，由第 48 屆、51 屆科展以溶氧電極偵測溶氧變化，發現 pH 越高，溶液耗氧速率越快，可以得到印證，但是得到的反應級數有所不同。

五、實驗五：以自製光度計分析通入空氣時間對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 23.8°C)

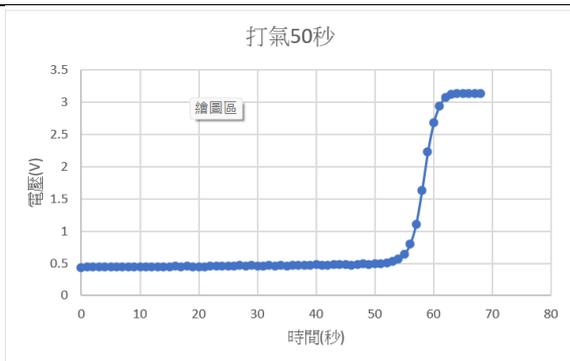




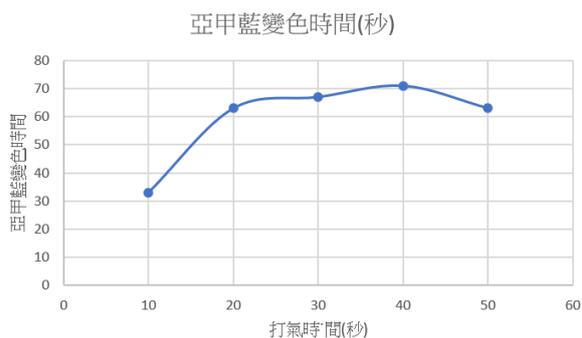
打氣 30 秒，從電壓與時間關係圖，亞甲藍在 67 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



打氣 40 秒，從電壓與時間關係圖，亞甲藍在 71 秒時耗盡，溶液恢復澄清。

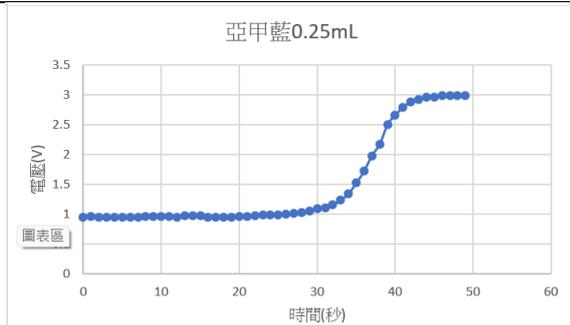


打氣 50 秒，從電壓與時間關係圖，亞甲藍在 63 秒時耗盡，溶液恢復澄清。

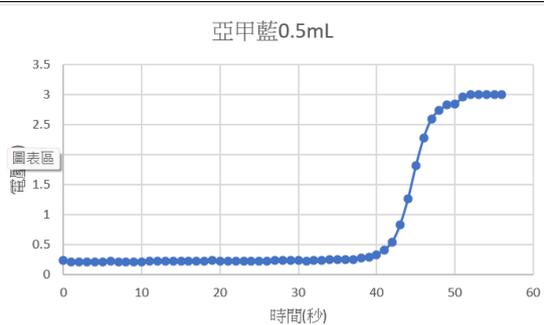


由本實驗可以推論打氣時間在 20 秒以上時，亞甲藍變色的時間很接近，有可能是因為水中的溶氧量已達飽和，所以打氣時間更久，亞甲藍變色時間不再增加。

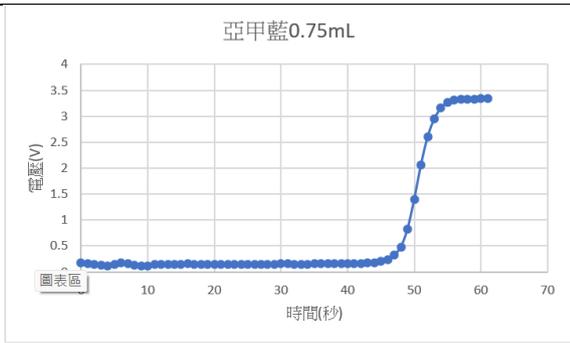
#### 六、實驗六：以自製光度計分析亞甲藍濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 22.8°C)



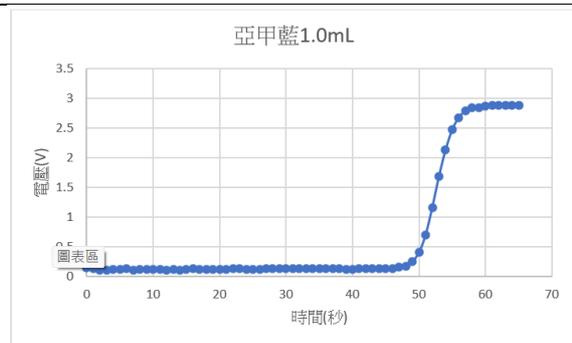
從電壓與時間關係圖，氧氣在 30 秒時耗盡，切線斜率 0.235，亞甲藍在 43 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



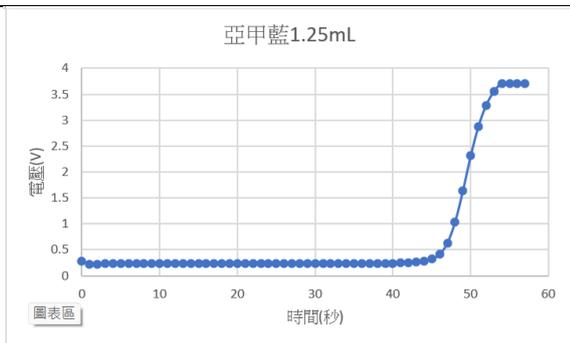
從電壓與時間關係圖，氧氣在 39 秒時耗盡，切線斜率 0.434，亞甲藍在 51 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



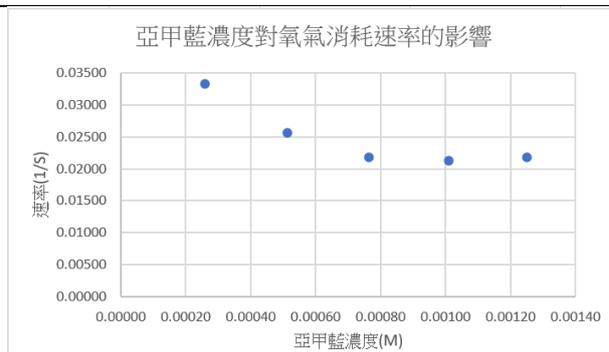
從電壓與時間關係圖，氧氣在 46 秒時耗盡，切線斜率 0.523，亞甲藍在 55 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



從電壓與時間關係圖，氧氣在 47 秒時耗盡，切線斜率 0.433，亞甲藍在 57 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



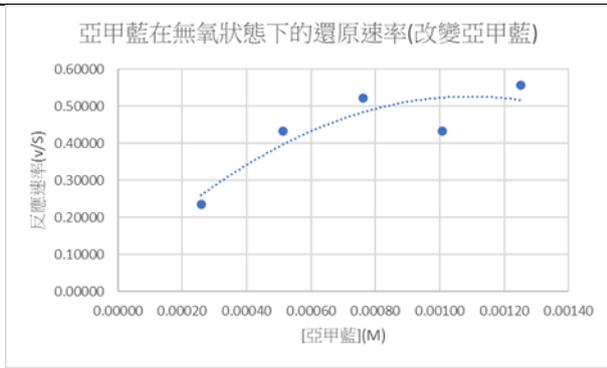
從電壓與時間關係圖，氧氣在 46 秒時耗盡，切線斜率 0.557，亞甲藍在 54 秒時耗盡，溶液恢復澄清。



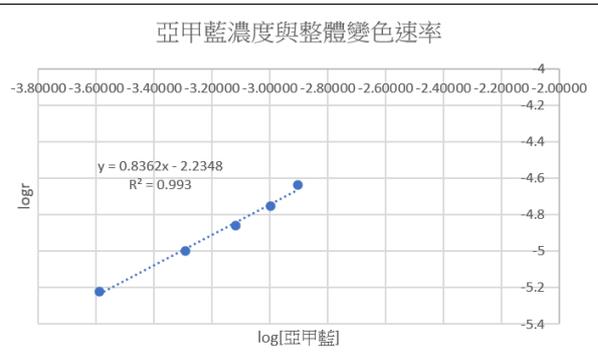
亞甲藍濃度越低，氧氣的消耗看似反而越快，亞甲藍濃度高於 0.00076M，對氧氣的消耗幾乎沒有影響

數據整理如下

亞甲藍 體積	亞甲藍 濃度(M)	氧氣耗 盡時間 (s)	氧氣消 耗速率 (1/s)	切線斜率 (亞甲藍無 氧還原)	亞甲藍耗盡 時間 $\Delta t$ (秒)	亞甲藍消耗 速率(M/ $\Delta t$ )
0.25	0.00026	30	0.0333	0.235	43	6.01E-06
0.50	0.00051	40	0.0250	0.434	51	1.00E-05
0.75	0.00076	46	0.0217	0.523	55	1.39E-05
1.00	0.00101	47	0.0213	0.433	57	1.77E-05
1.25	0.00125	46	0.0217	0.557	54	2.32E-05



切線斜率為亞甲藍在無氧狀態被葡萄糖還原的速率，亞甲藍濃度在 0.00026M~0.00076M 之間還原速率約與亞甲藍濃度成正比，但亞甲藍濃度大於 0.00076M 時隨 MB<sup>+</sup>濃度越大，反應速率增加的量越少

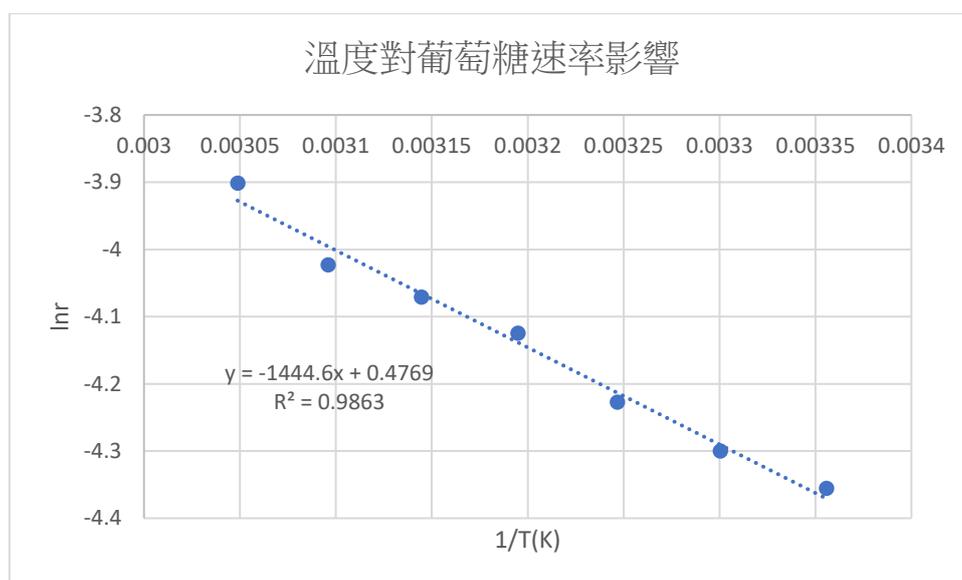


由斜率可知反應級數為 0.8 級， $r^2=0.99$

在耗氧階段，亞甲藍濃度高於 0.00076M，即 20°C 飽和氧氣濃度 9ppm 的 2.7 倍左右，亞甲藍濃度對耗氧速率沒有影響，皆約 46 秒消耗完畢。這可能是因為亞甲藍在耗氧階段是擔任催化劑的角色，濃度對速率不造成影響。但是要注意的是，如果催化劑沒有超過氧氣濃度的 2.7 倍，儀器偵測亞甲藍濃度快速變化時，可能其實氧氣還沒消耗完畢，讓我們誤以為催化劑濃度越低反而耗氧速率越快。而亞甲藍在無氧狀態被還原時，本身是反應物，亞甲藍濃度在 0.00026M~0.00076M 之間還原速率約與亞甲藍濃度成正比，對比 L'Ubica Adamč'íkov'a 等人(1999)研究亞甲藍在無氧狀態被過量葡萄糖還原的速率(亞甲藍[MB<sup>+</sup>]在  $3 \times 10^{-5}$  和  $6 \times 10^{-6}$  M 之間變化時，葡萄糖從 0.01 M 到 0.25 M，NaOH 從 0.03 到 0.3 M)，亞甲藍消耗速率與亞甲藍濃度為一級反應，可以佐證。但亞甲藍濃度大於 0.00076M 時隨 MB<sup>+</sup>濃度越大，反應速率增加的量越少，可能如 L'Ubica Adamč'íkov'a 等人(1999)所述，亞甲藍濃度大於  $10^{-5}$ M 時會二聚合所造成的影響。整體變色速率對亞甲藍而言為 0.8 級(亞甲藍濃度在  $2.6 \times 10^{-4}$  M~ $10.1 \times 10^{-4}$  M 之間)。

七、實驗七：以恆溫槽控制溫度測量溫度對亞甲藍顏色變化速率的影響並以阿瑞尼士方程式求出活化能(肉眼觀測)

溫度°C	絕對溫度 K	1/T(K)	亞甲藍消失所需時間(S)	速率 r(1/S)	lnr
25	298	0.00336	77.89	0.01284	-4.3553
30	303	0.00330	73.68	0.01357	-4.29973
35	308	0.00325	68.52	0.01459	-4.22713
40	313	0.00319	61.86	0.01617	-4.12487
45	318	0.00314	58.60	0.01706	-4.07073
50	323	0.00310	55.86	0.01790	-4.02285
55	328	0.00305	49.48	0.02021	-3.90157



由阿瑞尼士方程式  $r \propto k = Ae^{-Ea/RT}$ ， $\ln r = \frac{-Ea}{RT} + c$ ，斜率  $= -1444.6 = \frac{-Ea}{8.314}$ ， $Ea = \frac{1444.6 \times 8.314}{1000} = 12 \text{ kJ}$

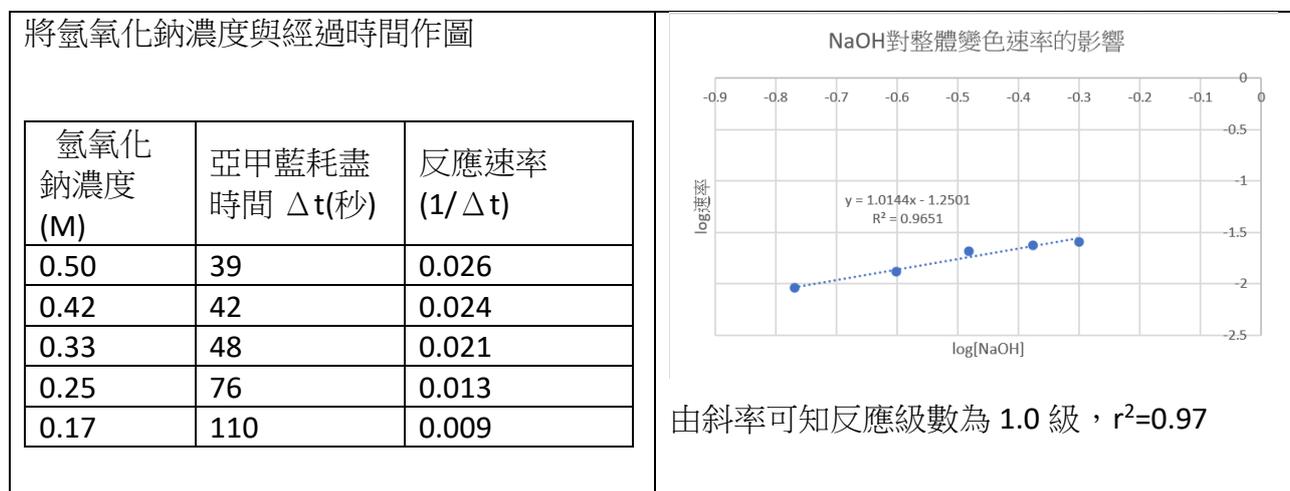
八、實驗八：以自製光度計分析乳糖濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 22.4°C)

將乳糖濃度與經過時間作圖		
乳糖濃度(M)	亞甲藍耗盡時間 Δt(秒)	亞甲藍消耗速率(1/Δt)
0.095	34	0.029
0.143	25	0.040
0.190	15	0.067
0.235	9	0.111
0.285	6	0.167

由斜率可知反應級數為 1.6 級， $r^2=0.95$

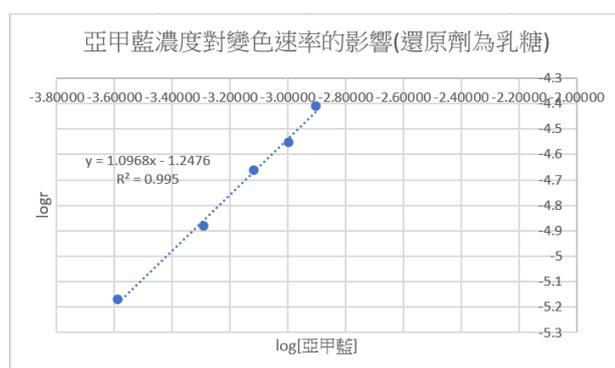
乳糖濃度與變色速率，因為沒有參考文獻可以比較各階段的速率定律式，所以只探討乳糖濃度對整體變色速率的影響。

九、實驗九：以自製光度計分析氫氧化鈉濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度 23.5°C)(還原劑為乳糖)



十、實驗十：以自製光度計分析亞甲藍濃度對變色速率的影響(溫度 22.8°C，還原劑為乳糖)

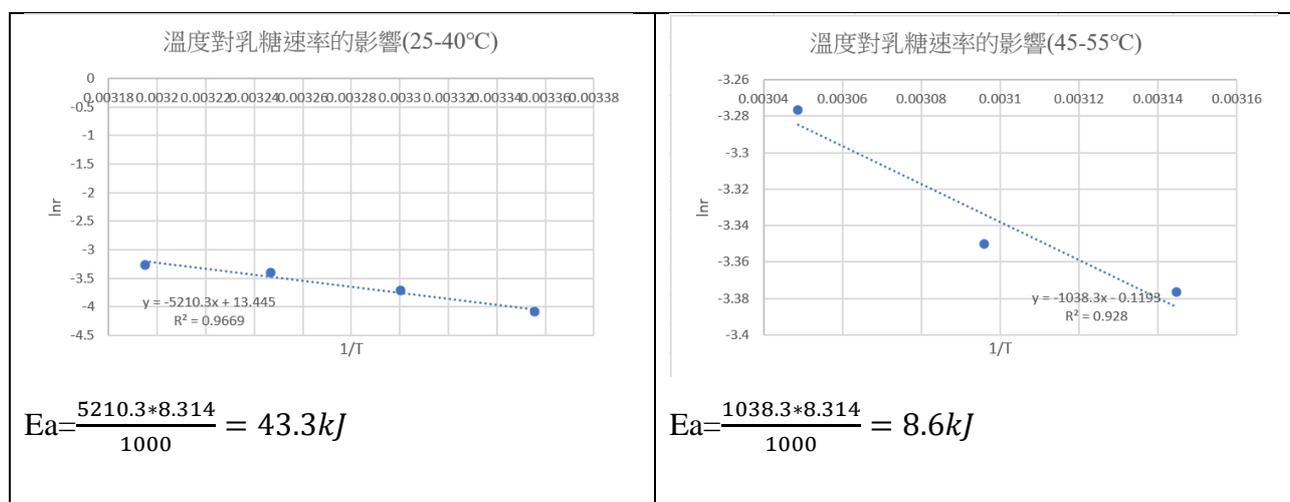
亞甲藍體積	亞甲藍濃度(M)	反應時間(s)	反應速率(M/s)
0.25	0.00026	38	6.79962E-06
0.50	0.00051	39	1.31419E-05
0.75	0.00076	35	2.17872E-05
1.00	0.00101	36	2.80149E-05
1.25	0.00125	32	3.90808E-05



由斜率可知反應級數為 1.1 級， $r^2=0.99$ ，(亞甲藍濃度在  $2.6 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 12.5 \times 10^{-4} \text{ M}$  之間)。

十一、實驗十一：以恆溫槽控制溫度測量溫度對乳糖氧化反應速率的影響並以阿瑞尼士方程式求出活化能。(肉眼觀測)

溫度°C	絕對溫度 K	1/T(K)	亞甲藍消失所需時間(S)	速率 r(1/S)	lnr
25	298	0.003355705	59.74	0.0167392	-4.09
30	303	0.00330033	40.80	0.0245098	-3.70868
35	308	0.003246753	29.98	0.03335557	-3.40053
40	313	0.003194888	26.16	0.0382263	-3.26423
45	318	0.003144654	29.27	0.03416467	-3.37656
50	323	0.003095975	28.50	0.03508772	-3.3499
55	328	0.00304878	26.49	0.03775009	-3.27677



由於溫度 45°C 以上，失去線性關係，所以分兩段推算活化能，分別為 43.3kJ(40°C以下)及 8.6kJ(45-55°C)，推論 45°C 以上可能有其他副反應發生，導致活化能改變。

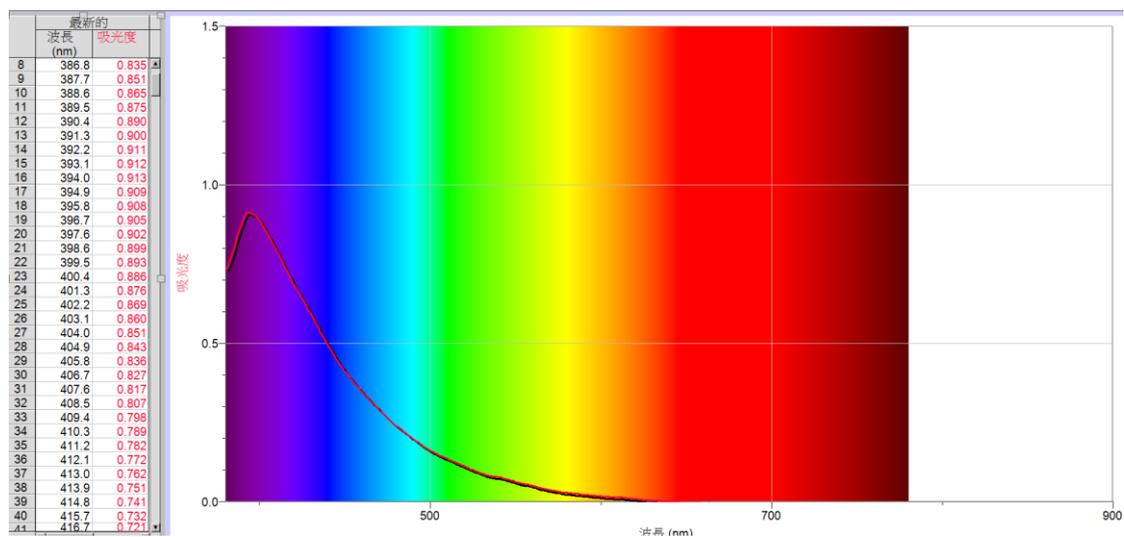
十二、實驗十二：以自製光度計分析相同濃度葡萄糖、乳糖、麥芽糖變色速率的快慢(溫度 25.5°C)將濃度與經過時間作表

醣類濃度(M)	亞甲藍耗盡時間 Δt(秒)	反應速率(M/ Δt)
葡萄糖 0.1M	43	0.0023
葡萄糖 0.1M	35	0.0029
乳糖 0.1M	16	0.0063
乳糖 0.1M	18	0.0056
麥芽糖 0.1M	12	0.0083
麥芽糖 0.1M	8	0.0125

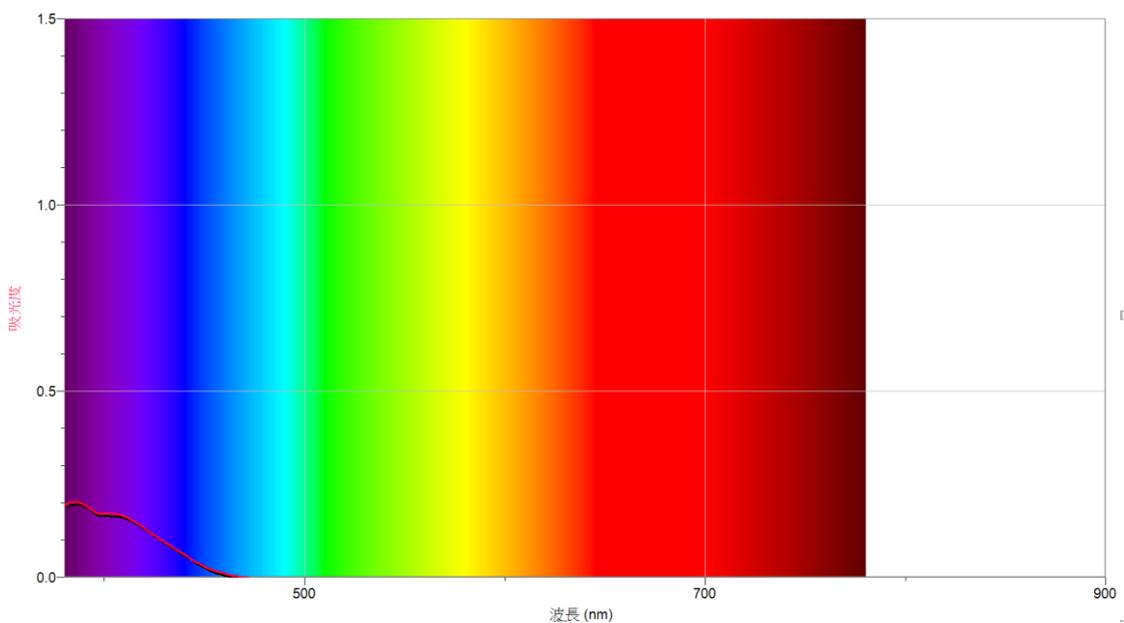
比較相同濃度葡萄糖、乳糖、麥芽糖的變色速率，發現速率是麥芽糖 > 乳糖 > 葡萄糖，亦即單醣的變色速率最慢。在觀察到雙醣的變色速率較快的同時，也觀察到在醣類與氫氧化鈉靜置 20 分鐘後，雙醣溶液的黃色很明顯，而葡萄糖很淡，接近無色。

十三、實驗十三：相同濃度葡萄糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖與氫氧化鈉靜置後以市售簡易型分光光度計(Vernier)掃描吸收波長，並以桌上型光光度計(SH-U830)確認吸收度(29°C)。

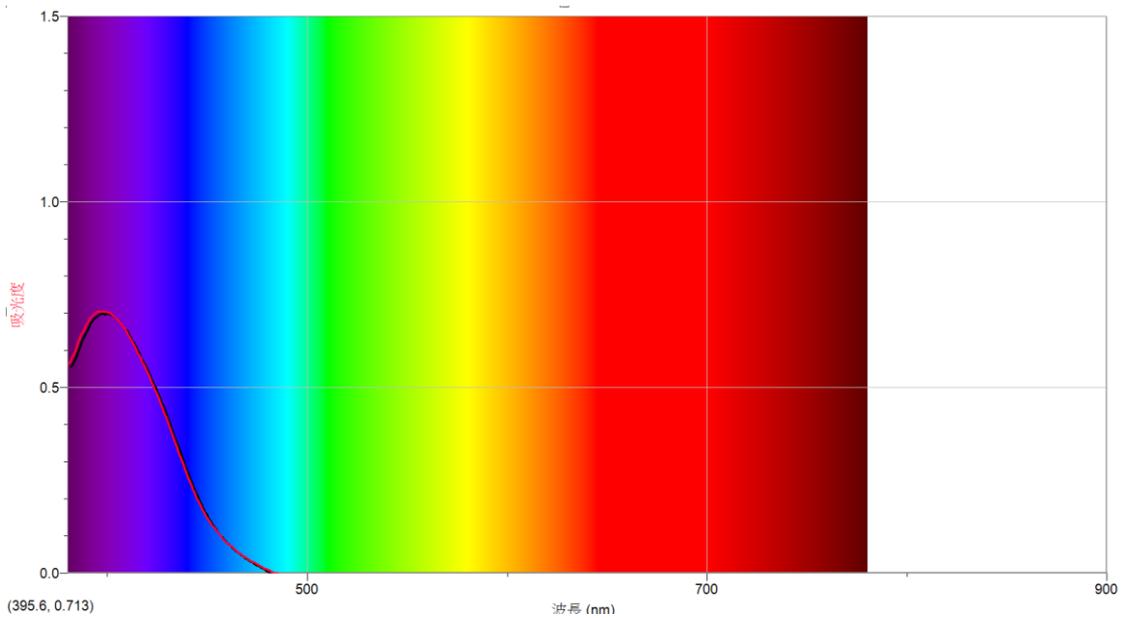
(一) 葡萄糖與氫氧化鈉靜置超過 4hr 後，以(Vernier)掃描吸收波長



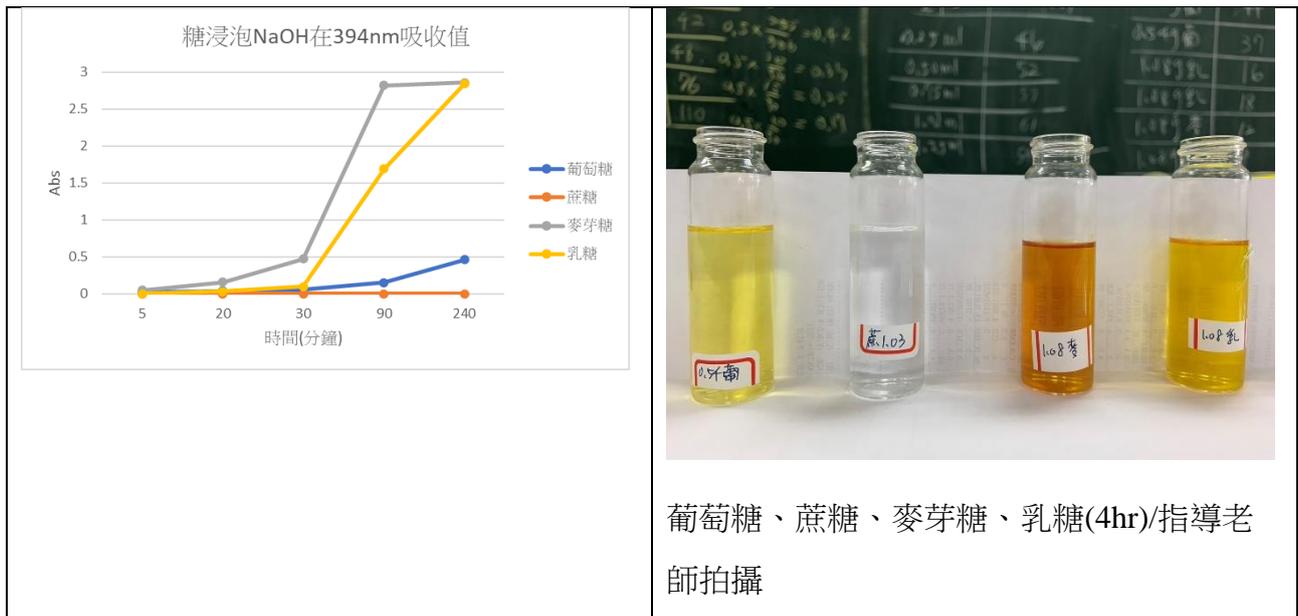
(二) 乳糖與氫氧化鈉靜置 40 分鐘後，以(Vernier)掃描吸收波長



(三) 麥芽糖與氫氧化鈉靜置 40 分鐘後，以(Vernier)掃描吸收波長

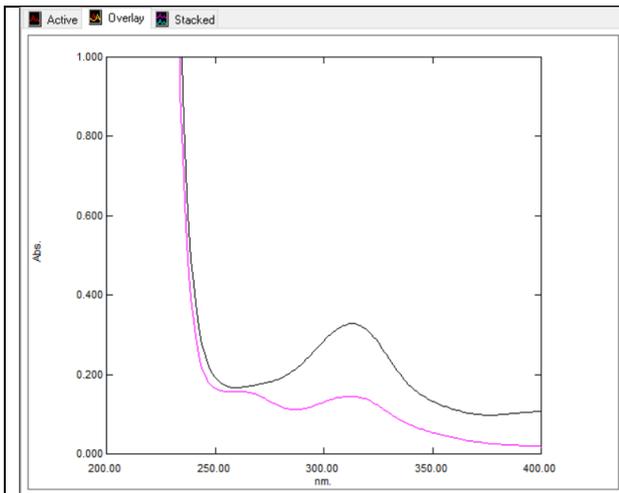


這三種糖約在 394nm 左右有較強吸收峰，故再以較精準的桌上型分光光度計比較吸收值，發現葡萄糖、麥芽糖、乳糖接隨著時間增加，外觀上黃色越明顯，麥芽糖甚至轉成褐色，在 394nm 處的吸收值也越大，而蔗糖則維持透明且沒有吸收。



葡萄糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖(4hr)/指導老師拍攝

十四、實驗十四：相同濃度葡萄糖、乳糖與氫氧化鈉靜置後以 UV(SHIMADZU)掃描 200-400nm 吸收度(29°C)



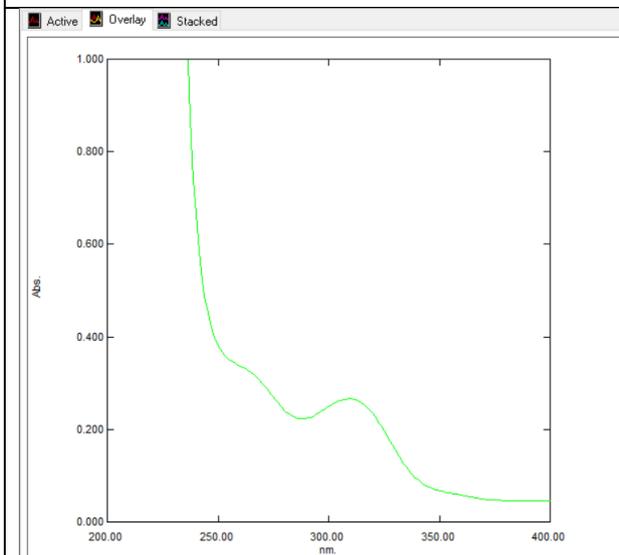
葡萄糖與氫氧化鈉靜置 10 分鐘與 30 分鐘的 UV 吸收

葡萄糖與氫氧化鈉靜置 10 分鐘後，在 313nm 吸收值 0.145

Peak Pick				
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		313.00	0.145	
2		287.00	0.112	

葡萄糖與氫氧化鈉靜置 30 分鐘後，在 313nm 吸收值 0.327

Peak Pick				
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		313.00	0.327	
2		376.00	0.097	
3		260.00	0.167	



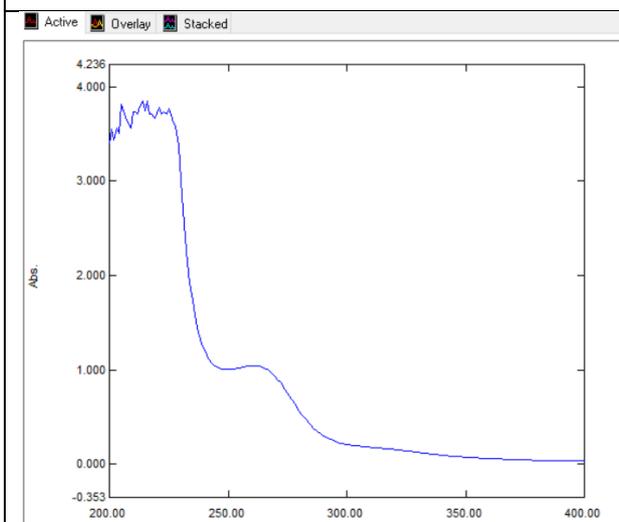
乳糖與氫氧化鈉靜置 30 分鐘的 UV 吸收

乳糖與氫氧化鈉靜置 15 分鐘後，在 308nm 吸收值 0.172

Peak Pick				
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		308.00	0.172	
2		292.00	0.160	

乳糖與氫氧化鈉靜置 30 分鐘後，在 309nm 吸收值 0.266

Peak Pick				
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		309.00	0.266	
2		288.00	0.222	

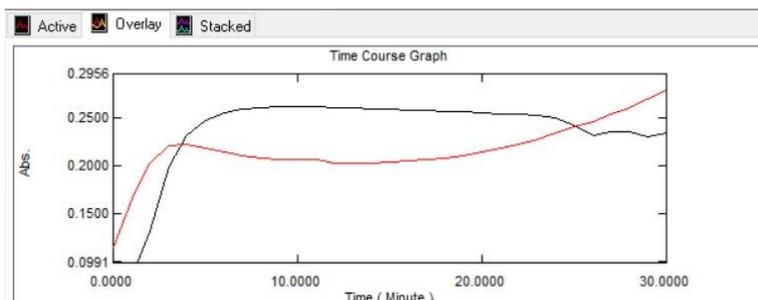


藍瓶實驗經反覆變色至溶液呈淡黃

Peak Pick				
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		261.00	1.043	
2		250.00	1.001	

藍瓶實驗經反覆變色至溶液呈淡黃，在 261nm 吸收值 1.043，相當接近 Wen-Jing Luo 等人(2020)所述，含有大量的共軛雙鍵高分子量物質(272nm)

## 272nm 的吸收值與時間的動力學分析

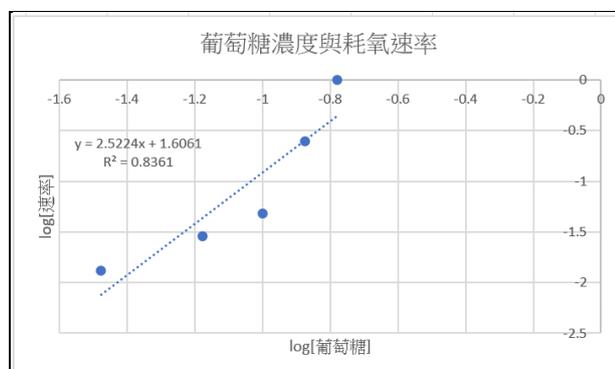


30 分鐘內，(黑色)葡萄糖隨時間增加，吸收值會達一最大值；(紅色)乳糖則趨於平緩後，有再增加的趨勢。表示葡萄糖、乳糖與鹼靜置便會產生含有大量的共軛雙鍵高分子量物質

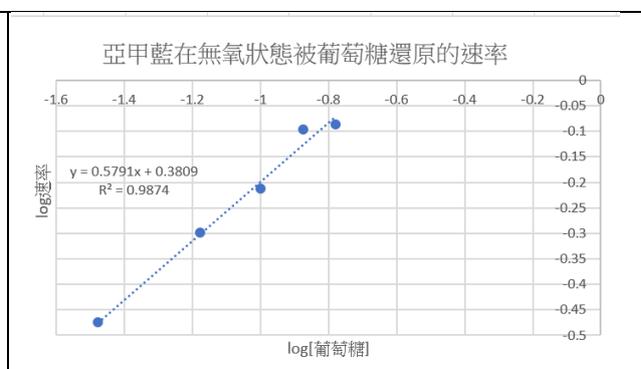
十五、實驗十五：重作實驗六、七，但將糖與鹼靜置時間縮短為 2 分鐘，確認濃度與變色速率(29°C)

將葡萄糖濃度與經過時間作表

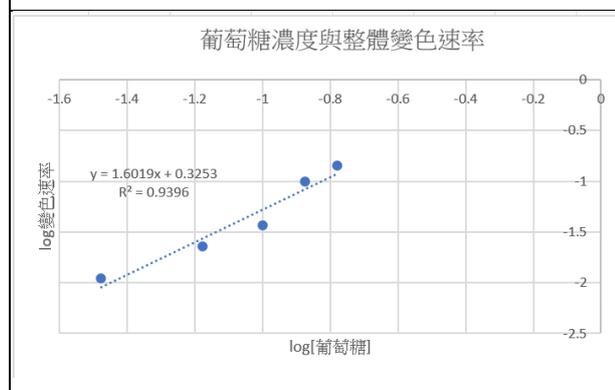
葡萄糖濃度 (M)	氧氣耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	氧氣消耗速率(1/ $\Delta t$ )	切線斜率(亞甲藍無氧還原)	亞甲藍耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	亞甲藍消耗速率(1/ $\Delta t$ )
0.033	77	0.013	0.335	90	0.011
0.067	35	0.029	0.503	44	0.023
0.100	21	0.048	0.613	27	0.037
0.133	4	0.250	0.800	10	0.100
0.167	1	1.000	0.821	7	0.143



由斜率可知反應級數為 2.5 級， $r^2=0.84$



由斜率可知反應級數為 0.6 級， $r^2=0.99$



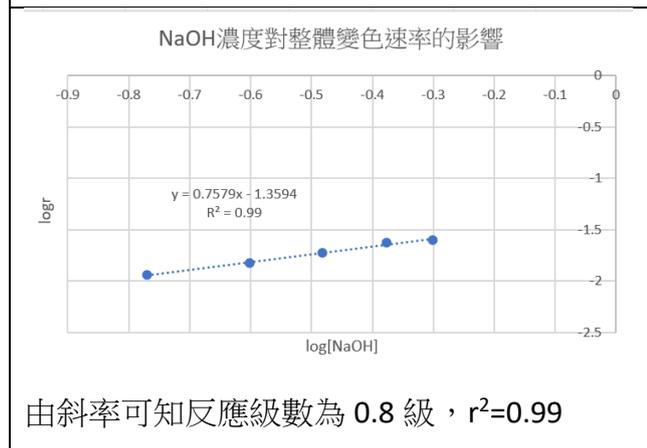
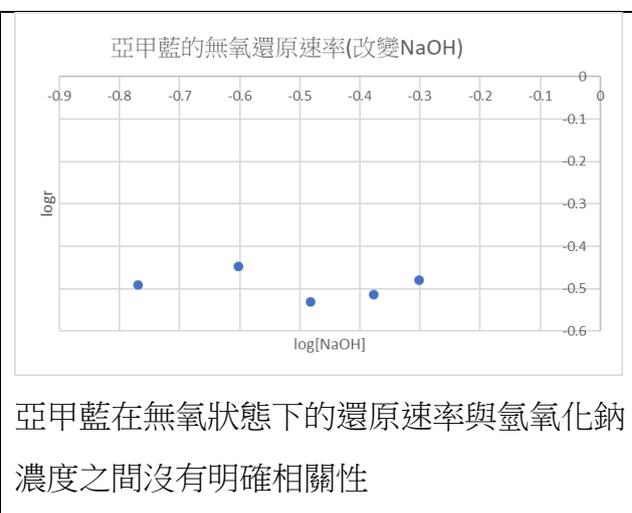
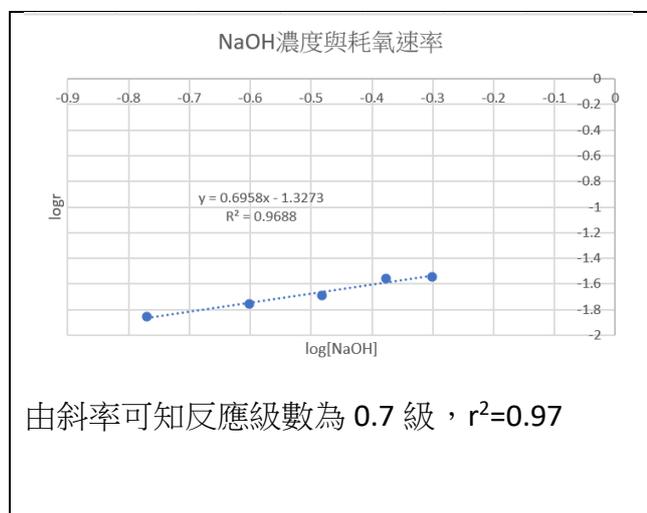
靜置時間	耗氧階段	無氧還原	整體變色
20 分鐘	1.5 級 $r^2=0.89$	0.6 級 $r^2=0.91$	1.3 級 $r^2=0.88$
2 分鐘	2.5 級 $r^2=0.84$	0.6 級 $r^2=0.99$	1.6 級 $r^2=0.94$

由斜率可知反應級數為 1.6 級， $r^2=0.94$

靜置時間越短，不論是耗氧階段還是整體變色速率，反應級數有增加的趨勢，代表葡萄糖濃度對速率的影響越明顯。

將氫氧化鈉濃度與經過時間作表

氫氧化鈉濃度(M)	氧氣耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	氧氣消耗速率( $1/\Delta t$ )	切線斜率(亞甲藍無氧還原)	亞甲藍耗盡時間 $\Delta t$ (秒)	亞甲藍消耗速率( $1/\Delta t$ )
0.50	35	0.028571	0.331	40	0.025
0.42	36	0.027778	0.306	42	0.02381
0.33	49	0.020408	0.294	53	0.018868
0.25	57	0.017544	0.357	67	0.014925
0.17	71	0.014085	0.323	87	0.011494



靜置時間	耗氧階段	無氧還原	整體變色
20 分鐘	0.4 級 $r^2=0.94$	0.5 級 $r^2=0.89$	0.5 級 $r^2=0.97$
2 分鐘	0.7 級 $r^2=0.97$	沒有相關性	0.8 級 $r^2=0.99$

靜置時間越短，不論是耗氧階段還是整體變色速率，反應級數有增加的趨勢，代表氫氧化鈉濃度對速率的影響越明顯。

## 伍、討論

一、一開始以肉眼去看亞甲藍的變色反應時，遇到乳糖濃度變大，但反應速率卻變慢或者不變的現象，認為可能是反應結束溶液變成澄清透明時，表面會有一層薄層的藍色，這會影響我們對反應結束時間的認定，又或者乳糖反應速率較葡萄糖快，觀察時的時間誤差容易放大。嘗試使用市售的分光光度計，但是打氣完還要將溶液裝入樣品吸光槽，會有時間的延遲，而且樣品吸光槽太小，難以將氧氣通入而不噴濺出液體。所以最後我們使用自製的光度計。

二、溫度會影響反應速率與水中的飽和氧氣濃度，所以後來我們同一個系列比較時，會在同一段時間內完成，並記錄溶液水溫。

三、用自製的光度計，測量反應前後吸光度的比較，因為要將實驗裝置放在暗箱，使用 LED 燈，利用光敏電阻吸光度的變化，測量反應開始及結束所需的時間，但 LED 燈顏色確定後，LED 燈的光度完全不足，光敏電阻的電壓沒有明顯變化，市面上也沒有高亮度的橘色 LED，後來將 LED 燈串連，使用電源供應器的 4.5V 供電，恰好讓 LED 燈有足夠亮度，又能隨者亞甲藍濃度有適切的電壓變化。在亞甲藍濃度  $5.1 \times 10^{-5} \text{ M} \sim 4.6 \times 10^{-4} \text{ M}$  之間(1~9 滴)相關係數達 0.8889，亞甲藍濃度過高可能會有二聚化的問題，故接下來都用 10 滴(0.5mL)下反應。

四、再重作實驗三、四，但將糖與鹼靜置時間縮短為 2 分鐘，發現葡萄糖、氫氧化鈉都有一個共通現象就是浸泡時間越久，不論是耗氧階段還是整體變色速率，反應級數都會減少，代表浸泡越久可能因為葡萄糖降解的關係使葡萄糖與氫氧化鈉濃度對速率的影響力降低，驗證文獻所述葡萄糖與氫氧化鈉不可浸泡過久，否則可能會有其他反應(葡萄糖降解與高分子量化合物的形成)發生，本實驗靜置 2 分鐘，整體變色速率  $r \propto [\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{1.6} [\text{NaOH}]^{0.8} [\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{0.8}$ 。(亞甲藍的部分沒有重做)

五、實驗五研究通入空氣時間對反應速率的影響，發現打氣時間在 20 秒以上時，亞甲藍變色時間略有增減，推論這可能是亞甲藍的莫耳數是固定的(0.5 毫升)，所以通入的空氣再多，也無法使更多的亞甲藍變成氧化態，而且水中的溶氧很可能也已達飽和，所以我們的打氣時間都固定 20 秒。

六、實驗六與實驗十研究亞甲藍濃度對速率的影響，不能像前面的實驗一樣取時間的倒數當反應速率，必須依定義將亞甲藍濃度除以反應時間，作速率與濃度的關係圖， $R^2=0.99$ ，可知速率對亞甲藍而言為 0.8 級反應(葡萄糖)和 1.1 級(乳糖)。

七、實驗八~十，用相同的自製光度計研究乳糖對變色速率的影響，得知整體變色速率  $r \propto [\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}]^{1.6} [\text{NaOH}]^{1.0} [\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{1.1}$ ，但是相同條件下乳糖的速率總快於葡萄糖。

八、綜合實驗六與實驗十五，在消耗氧氣階段，亞甲藍為催化劑，

$r \propto [\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{2.5} [\text{NaOH}]^{0.7} [\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^0$ ， $[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+] > 7.6 \times 10^{-4} \text{ M}$ 。比較 Adamč'ikov'a 等人

(1999) 提出第一階段氧氣存在下，耗氧速率  $v = \frac{-d[\text{O}_2]}{dt} = \frac{c[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}{1+d[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}$ ，耗氧速率與葡萄糖

濃度關係圖為曲線關係(葡萄糖濃度越大時耗氧速率增加較少)，相同的是跟亞甲藍濃度無

關。在亞甲藍的無氧還原階段， $r \propto [\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{0.6} [\text{NaOH}]^0 [\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^1$ ， $[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+] 2.6 \times 10^{-4}$

$\text{M} \sim 7.6 \times 10^{-4} \text{ M}$ 。比較 L'Ubica Adamč'ikov'a 等人(1999) 提出第二階段亞甲藍無氧狀態下消

耗速率  $= \frac{-d[\text{MB}^+]}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{MB}^+]$ ， $k_{\text{obs}} = \frac{a[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}{1+b[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}]}$ ， $a=6.4\text{M}^{-2}\text{s}^{-1}$ ， $b=76 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，本實驗相

同的是皆與亞甲藍濃度一次方成正比，但  $b[\text{葡萄糖}][\text{氫氧根}] > 1$ ，則  $k_{\text{obs}}$  與葡萄糖濃度無關，

但是我們所做還是與葡萄糖濃度有關。

九、由溫度對速率的影響推論活化能時，葡萄糖與亞甲藍反應活化能  $12.0\text{kJ}$ ，乳糖與亞甲藍

反應在高過  $45^\circ\text{C}$  會變成另一斜直線，推論有其他副反應發生，這可能是乳糖較葡萄糖在鹼

性條件、更高的溫度下，更容易降解並形成具有共軛雙鍵的高分子量物質所導致。

十、實驗十三，比較相同濃度葡萄糖、麥芽糖、乳糖的變色速率，發現速率是麥芽糖 > 乳糖

> 葡萄糖，實驗中唯一觀察到的不同是醣類與氫氧化鈉靜置 20 分鐘後，麥芽糖與乳糖呈現

很明顯的淡黃色，而葡萄糖的非常接近無色，推論在強鹼性條件下麥芽糖與乳糖較容易產生

此種黃色的物質。經過簡易型可見光分光光度計的分析，此溶液吸收波長約為  $394\text{nm}$ (紫外-

紫色光)，再經由桌上型可見光分光光度計 SH-U830 測  $394\text{nm}$  吸收度，其吸收度高低，與肉

眼觀察的紫色的互補色-黃色，深淺度一致。

十一、實驗十四，經由 UV 吸收光譜，在  $310\text{nm}$  左右有吸收峰， $272\text{nm}$  處雖沒有吸收峰，但

也明顯有吸收值，經由動力學分析，該  $272\text{nm}$  處吸收值隨時間增加，至 20 分鐘時，葡萄糖

吸收值約為 0.25，乳糖約 0.21。Wen-Jing Luo 等人(2020)分析此黃色物質紫外光吸收峰值位於

$272 \text{ nm}$ ，這歸因於高分子量物質中大量的共軛雙鍵，其吸收值與濃度呈線性關係(0-

$100\text{ppm}$ )，可以由其提供的檢量線，推算 20 分鐘時我們的高分子量物質濃度約為  $18\text{ppm}$ (葡

萄糖)與  $15\text{ppm}$ (乳糖)。

由於乳糖與鹼靜置產物在  $272\text{nm}$  也有吸收，我們推論乳糖也類似葡萄糖，在鹼性條件下久置

也會降解產生低分子量有機酸、醛類和酮，也會形成具有共軛雙鍵的高分子量物質；而藍瓶

實驗反覆變色後，呈淡黃色的溶液經 UV 確認其在  $261\text{nm}$  有吸收峰，應該也是高分子量物質

中大量的共軛雙鍵。

## 陸、結論

一、自製的光度計可依實驗者需要調整光源波長、強度、光徑長甚至光感應器接收波長區段。本實驗將 40 毫升樣本瓶置入暗箱，通入空氣後可以直接做光譜的動力學分析，可個別分析耗氧階段(亞甲藍當催化劑)、亞甲藍無氧還原階段以及整體變色速率的速率定律式；其中各研究報告使用氧氣感測電極或者分光光度計的不同、糖與鹼靜置時間與溫度的差異，就會變成研究的階段不同與還原糖的降解，這可能是造成速率定律式差異大的原因之一，而各個階段的精確反應級數還需要更多的數據來確認。

二、由氫氧化鈉與葡萄糖及亞甲藍間濃度對速率的影響可以推論整體變色的速率定律式為  $r=k[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{1.6}[\text{NaOH}]^{0.8}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{0.8}$ ，亞甲藍濃度  $2.6 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1.01 \times 10^{-3} \text{ M}$ 。

三、由氫氧化鈉與乳糖及亞甲藍間濃度對速率的影響可以推論整體變色的速率定律式為  $r=k[\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}]^{1.6}[\text{NaOH}]^{1.0}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{1.1}$ ，亞甲藍濃度  $2.6 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1.01 \times 10^{-3} \text{ M}$ 。

四、經由 UV 光譜在 272nm 的動力學分析，還原糖與鹼靜置時間越久，含有共軛雙鍵的高分子量物質有增加的趨勢，說明糖與鹼混合後要盡快與亞甲藍反應，久置或高溫可能會有糖的降解或其他反應發生，而使反應級數產生偏差。

五、我們推論乳糖也類似葡萄糖，在鹼性條件下也可能會降解產生低分子量有機酸、醛類和酮，以及形成具有共軛雙鍵的高分子量物質。

## 柒、參考資料

1. Laurens Anderson,<sup>\*</sup>† Stacy M. Wittkopp, Christopher J. Painter,<sup>‡</sup> Jessica J. Liegel,<sup>§</sup> Rodney Schreiner, Jerry A. Bell, and Bassam Z. Shakhshiri(2012) What Is Happening When the Blue Bottle Bleaches: An Investigation of the Methylene Blue-Catalyzed Air Oxidation of Glucose. *J. Chem. Educ.* 2012, 89, 1425–1431
2. Limpanuparb T, Roongruangsree P, Areekul C. 2017 A DFT investigation of the blue bottle experiment: *E*-half-cell analysis of autoxidation catalysed by redox indicators. *R. Soc. open sci.* 4: 170708. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.170708>
3. L'Ubica Adamč'íkov'a, Katar'ina Pavl'íkov'a, and Peter Sevč'ík. The methylene blue-d-glucose-O<sub>2</sub> system. Oxidation of d-glucose by methylene blue in the presence and the absence of oxygen. *International Journal of Chemical Kinetics*, 31(6):463–468, 1999
4. Wen-Jing Luo<sup>1</sup> | Hai-Qin Lu<sup>1</sup> | Fu-Hou Lei<sup>2</sup> | Li-Yun Cheng<sup>2</sup> | Kai Li<sup>1</sup> | Wen Li<sup>2</sup> Structural elucidation of high-molecular-weight alkaline degradation products of hexoses *Food Sci Nutr.* 2020;8:2848–2853.
5. NileRed(2016年9月18日)。The Blue Bottle Experiment[影片]。YouTube。  
<https://www.youtube.com/watch?v=6sJbNRSCoMA>
6. 維基百科  
<https://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E8%93%9D%E7%93%B6%E5%AE%9E%E9%AA%8C>
7. 英國皇家化學會 (Royal Society of Chemistry) 網頁資料  
<https://edu.rsc.org/experiments/the-blue-bottle-experiment/729.article>
8. 中華民國第 48 屆科展，高中組化學科，搖哩！搖勒！變色水
9. 中華民國第 51 屆科展，高中組化學科，DCPIP 變色比一比
10. 中華民國第 53 屆科展，高中組化學科，振盪藍色小精靈

## 【評語】 050209

此一研究工作的主題雖然在過去有許多類似的研究，此一研究和過去不同處在於：為了更方便於實驗上的操作和觀察，開發了好幾個自製的裝置來進行實驗或量測，值得鼓勵。以下兩點建議：1) 在報告中有介紹過往文獻資料，但是如果可以清楚列出本科展內容與過去文獻相比的精進之處，會更好。2) 建議未來可以多往新的類似反應去探討和發展。

## 作品簡報

神奇藍水瓶

## 摘要

本研究探討藍瓶實驗的動力學以及糖與鹼久置、藍瓶實驗不再變色後會產生黃褐色物質的問題。自製光度計，由電壓變化更能更精確測量亞甲藍濃度隨時間變化。

對葡萄糖而言，推論整體反應變色速率定律式為 $r=k[C_6H_{12}O_6]^{1.6}[NaOH]^{0.8}[C_{16}H_{18}N_3S^+]^{0.8}$ ，亞甲藍 $2.6 \times 10^{-4} M \sim 1.01 \times 10^{-3} M$ 。

對乳糖而言，推論整體反應變色速率定律式為 $r=k[C_{12}H_{22}O_{11}]^{1.6}[NaOH]^{1.0}[C_{16}H_{18}N_3S^+]^{1.1}$ ，亞甲藍 $2.6 \times 10^{-4} M \sim 1.01 \times 10^{-3} M$ 。

糖與鹼混合後要立即與亞甲藍反應，久置或高溫可能會有糖的降解或其他反應發生。經由UV光譜動力學分析，在272nm處吸收值隨時間增加而增加，推論乳糖也類似葡萄糖，在鹼性條件下也可能會降解產生低分子量有機酸、醛類和酮，以及形成具有共軛雙鍵的高分子量物質。

## 壹、前言

### 一、研究動機

因為學校專題製作之課程引導我們自行發想主題並深入研究，在查詢主題時，偶然見到變色水之實驗，雖然本主題並不新穎，但我們認為此實驗之反應機制仍值得去探討與深入，且反應原理及操作步驟看似易上手，而老師也建議我們嘗試並參加科展。所以我們設計了實驗並付諸行動，但發現各實驗結果與網路資料有些出入，而透過本次科展的探究與研析，希望可以使大家對“藍瓶實驗”有更深的認識與了解。

### 二、研究目的

(一)、以自製光度計分析葡萄糖、氫氧化鈉、亞甲藍濃度、通入空氣對亞甲藍變色速率的影響

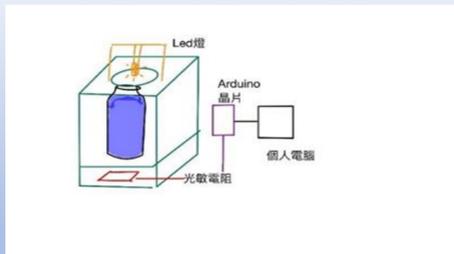
(二)、以自製光度計分析乳糖、氫氧化鈉、亞甲藍濃度對亞甲藍變色速率的影響

(三)、以恆溫槽控制溫度，測量溫度對葡萄糖、乳糖與亞甲藍變色速率的影響並以阿瑞尼士方程式求出活化能(肉眼直接觀測)。

(四)、探討葡萄糖、乳糖等與強鹼靜置後產生的黃色物質。

## 貳、研究設備

Vernier簡易型分光光度計  
SH-U830桌上型分光光度計  
SHIMADZU UV-1900  
電動打氣機  
恆溫槽



## 參、研究過程及方法

### 一、光度計設計原理

本自製光度計利用光學原理，光源是橘色 LED 燈，底部是光敏電阻，當光線穿過一定量高度的溶液時，溶液會吸收某些特定的波長，從光敏電阻的電壓變化可以推論水溶液的濃度變化

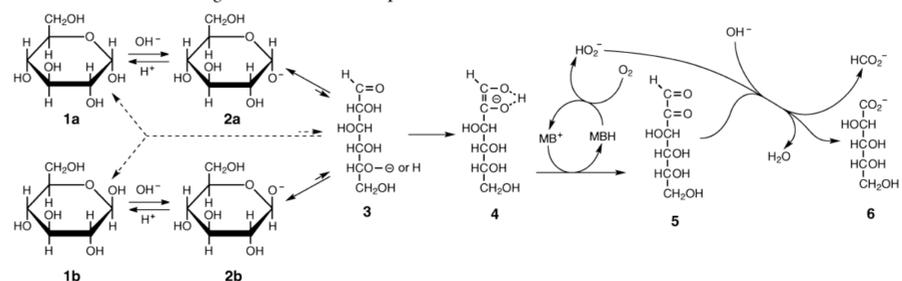
### 二、化學反應原理

由Laurens Anderson等人(2012)，藍瓶反應可能涉及兩個主要的步驟，第一階段初始階段涉及環狀葡萄糖在鹼性條件的解離( $\alpha$ -葡萄糖的 $pK_a$ 值為 12.5， $\beta$ -葡萄糖的 $pK_a$ 值為 12.2)，少部分的平衡移動至直鏈結構，拔走 $\alpha$ 位置的氫離子，形成烯二醇陰離子，然後是烯二醇陰離子與亞甲基藍發生氧化還原反應，生成 glycosulose D-arabino-hexos-2-ulose (5) (傳統名稱：glucosone)和亞甲基白 (MBH)。

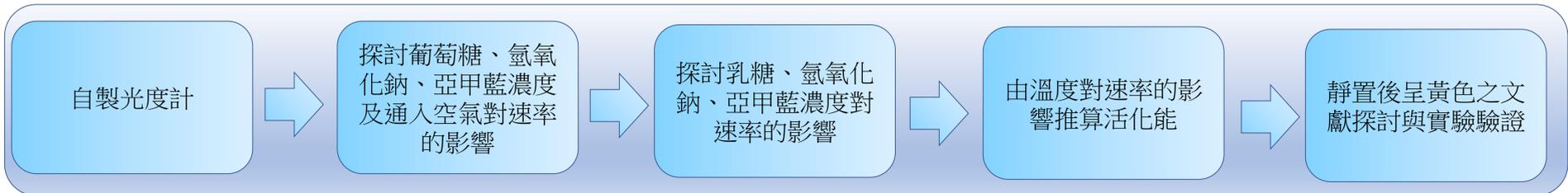
在第二階段，亞甲基白色一形成，溶氧立即重新將其氧化，從而保持染料主要呈現藍色  $MB^+$  形式。此反應產生過氧化氫。這最後一步也是葡萄糖的裂解，生成五個碳的酸根陰離子。當氧氣耗盡，亞甲藍會被還原成無色的溶液。

Laurens Anderson等人(2012)，認為藍瓶反應的速率直接與還原糖和亞甲藍的濃度成正比，但與氫氧根離子濃度非線性相關。但是要注意的是增加  $MB^+$  的濃度確實會導致速率增加，然而，隨著 $MB^+$ 濃度越大，反應速率增加的量越少，這是因為亞甲藍在濃度高時會偶合。

Scheme 1. Reactions Occurring in the Blue Bottle Experiment<sup>44</sup>

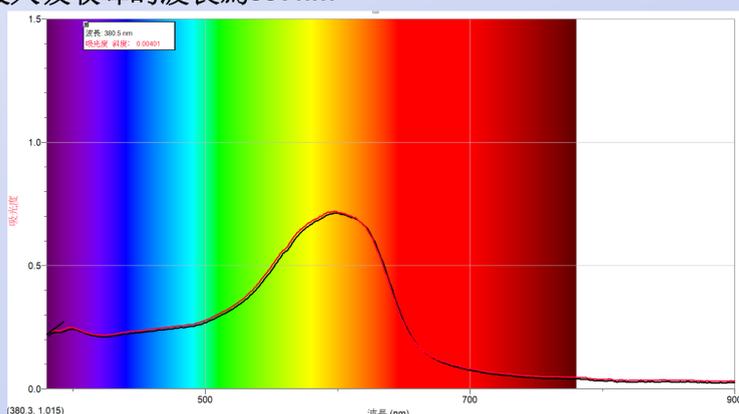


Wen-Jing Luo等人(2020)為研究六碳糖在鹼性環境的降解與聚合，將等體積的葡萄糖(w/w, 20%) 和 NaOH 溶液 (w/w, 5%) 混合，60°C 下反應 1 小時，產生的高分子量聚合物經過透析等純化程序，並以各種包含NMR、UV、FTIR等方法確認結構與官能基，此高分子量聚合物含有醛基、羧酸鹽、烯基(UV吸收峰在272nm的大量共軛雙鍵)、醇類羥基、飽和烷類，Wen-Jing Luo等人(2020)推論在己糖鹼性降解反應過程中產生大量低分子量有機酸、醛類和酮，醛和部分酮容易參與羥醛縮合反應(aldolization reaction)，從而生成含有羥基的醛化合物。羥醛縮合產物可以高溫脫水轉化成烯醛。羥醛縮合是一種重要的有機反應，形成新的C-C或C=C鍵並增加碳鏈。烯醛含有兩個不飽和雙鍵，具有活躍的化學性質，可以聚合形成高分子量化合物。

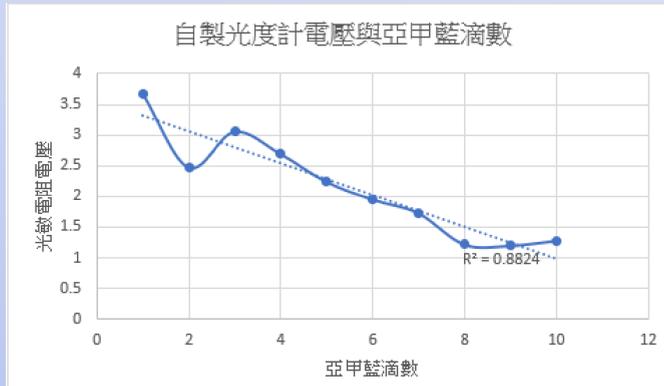


## 肆、研究結果

一、實驗一：以市售簡易型可見光光度計分析亞甲藍可見光吸收光譜可知最大吸收峰的波長為597nm

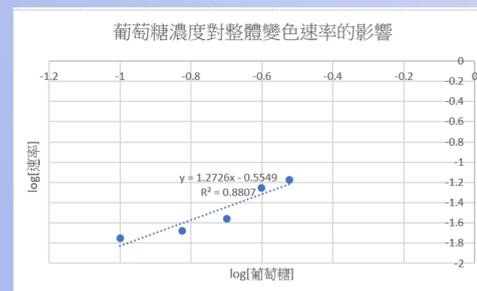
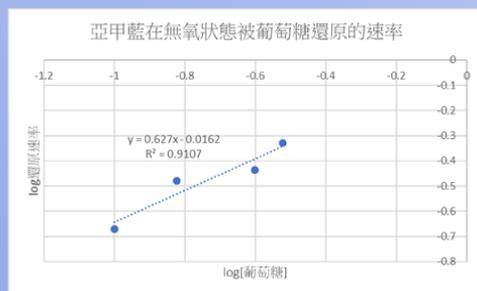
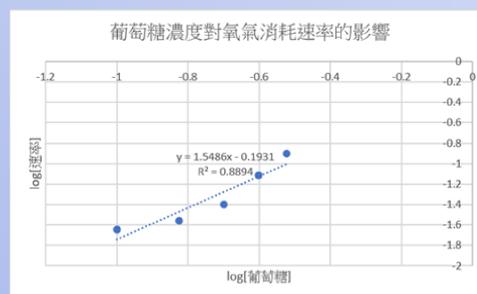
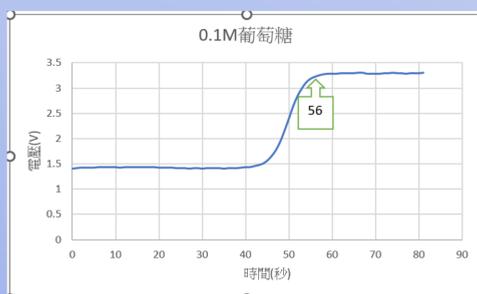


二、實驗二：以自製光度計分析不同滴數的亞甲藍電壓變化(溫度21.4°C)

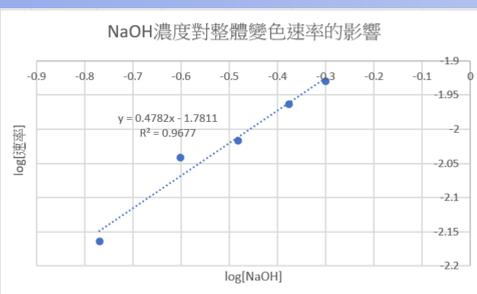
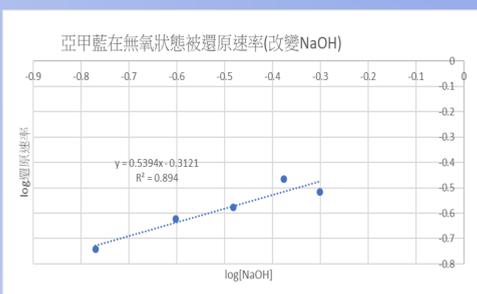
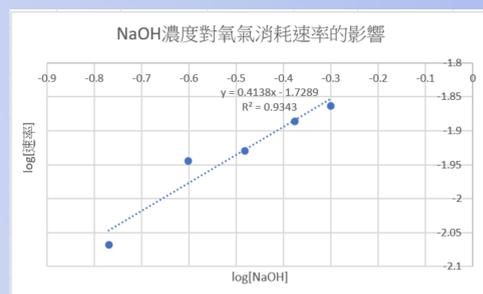


三、實驗三：以自製光度計分析葡萄糖濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度21.4°C)

從電壓與時間關係圖，可看到亞甲藍在反應初始濃度幾乎不變，而氧氣幾乎耗盡時，亞甲藍濃度才快速減少，而且減少的過程斜率幾乎是固定的斜直線。這一結果可與L'Ubica Adamč íkov á等人(1999)在研究動力學時，同時測定亞甲藍吸收度與水中氧氣濃度變化參照，當氧氣濃度趨近於耗盡時，亞甲藍吸收度才開始明顯減少。耗氧階段、無氧還原、整體變色速率對葡萄糖而言分別為1.5級、0.6級、1.3級。

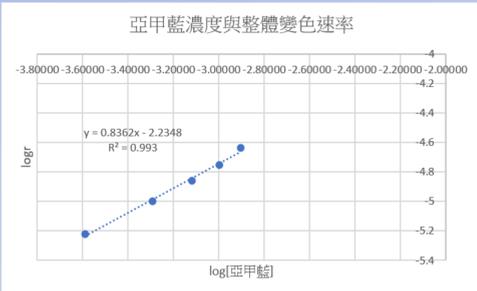
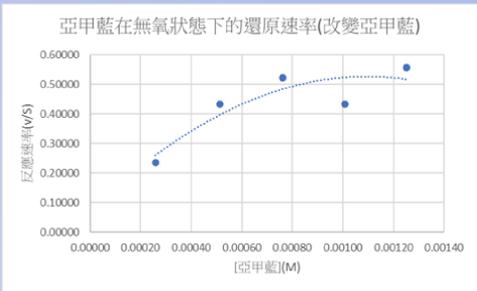
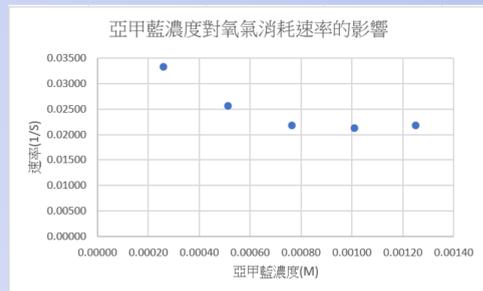


四、實驗四：以自製光度計分析氫氧化鈉濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度22.4°C)



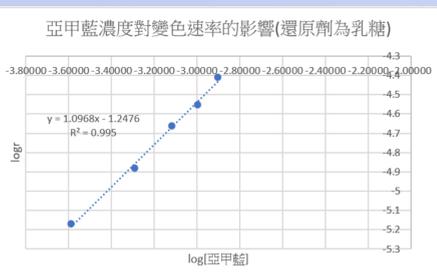
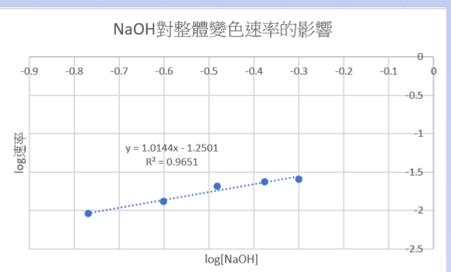
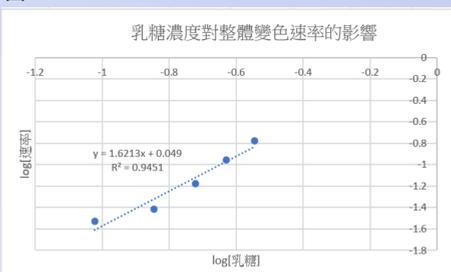
從這個實驗可以知道無論是在耗氧階段、亞甲藍無氧還原階段還是整體變色速率，氫氧化鈉反應級數約0.5級

五、實驗六：以自製光度計分析亞甲藍(MB<sup>+</sup>)濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響(溫度22.8°C)



耗氧階段，亞甲藍濃度 > 0.00076M，不影響耗氧速率；在無氧狀態，亞甲藍還原速率約與亞甲藍濃度成正比，但亞甲藍濃度大於0.00076M時隨MB<sup>+</sup>濃度越大，反應速率增加的量越少

六、實驗八至十：以自製光度計分析乳糖濃度對亞甲藍顏色變化速率的影響

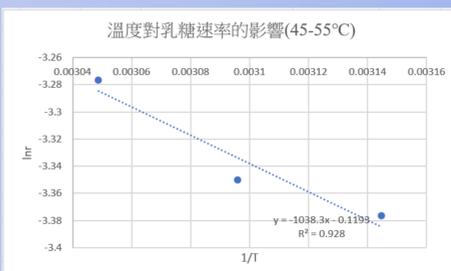
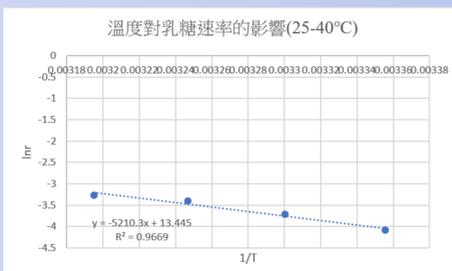
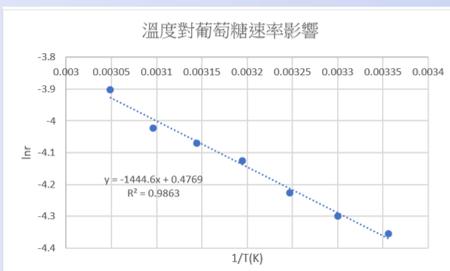


由氫氧化鈉與乳糖及亞甲藍間濃度對速率的影響可以推論整體變色的速率定律式為

$$r = k[C_{12}H_{22}O_{11}]^{1.6}[NaOH]^{1.0}[C_{16}H_{18}N_3S^+]^{1.1}$$

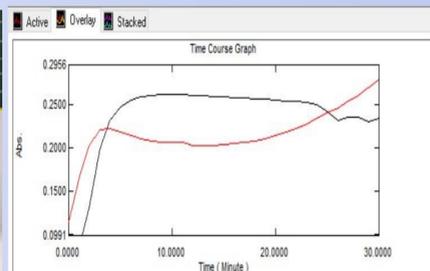
亞甲藍濃度  $2.6 \times 10^{-4} M \sim 1.01 \times 10^{-3} M$

## 七、推算活化能



葡萄糖活化能12kJ，乳糖由於溫度45°C以上，失去線性關係，分兩段推算活化能，為43.3kJ(40°C以下)及8.6kJ(45-55°C)，推論45°C以上可能有其他副反應發生，導致活化能改變。

## 八、靜置後呈黃色之探討



272nm吸收度，30分鐘內，(黑色)葡萄糖隨時間增加，吸收值會達一最大值；(紅色)乳糖則趨於平緩後，有再增加的趨勢。表示葡萄糖、乳糖與鹼靜置便會產生含有大量的共軛雙鍵高分子量物質

## 伍、討論

- 一、溫度會影響反應速率與水中的飽和氧氣濃度，所以同一個系列比較時，會在同一段時間內完成，並記錄溶液水溫。
  - 二、用自製的光度計，市面上沒有高亮度的橘色LED，光敏電阻的電壓沒有明顯變化，後來將LED燈串連，使用電源供應器的4.5V供電，恰能隨者亞甲藍濃度有適切的電壓變化。在亞甲藍濃度 $5.1 \times 10^{-5} \text{ M} \sim 4.6 \times 10^{-4} \text{ M}$ 之間(1~9滴)相關係數達0.8889，亞甲藍濃度過高可能會有二聚化的問題，故接下來都用10滴(0.5mL)下反應。
  - 三、再重作實驗三、四，但將糖與鹼靜置時間縮短為2分鐘，發現葡萄糖、氫氧化鈉都有一個共通現象就是浸泡時間越久，不論是耗氧階段還是整體變色速率，反應級數都會減少，代表浸泡越久可能因為葡萄糖降解的關係使葡萄糖與氫氧化鈉濃度對速率的影響力降低，驗證文獻所述葡萄糖與氫氧化鈉不可浸泡過久，否則可能會有其他反應(葡萄糖降解與高分子量化合物的形成)發生，整體變色速率 $r \propto [\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{1.6}[\text{NaOH}]^{0.8}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{0.8}$ 。(亞甲藍不需靜置所以沒有重做)
  - 四、實驗八~十，自製光度計研究乳糖對變色速率的影響，整體變色速率 $r \propto [\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}]^{1.6}[\text{NaOH}]^{1.0}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{1.1}$ ，但是相同條件下乳糖的速率總快於葡萄糖。
  - 五、由溫度對速率的影響推論活化能時，葡萄糖斜率固定，而乳糖與亞甲藍反應在高過45°C會變成另一斜直線，推論有其他副反應發生，這可能是乳糖較葡萄糖在鹼性條件、更高的溫度下，更容易降解並形成具有共軛雙鍵的高分子量物質所導致。
  - 六、實驗十三，比較相同濃度葡萄糖、麥芽糖、乳糖的變色速率，發現速率是麥芽糖 > 乳糖 > 葡萄糖，實驗中唯一觀察到的不同是醣類與氫氧化鈉靜置20分鐘後，麥芽糖與乳糖呈現很明顯的淡黃色，而葡萄糖的非常接近無色，推論在強鹼性條件下麥芽糖與乳糖較容易產生此種黃色的物質。經由桌上型可見光分光光度計SH-U830測394nm吸收度，其吸收度高低，與肉眼觀察的紫色的互補色-黃色，深淺度一致。
  - 七、實驗十四，經由UV吸收光譜，在310nm左右有吸收峰，272nm處雖沒有吸收峰，但也明顯有吸收值，經由動力學分析，該272nm處吸收值隨時間增加，至20分鐘時，葡萄糖吸收值約為0.25，乳糖約0.21。Wen-Jing Luo等人(2020)分析此黃色物質紫外光吸收峰值位於272 nm，這歸因於高分子量物質中大量的共軛雙鍵，其吸收值與濃度呈線性關係(0-100ppm)，可以由其提供的檢量線，推算20分鐘時我們的高分子量物質濃度約為18ppm(葡萄糖)與15ppm(乳糖)。
- 由於乳糖與鹼靜置產物在272nm也有吸收，我們推論乳糖也類似葡萄糖，在鹼性條件下久置也會降解產生低分子量有機酸、醛類和酮，也會形成具有共軛雙鍵的高分子量物質；而藍瓶實驗反覆變色後，呈淡黃色的溶液經UV確認其在261nm有吸收峰，應該也是高分子量物質中大量的共軛雙鍵。

## 陸、結論

- 一、自製的光度計可依實驗者需要調整光源波長、強度、光徑長甚至光感應器接收波長區段。本實驗將40毫升樣本瓶置入暗箱，通入空氣後可以直接做光譜的動力學分析，可個別分析耗氧階段(亞甲藍當催化劑)、亞甲藍無氧還原階段以及整體變色速率的速率定律式；其中各研究報告使用氧氣感測電極或者分光光度計的不同、糖與鹼靜置時間與溫度的差異，就會變成研究的階段不同與還原糖的降解，這可能是造成速率定律式差異大的原因之一，而各個階段的精確反應級數還需要更多的數據來確認。
- 二、由氫氧化鈉與葡萄糖及亞甲藍間濃度對速率的影響可以推論整體變色的速率定律式為 $r = k[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^{1.6}[\text{NaOH}]^{0.8}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{0.8}$ ，亞甲藍濃度 $2.6 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1.01 \times 10^{-3} \text{ M}$ 。
- 三、由氫氧化鈉與乳糖及亞甲藍間濃度對速率的影響可以推論整體變色的速率定律式為 $r = k[\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}]^{1.6}[\text{NaOH}]^{1.0}[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}^+]^{1.1}$ ，亞甲藍濃度 $2.6 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1.01 \times 10^{-3} \text{ M}$ 。
- 四、經由UV光譜在272nm的動力學分析，還原糖與鹼靜置時間越久，含有共軛雙鍵的高分子量物質有增加的趨勢，說明糖與鹼混合後要盡快與亞甲藍反應，久置或高溫可能會有糖的降解或其他反應發生，而使反應級數產生偏差。
- 五、我們推論乳糖也類似葡萄糖，在鹼性條件下也可能會降解產生低分子量有機酸、醛類和酮，以及形成具有共軛雙鍵的高分子量物質。

## 柒、參考資料

1. Laurens Anderson,\*† Stacy M. Wittkopp, Christopher J. Painter,‡ Jessica J. Liegel,§ Rodney Schreiner, Jerry A. Bell, and Bassam Z. Shakhshiri(2012) What Is Happening When the Blue Bottle Bleaches: An Investigation of the Methylene Blue-Catalyzed Air Oxidation of Glucose. J. Chem. Educ. 2012, 89, 1425–1431
2. Limpanuparb T, Roongruangsree P, Areekul C. 2017 A DFT investigation of the blue bottle experiment: E<sup>o</sup> half-cell analysis of autoxidation catalysed by redox indicators. R. Soc. open sci. 4: 170708.
3. L'Ubica Adam'c'ikov' a, Katar'ina Pavl'ikov' a, and Peter Sev'c'ik. The methylene blue-d-glucose-O<sub>2</sub> system. Oxidation of d-glucose by methylene blue in the presence and the absence of oxygen. International Journal of Chemical Kinetics, 31(6):463–468, 1999
4. Wen-Jing Luo<sup>1</sup> | Hai-Qin Lu<sup>1</sup> | Fu-Hou Lei<sup>2</sup> | Li-Yun Cheng<sup>2</sup> | Kai Li<sup>1</sup> | Wen Li<sup>2</sup> Structural elucidation of high-molecular-weight alkaline degradation products of hexoses Food Sci Nutr. 2020;8:2848–2853.
5. NileRed(2016年9月18日)。The Blue Bottle Experiment[影片]。YouTube。 <https://www.youtube.com/watch?v=6sJbNRSCoMA>
6. 維基百科 <https://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E8%93%9D%E7%93%B6%E5%AE%9E%E9%AA%8C>
7. 英國皇家化學會 (Royal Society of Chemistry) 網頁資料 <https://edu.rsc.org/experiments/the-blue-bottle-experiment/729.article>
8. 中華民國第48屆科展，高中組化學科，搖哩！搖勒！變色水
9. 中華民國第51屆科展，高中組化學科，DCPIP變色比一比
10. 中華民國第53屆科展，高中組化學科，振盪藍色小精靈