新竹市第四十一屆中小學科學展覽會

作品說明書

科　　別：化學科

組　　別：國中組

作品名稱:「能量行不行」－以自製簡易光度計測定飲料中還原糖含量

關 鍵 詞：葡萄糖、自製簡易光度計、雙硝基水楊酸（最多 3 個）

編　　號：112JA-C002

「能量行不行」－以自製簡易光度計測定飲料中還原糖含量

摘要（300 字以內）

生物課中學到，能利用本氏液去測溶液中是否含有葡萄糖，促使我們想進一步測量溶液中葡萄糖的含量，於是我們利用葡萄糖結構中的醛基具有還原性，在鹼性條件、100℃的熱水浴中加熱 10 分鐘，能將黃色雙硝基水楊酸還原，產生紅棕色的 3-氨基-5 硝基水楊酸，並利用自製的簡易光度計去定量溶液中的葡萄糖，其光源是採用 540nm 的綠光進行量測，並製作葡萄糖的檢量線，檢量線的線性指標 R^2=0.991，顯示具有良好的線性關係，此外，本研究中各個變因最佳化的過程中，其相對誤差低介於 0.06%到 4.6%之間，實驗結果具有不錯的再現性，為一個便宜、快速、準確、可靠的定量方式。

壹、　前言(含研究動機、目的、文獻回顧)

一、研究動機

生物實驗課中進行葡萄糖的測定，是利用本氏液顏色變化檢測葡萄糖，但這方法無法精準定量葡萄糖的含量，於是我們請教老師，是否有其他方法可以方式可以測量葡萄糖的濃度呢？此外，生活中常見的廣告「你累了嗎？保力達蠻牛～」、「RedBull～給你一對翅膀～」這些耳熟能詳的廣告台詞，不禁讓人懷疑，能量飲料真的有如此神奇效果嗎？上網查詢資料並請教過老師後，才發現可能是因為這些能量飲料含有葡萄糖小分子，這些小分子有助於身體的吸收；於是我們想設計一種測量方式，來測定能量飲料中的葡萄糖含量，我們查到文獻資料有提到：利用「DNS 試劑測定還原醣濃度方法」因此，我們整合了這些疑問和概念，希望能透過這項研究建立快速、方便、測定葡萄糖(還原糖)方法的條件，並應用於市售能量飲料的檢測。

二、研究目的

(一) 探討加熱時間效應

(二) 探討加熱溫度效應

(三) 探討氫氧化鈉濃度/pH 值效應

(四) 葡萄糖濃度與檢量線線性關係

(五) 真實樣品檢測的應用－未知樣品（教師配置）

(六) 真實樣品檢測的應用－葡萄糖粉

(七) 真實樣品檢測的應用－能量飲料

(八) 真實樣品檢測的應用－無糖紅茶

(九) 能量飲料中葡萄糖濃度實測與能量關係

三、文獻回顧

(一) 研究與教材相關性

1. 本研究結合自然(一)康軒版：科學方法：(1)觀察 (2)提出問題 (3)參考文獻 (4)提出假說 (5)實踐設計 (6)分析結果 (7)結論。
2. 自然(一) 康軒版　第二章 食物養分與能量。
3. 自然(二) 康軒版　第三章 光合作用。
4. 自然(四) 康軒版　第二章 氧化還原作用。

(二) 研究特色

1. 自製簡易光度計測定葡萄糖
2. 結合生物課本葡萄糖檢測的知識概念。
3. 探討能量飲料中還原糖濃度與產生熱量(能量)的關係。
4. 兼具理論與實際應用。

(三) 葡萄糖特性回顧

1. 葡萄糖是一種分子式 $C_6H_{12}O_6$ 水溶液，構造含五個羥基與一個醛基，因此具有多元醇和醛的性質。葡萄糖為無色結晶或白色結晶性或者為顆粒性粉末，無臭、味甜、

易溶於水、易吸濕性特性。

2. 葡萄糖在生物學領域非常重要，是活細胞的能量來源和新陳代謝的中間產物；此外，植物可利用行光合作用產生葡萄糖。

3. 葡萄糖具有還原性，著名的銀鏡反應就是根據這個原理進行的：

$$RCHO_{(aq)} + 2Ag(NH_3)^{+}_{2(aq)} + 2OH^{-}_{(aq)} \rightarrow RCOO^{-}_{(aq)} + 2Ag_{(s)} \downarrow + 3NH_{(aq)} + H_2O_{(l)}$$

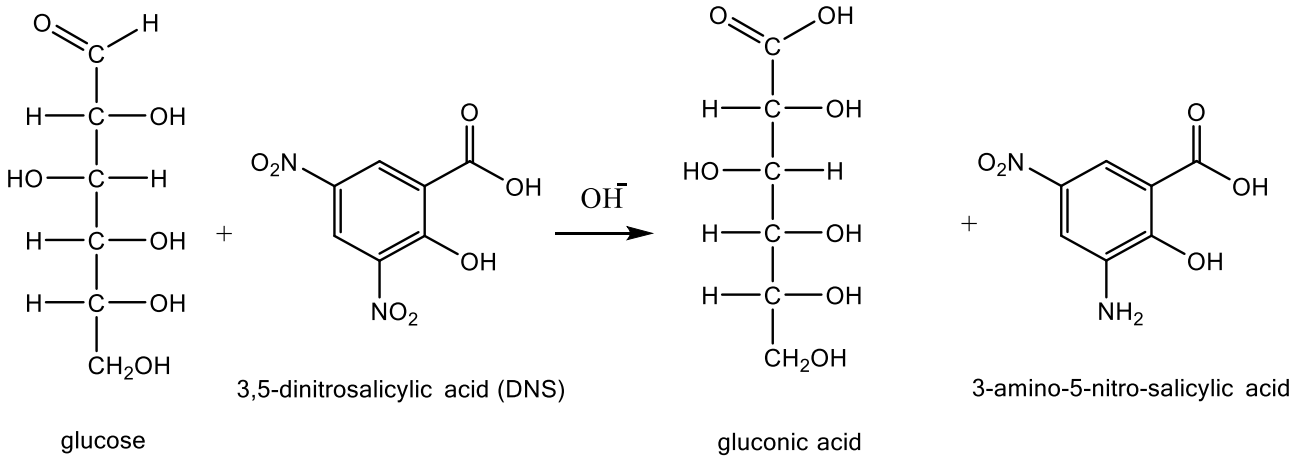
4. 葡萄糖還可以與氫氧化銅反應生成氧化亞銅：

$$RCHO_{(aq)} + 2Cu^{+2}_{(aq)} + 4OH^{-}_{(aq)} \rightarrow RCOOH_{(aq)} + Cu_2O_{(s)} \downarrow + 2H_2O_{(l)}$$

5. 生活應用：葡萄糖很容易被吸收進入血液，人類常以其作強而有力的快速能量來源。除此之外，葡萄糖對腦部正常功能極為重要，高循環血糖濃度可產生葡萄糖強化記憶效應（Glucose Memory Facilitation Effect），並促進記憶力和認表現。但是如果血液中的葡萄糖濃度過高，將可能導致肥胖、高血糖和糖尿病。過低則可能為低血糖症或引起胰島素休克。

(四) DNS 測定原理

DNS 其原理：係利用 DNS 在鹼性環境之下，具還原力的特性，將碳水化合物中期有游離的醛基反應 (在鹼性溶液下進行反應)3,5-dinitrosalicylic acid (橘紅色)於其線性範圍內，顏色深淺和還原糖量成正比，以 $C_6H_{12}O_6$ 製作檢量線計算樣品中還原糖含量，反應如下所示。



(五) 分光光度計的原理

找出分析物的最大吸收光的波長，然後讓這個「單一色光」穿過樣品溶液之後，以光感測器量測這個單一色光的衰減程度，並將此衰減程度量化成數字。最後，以單一色光被樣品溶液所吸收的比例，來呈現測量結果(也可以穿透的比例來呈現)；依據比爾-朗伯定律(Beer-Lambert Law)，其吸收度直接與溶液的路徑長度及吸收物種的濃度成正比，關係式如下。

$$A = -log\frac{P}{P_0} = \epsilon \cdot b \cdot c$$

A＝吸收度

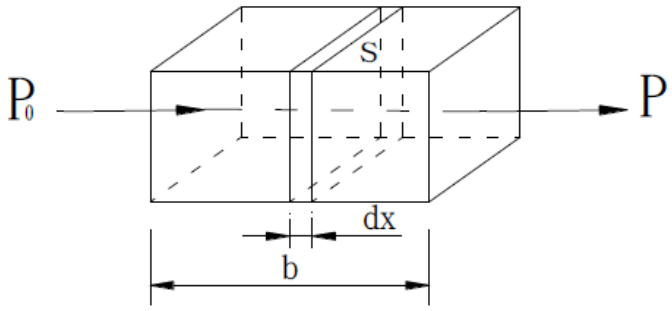
P_0＝入射光強度

P＝穿透光強度

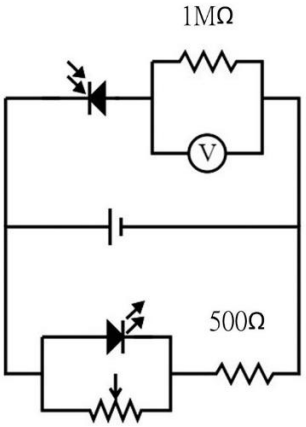
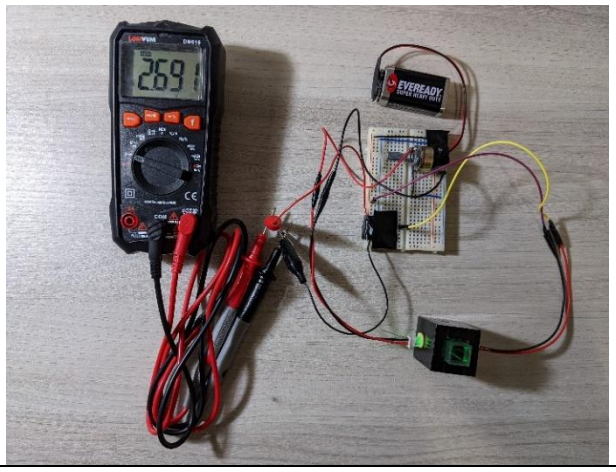
ε ＝吸收係數

b＝路徑長厚度

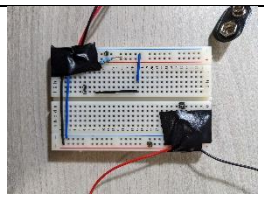
c＝溶液濃度



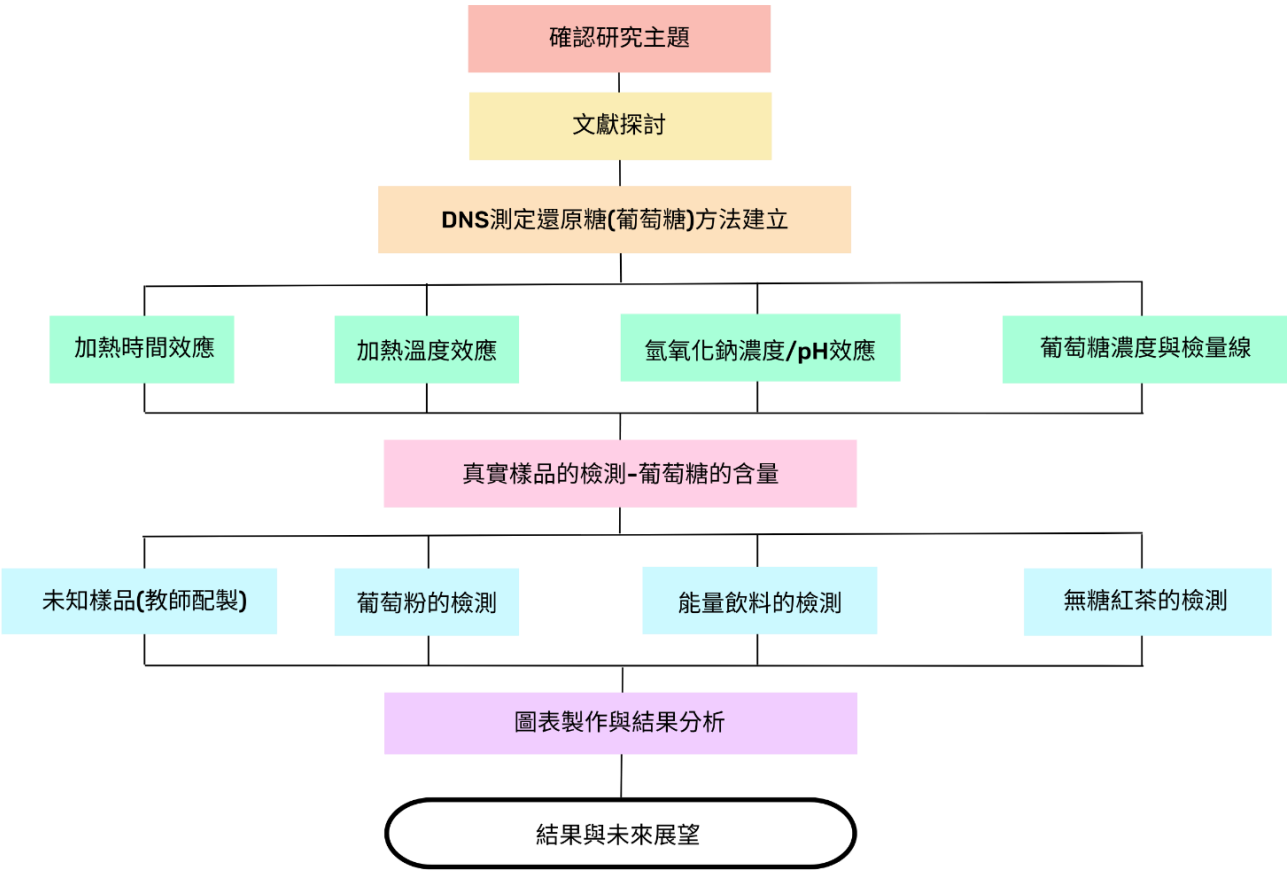
上網查詢後，我們發現一台光度計的費用動輒數萬元甚至數十萬元不等，於是我們找老師討論是否有可能自製光度計，以取代昂貴的儀器設備，最後老師帶我們購買了簡單的器材，設計出一台簡易的光度計，電路圖、成品如圖所示。

自製光度計電路圖	自製光度計實際成品圖
	

貳、　研究設備及器材

酒石酸鉀鈉	雙硝基水楊酸	葡萄糖	氫氧化鈉
三用電表	酒精燈	微量滴管	定量瓶
			
加熱攪拌器	電子天平	恆溫水槽	麵包板與導線
光電二極體與 LED	可變電阻與 9V 電池	光吸收盒與比色管	杜邦線

參、　研究過程或方法



一、配製不同濃度的葡萄糖水溶液

(一) 取 1.00g 葡萄糖置入 100mL 的量液瓶，加水溶解後，稀釋至標線，即可得 1%的葡萄糖溶液，將溶液放於血清瓶備用。

(二) 分別取 1mL、2mL、3 mL、4 mL、5 mL、的 1%的葡萄糖溶液於定量瓶中加水稀釋至標線，即配製好 0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%。

二、配製不同 pH 的氫氧化鈉

(一) 分別取 25.2g、8g 的氫氧化鈉置於 100mL 的定量瓶中，並加入少許的水使其溶解，待氫氧化鈉溶解後，加水稀釋置標線，即可得到 6.3M、2M 的氫氧化鈉溶液。

(二) 將步驟(一)中 6.3M 氫氧化鈉溶液分別稀釋 10 倍、100 倍、1000 倍，即可得到 0.63M、0.063M、0.0063M 的氫氧化鈉溶液，置於 PP 瓶中備用。

(三) 將步驟(一)中 2M 氫氧化鈉溶液分別稀釋 10 倍、100 倍，即可得到 0.2M、0.02M 氫氧化鈉溶液，置於 PP 瓶中備用。

(四) 由步驟(一)到步驟(三)中，氫氧化鈉溶液的 pH 值由小到大分別是－0.8、－0.3、0.2、0.7、1.2、1.7、2.2，待後面實驗條件討論使用。

三、DNS 試劑配製

分別取 0.1g 的雙硝基水楊酸、3g 酒石酸鉀鈉、2mL 不同 pH 值的氫氧化鈉溶液，溶在 10mL 蒸餾水中，並加熱使其完全溶解，即可得 DNS 試劑，將配製好的 DNS 試劑保存至褐色瓶中保存。

四、加熱時間效應討論

(一) 取 0.04%葡萄糖溶液 3 mL、DNS 溶液 1mL，放在 100℃水浴中，分別隔水加熱 1 分、2 分、3 分、4 分、5 分、6 分、7 分、8 分、9 分、10 分。

(二)加熱完畢後，靜置一段時間待其冷卻，再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(三)吸取適量稀釋後溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的電壓讀數。

五、加熱溫度效應討論

(一) 取 0.04%葡萄糖溶液 3mL、DNS 溶液 1mL，分別置於 20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃、90℃、100℃水浴中隔水加熱 10 分鐘。

(二)加熱完畢後，靜置一段時間，待其冷卻後再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(三)吸取適量稀釋後的溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的讀數。

六、DNS 溶液中的氫氧化鈉 pH 值效應討論

(一) 取 0.04%葡萄糖溶液 3mL、不同濃度的氫氧化鈉 DNS 溶液 1mL，置於 100℃水浴中隔水加熱 10 分鐘。

(二) 加熱完畢後，靜置一段時間，待其冷卻後再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(三) 吸取適量稀釋後的溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的讀數。

七、葡萄糖檢量線的製作

(一) 分別取 0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%的葡萄糖溶液 2mL 以及 1mL 的 DNS 溶液於離心管中，置於 100℃水浴中隔水加熱 10 分鐘

(二) 加熱完畢後，靜置一段時間，待其冷卻後再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(三) 吸取適量稀釋後的溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的讀數。

八、分析方法的可信度與可靠度(再現性)

(一) 教師分別取 0.5mL、2.5mL 和 3.5mL 的 1%葡萄糖溶液，置於 100mL 的定量瓶中，加水置標線即配製完成 0.005%、0.025%和 0.035%溶液，置於 PP 瓶中備用。

(二) 取步驟(一)三種溶液去 2mL 以及 1mL 的 DNS 溶液於離心管中，置於 100℃水浴中隔水加熱 10 分鐘

(三) 加熱完畢後，靜置一段時間，待其冷卻後再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(四) 吸取適量稀釋後的溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的讀數。

九、真實樣品的檢測－葡萄糖粉

(一) 購買市面上常見的葡萄糖粉，取 5g 的粉末，倒入 100mL 的定量瓶中，加入少許水使其溶解，待溶解後加水稀釋至標線，置於 PP 瓶中備用。

(二) 取步驟(一)溶液 1mL 於 250mL 定量瓶中，加水稀釋至標線，並置於 PP 瓶中備用。

(三) 取 2mL 的步驟(二)溶液、1mL 的 DNS 溶液於離心管中，置於 100℃水浴中隔水加熱 10 分鐘。

(四) 加熱完畢後，靜置一段時間，待其冷卻後再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(五) 吸取適量稀釋後的溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的讀數。

十、真實樣品的檢測－能量飲料

(一) 購買市面上常見的能量飲料，取 1mL 能量飲料，倒入 250mL 的定量瓶中，加水稀釋至標線，置於 PP 瓶中備用。

(二) 取步驟(一)溶液 10mL 於 100mL 定量瓶中，加水稀釋至標線，並置於 PP 瓶中備用。

(三) 取 2mL 的步驟(二)溶液、1mL 的 DNS 溶液於離心管中，置於 100℃水浴中隔水加熱 10 分鐘。

(四) 加熱完畢後，靜置一段時間，待其冷卻後再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(五) 吸取適量稀釋後的溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的讀數。

十一、真實樣品的檢測－無糖紅茶

(一) 取 1mL 無糖紅茶，倒入 250mL 定量瓶中，加水稀釋至標線，置於 PP 瓶中備用。

(二) 取 2mL 的步驟(二)溶液、1mL 的 DNS 溶液於離心管中，置於 100℃水浴中隔水加熱 10 分鐘。

(三) 加熱完畢後，靜置一段時間，待其冷卻後再加入 3mL 蒸餾水稀釋。

(四) 吸取適量稀釋後的溶液到比色管中，以光度計測量結果，並記錄三用電表的讀數。

肆、 研究結果

一、吸收度的表示說明

為了量化吸收度大小，我們利用光電二極體 photodiode 將光訊號轉換成電壓訊號，並連接三用電表讀取電壓大小，當光線通過比色管中的樣品時，部分光線會被吸收，使得穿透過的光強度會減弱，三用電表的電壓值讀數也會減少；當溶液讀度稀薄時，溶液的濃度大小會與減少的電壓值成正比，其關係式如下

$$吸收度(Abs) = \frac{\Delta V}{V_{blank}} = \frac{V_{blank} - V'}{V_{blank}}$$

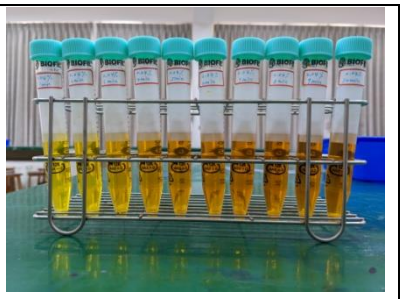
ΔV＝電壓讀數的變化量

V_{blank}＝沒有葡萄糖的溶液(僅 DNS、蒸餾水)

V'＝有葡萄糖的溶液(含葡萄糖、DNS、蒸餾水)

二、加熱時間的效應

(一) 葡萄糖溶液稀釋前後的比較

1. 控制變因：葡萄糖濃度、加熱溫度(100℃)、DNS 中氫氧化鈉濃度。 2. 操作變因：加熱時間。 3. 應變變因：吸收度。		
	稀釋前	稀釋後

結果：葡萄糖溶液稀釋前後肉眼觀察無明顯顏色變化，無法用肉眼判定濃度，需用自製分光度計進行定量測量，此結果與研究假設吻合。

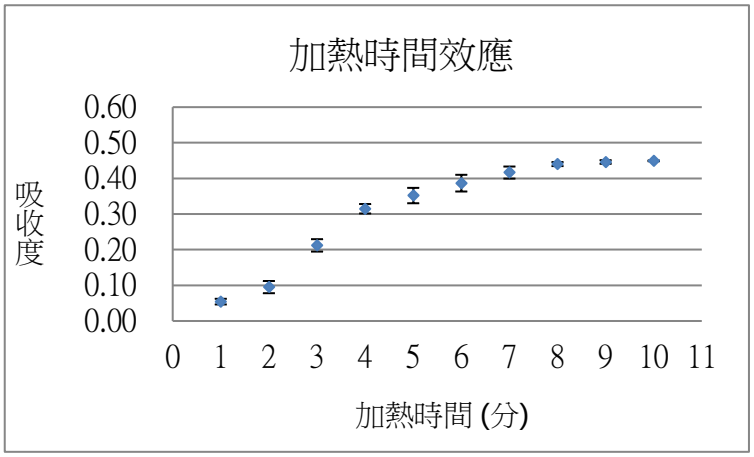
(二) 光度計量測的結果

加熱時間	1 分	2 分	3 分	4 分	5 分	6 分	7 分	8 分	9 分	10 分
第 1 組	2.377	2.251	1.951	1.705	1.597	1.488	1.439	1.413	1.400	1.399
第 2 組	2.416	2.299	2.008	1.738	1.632	1.581	1.478	1.410	1.396	1.394
第 3 組	2.404	2.338	2.037	1.772	1.704	1.599	1.524	1.436	1.420	1.398
平均電壓值	2.399	2.296	1.999	1.738	1.644	1.556	1.480	1.420	1.405	1.397
平均吸收度	0.054	0.095	0.212	0.315	0.352	0.387	0.416	0.440	0.446	0.449

其吸收度的計算方式： $吸收度(Abs) = \frac{\Delta V}{V_{blank}} = \frac{V_{blank} - V'}{V_{blank}}$

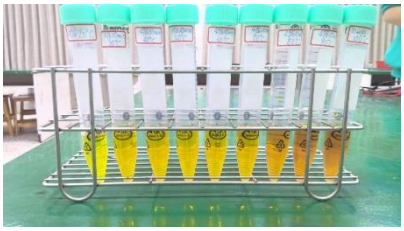
可以發現隨著加熱時間的增加，葡萄糖溶液吸收度有明顯增加趨勢，加熱8分鐘到10分鐘之間的差異不大，不過為了確保葡萄糖與雙硝基水楊酸完全反應，我們採用加熱時間為10分鐘進行下一個變因的討論。

⇨最佳加熱時間：10分鐘



三、加熱溫度的效應

(一) 恆溫水槽與實驗結果的比較

<table>
<tr><td rowspan="2">1. 控制變因：葡萄糖濃度、加熱時間(10 分鐘)、DNS 中氫氧化鈉濃度。
2. 操作變因：加熱溫度。
3. 應變變因：吸收度。</td><td> </td><td>  </td></tr>
<tr><td>恆溫水槽 (40℃)</td><td>實驗結果 (20℃～100℃)</td></tr>
</table>

(二) 光度計量測的結果

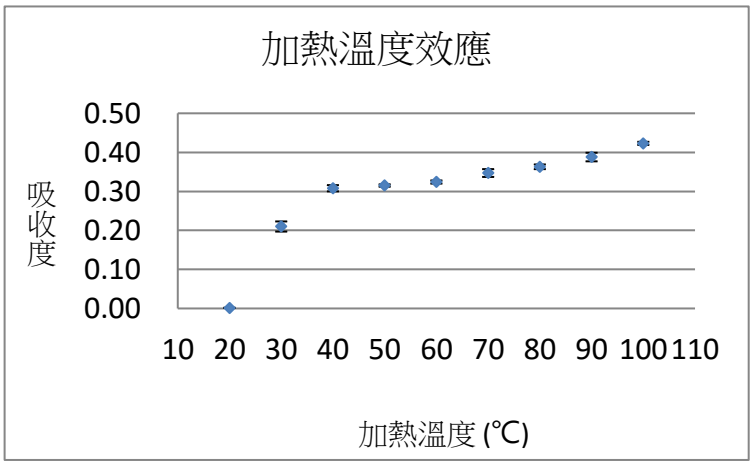
加熱溫度(℃)	20	30	40	50	60	70	80	90	100
第一組	2.518	2.033	1.754	1.724	1.702	1.623	1.597	1.551	1.445
第二駐	2.523	1.973	1.765	1.738	1.718	1.675	1.605	1.57	1.46
第三組	2.523	1.978	1.725	1.727	1.697	1.648	1.625	1.516	1.462
平均電壓值	2.521	1.995	1.748	1.73	1.706	1.649	1.609	1.546	1.456
平均吸收度	0.001	0.210	0.308	0.315	0.324	0.347	0.363	0.388	0.423

其中吸收度的計算方式：

$$吸收度(Abs) = \frac{\Delta V}{V_{blank}} = \frac{V_{blank} - V'}{V_{blank}}$$

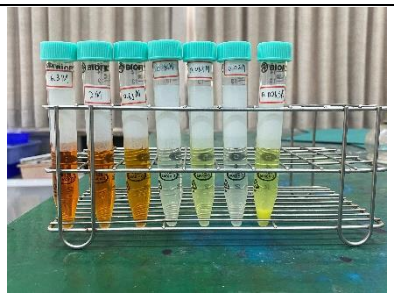
由右表可以發現，當溶液的溫度在20℃時，葡萄糖幾乎部會與雙硝基水楊酸進行反應，加熱到40℃到60℃，吸收度沒有明顯變化，而加熱到100℃時，吸收度有最大值，因此我們採用加熱溫度為100℃進行下一個變因的討論。

⇨最佳加熱溫度：100℃



四、DNS 試劑中氫氧化鈉 pH 的效應

(一) DNS 試劑的 pH 值

1. 控制變因：葡萄糖濃度、加熱時間、加熱溫度。 2. 操作變因：DNS 中的氫氧化鈉濃度。 3. 應變變因：吸收度。	 DNS 溶液(不同 pH 值)

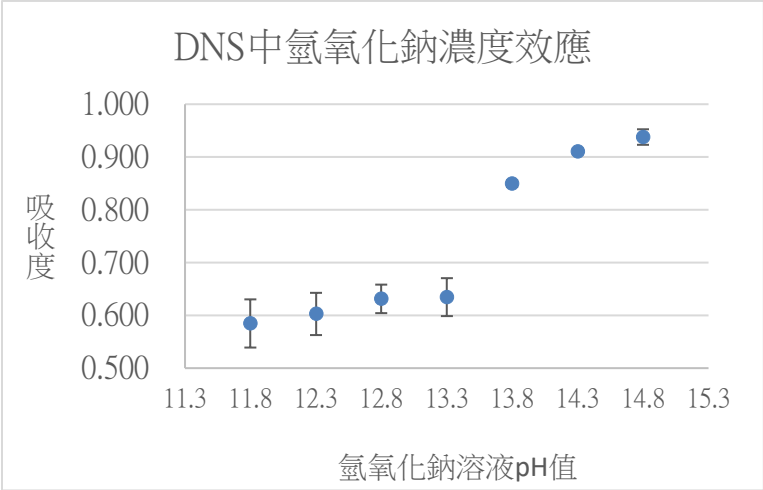
(二) 光度計測量的結果

NaOH 的 pH 值	11.8	12.3	12.8	13.3	13.8	14.3	14.8
〔NaOH〕	0.0063M	0.02M	0.063M	0.2M	0.63M	2M	6.3M
第一組	0.933	0.894	0.867	0.832	0.364	0.222	0.195
第二組	1.044	1.016	1.002	1.013	0.395	0.24	0.121
第三組	1.163	1.094	0.919	0.918	0.38	0.215	0.154
平均電壓值	1.047	1.001	0.929	0.921	0.38	0.226	0.157
平均吸收度	0.585	0.603	0.631	0.635	0.849	0.91	0.938

吸收度的計算方式：$吸收度(Abs) = \frac{\Delta V}{V_{blank}} = \frac{V_{blank} - V'}{V_{blank}}$

當氫氧化鈉水溶液接近 pH=11.8 時，DNS 幾乎不和葡萄糖反應，氫氧化鈉溶液 pH 值必須高於 13.3 才會明顯和葡萄糖反應，pH=14.3 和 pH=14.8 沒有明顯差異，因此採用 pH=14.3 氫氧化鈉溶液製做檢量線。

⇨最佳 pH 值：14.0 （2M NaOH）



五、檢量線測定

(一) 實驗數據

濃度(%) 2mL 溶液	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04
第一組	2.054	1.759	1.320	0.899	0.629
第二組	2.050	1.682	1.305	0.879	0.614
第三組	2.055	1.654	1.296	0.749	0.599
平均電壓值	2.053	1.698	1.307	0.842	0.614
平均吸收度	0.000	0.173	0.363	0.590	0.701

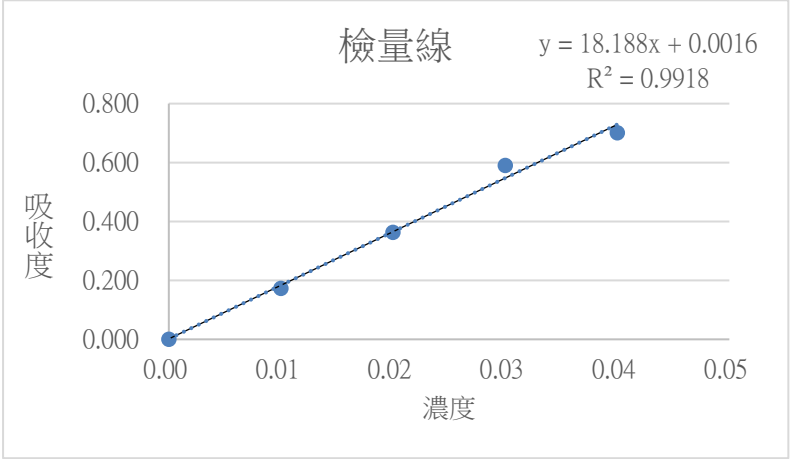
吸收度的計算方式：$吸收度(Abs) = \frac{\Delta V}{V_{blank}} = \frac{V_{blank} - V'}{V_{blank}}$

濃度範圍：0%～0.04%葡萄糖 2mL

加熱時間：10 分鐘

加熱溫度：100℃

DNS 中氫氧化鈉濃度：2M



(二) 結果

1. 檢量線建立結果： 判定係數 R^2=0.9918
2. 判定係數 R^2：用以解釋 X 軸與 Y 軸變項之直線關係的強弱（即線性度）與互相推估程度。 決定係數 R^2 之特性： 0～1 間數值，數值愈接近 1 表示解釋力愈高。因此，吸收度可以有效解釋葡萄糖濃度，使用吸收度來推估葡萄糖濃度是一個有效且可行的方法。
3. 濃度轉換方式：利用自製光度計量測待測溶液的的電壓值，再將電壓值轉換為吸收度，最後帶入檢量線方程式，即可得到待測溶液的濃度。

六、分析方法的可信度(準確性)與可靠度(再現性)

(一) 品質管制／品質保證試驗：為確保實驗的準確度與可靠度，由教師配製的三種濃度，盲樣樣品交由學生進行分析，每種濃度進行三次分析測量計算出濃度值。

(二) 可信度：將分析結果濃度與實際濃度對比計算準確性，其中誤差百分比%越低，表示可信度越高，準確性越高，其關係式如下。

$$\text{E\%(誤差百分比)} = \frac{|\text{測量值} - \text{標準值}|}{\text{標準值}} \times 100\%$$

(三) 可靠度(再現性)：三次分析結果的一致性，變異係數百分比%愈小表示可靠度愈高，再現性愈高，其關係式如下。

$$\text{CV\%（變異係數百分比）} = \frac{\text{標準差}}{\text{平均值}} \times 100\%$$

樣品名稱	未知樣品 1	未知樣品 2	未知樣品 3
第一組	1.888	1.035	0.769
第二組	1.851	1.047	0.704
第三組	1.871	1.053	0.729
平均電壓值	1.870	1.045	0.734
平均吸收度	0.0891	0.4910	0.6425
吸收度的計算方式：$吸收度(Abs) = \frac{\Delta V}{V_{blank}} = \frac{V_{blank} - V'}{V_{blank}}$			
回推濃度值(%)	0.0048	0.0269	0.0352
標示濃度(%)	0.005	0.025	0.035
誤差百分比(%)	0.04%	0.08%	0.01%
三次分析標準差	0.015	0.009	0.027
變異係數(CV%)	0.8%	0.8%	3.6%

(四) 結果：

1. 本研究建立的分析方法的可信度：誤差%<0.13%，表示本研究準確度非常高
2. 本研究建立的分析方法的可靠度：三次分次變異係數%<3.6%，表示可靠度非常高。因此，本研究建立還原糖濃度測量方法具有優異的可信度與可靠度，能確實用於真實樣本還原糖濃度檢測。

七、真實樣品的檢測－葡萄糖粉實驗結果

(一) 實驗數據

樣品名稱	第一組	第二組	第三組
電壓讀數(V)	1.372	1.398	1.386
吸收度	0.332	0.319	0.325
稀釋後濃度(%)	0.018	0.017	0.018
測量濃度值(%)	4.537	4.363	4.444
標示濃度值(%)	4.6	4.6	4.6

(二) 結果：

1. 理論葡萄糖溶液濃度應為 4.6%，而實測濃度介於 4.3%～4.5%，誤差百分比幾乎低於 5%，而真實樣品回推濃度 C.V.值為 1.96%。
2. 我們推測誤差來源可能是真實樣品的成分，並不符合營養成分標示；其次則是我們樣品取樣過程中，所造成的誤差。

八、真實樣品的檢測－能量飲料實驗結果

(一) 實驗數據

樣品名稱	第一組	第二組	第三組
電壓讀數(V)	1.679	1.696	1.686
吸收度	0.182	0.174	0.179
稀釋後濃度(%)	0.010	0.009	0.010
測量濃度值(%)	2.482	2.368	2.435
標示濃度值(%)	4.4	4.4	4.4

(二) 結果

1. 根據營養標示可得到，其中溶液中的「糖」濃度應為 4.4%，而實測濃度介於 2.3%～2.4%，測量濃度＜標示濃度。
2. 對於實驗結果我們的解釋包含以下幾點：
   (1). 營養成分標示的糖分包含蔗糖與葡萄糖，然而蔗糖並非還原糖，因此無法透過 DNS 法測得，我們推論蔗糖的含量略多於葡萄糖，兩者之間的的比例接近 1：1。
   (2). 我們致電給生產的食品公司確認葡萄糖的實際含量，由於成分比例屬於產品製造之機密，因此不便提供給我們，但推估葡萄糖粉並非純葡萄糖可能有混合蔗糖粉，與成分標示一致。

九、真實樣品的檢測－無糖紅茶實驗結果

(一) 實驗數據

樣品名稱	第一組	第二組	第三組
電壓讀數(V)	2.037	2.029	2.000
吸收度	0.008	0.012	0.026
稀釋後濃度(%)	0.0003	0.0006	0.0013
測量濃度值(%)	0.09	0.14	0.33
標示濃度值(%)	0.00	0.00	0.00

(二) 結果

1. 實驗樣品為無糖紅茶，標示濃度為 0.0%，實驗測量的濃度介於 0.09%～0.33%，測量濃度≒標示濃度。
2. 對於實驗結果我們的解釋包含以下幾點：
   (1). 有可能是光度計本身訊號的背景值，導致有測出些微的訊號。
   (2). 可能是紅茶內中含微量的單寧酸，單寧酸結構具有還原性結構，使得部分的 DNS 分子被還原，所以測得到的濃度，是由單寧酸發生氧化反應，而非葡萄醣分子。

十、測得能量飲料與無糖紅茶實驗結果的比較

(一) 實驗數據比較

樣品名稱	能量飲料(實驗組)	無糖紅茶(對照組)
測量濃度值(%)	2.423	0.13
標示濃度值(%)	4.4	0
測量熱量(大卡)	9.969	0.52
標示熱量(大卡)	19	0

(二) 結果

1. 實驗結果發現，能量飲料提供的熱量確實遠大於無糖紅茶提供的熱量。
2. 能量飲料由於含有葡萄糖的緣故，因此可以提供熱量，然而，無糖紅茶成分沒有任任醣類，因此測量結果其熱量幾乎為零，與營養成分標示一致。
3. 本實驗結果證實了我們一開始的假設，能量飲料能提供較多的能量(熱量)，是因為其中包含了葡萄糖。

伍、 討論

一、最佳化影響的因素

為了瞭解影響反應速率的因素，我們查閱了八年級下學期康軒版第四章－「反應速率」，發現影響反應速率的因素包含：溫度、濃度、表面積(顆粒大小)、催化劑共 4 個因素，由於本反應中的反應物均是配製成水溶液狀態，因此不需考慮表面積(顆粒大小)，此外，上網查閱後，也找不到相對應的催化劑，最終我們的最佳化條件主要著重在溫度、濃度的條件討論。

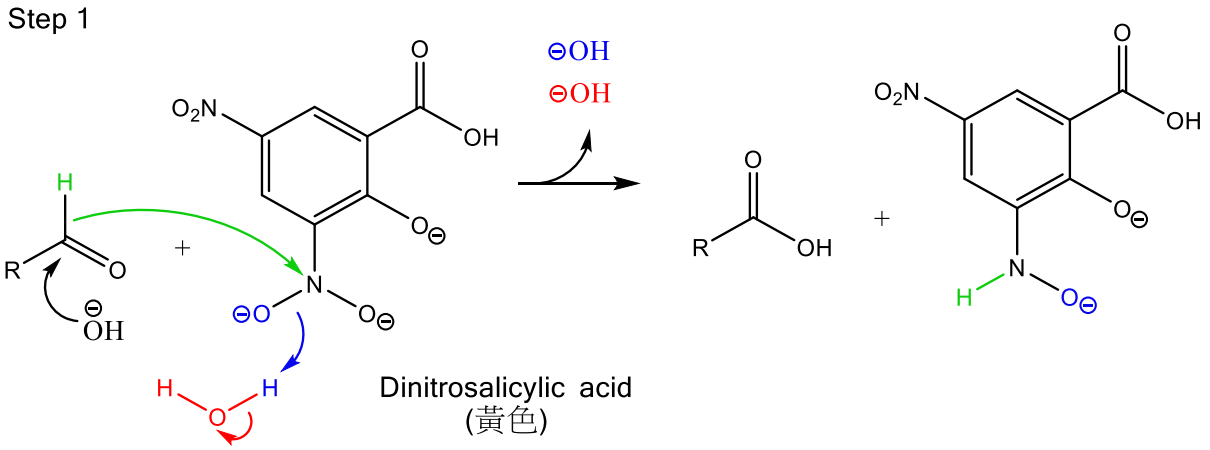
二、加熱時間

根據碰撞學說，我們可以知道在微觀的世界中，當有效碰撞次數增加，則反應速率也會增加，因此我們先探討加熱時間的影響，為了方便實驗，我們採用沸騰的熱水浴中加熱，實驗結果可以發現，隨著加熱時間的增加，葡萄糖溶液的顏色有變深趨勢，加熱 9 分鐘、10 分鐘結果，顏色差異不大，不過由於肉眼觀測並不準確，因此以光度計測量，結果發現，加熱 9 分鐘和 10 分鐘的差異不大，為了確保反應物完全反應，因此我們的最終決定加熱時間為 10 分鐘。

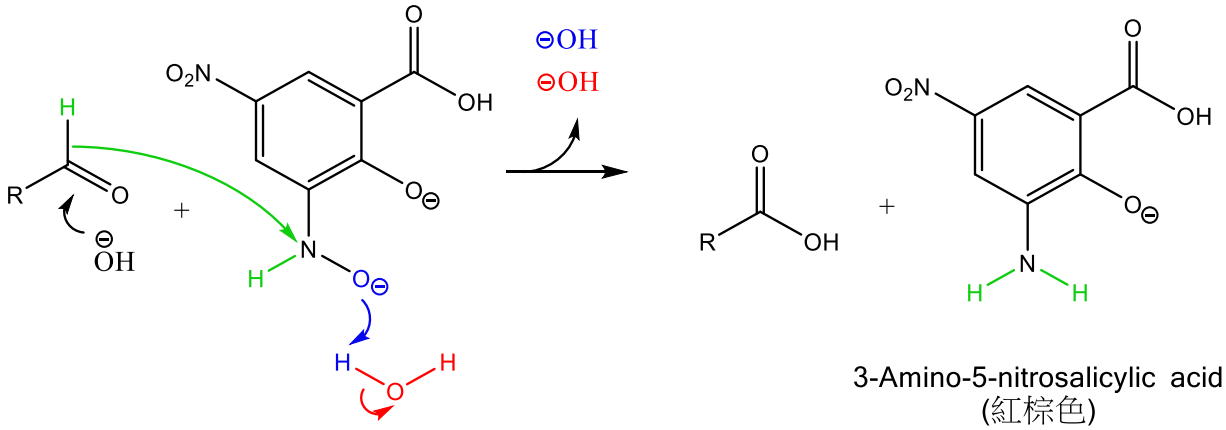
討論：為何需要加熱呢?

DNS 反應： 步驟一與步驟二，均需要打斷鍵結，因此反應開始需要大量能量，才能啟動反應式的反應。常溫下因為能量不足無法啟動反應，故需加熱。

Step 1



Step 2



討論：為何加熱 10 分鐘呢

反應屬於酸鹼反應，後期發現溫度上升屬於放熱反應，依照勒沙特列原理，放熱反應如果溫度過高，反而容易造成向左反應或是阻礙向右反應的進行。因此，10 分鐘以後吸光值呈現水平並未上升。

$A + B \rightarrow C + D +$ 熱 (吸熱反應)

或 $A + B \rightleftarrows C + D +$ 熱 (吸熱反應)

三、加熱溫度

在微觀世界中，影響有效碰撞的兩個因素包含：能量要足夠、碰撞的方向要正確，而粒子的動能大小與溫度有密切關係，當溫度越高的時候，粒子的動能增加，粒子之間越容易發生有效碰撞，因此，產生越多紅棕色產物 3-氨基-5-硝基水楊酸，造成吸收度提高，實驗結果發現，當水浴溫度為 20℃時，其顏色幾乎沒有明顯變化，甚至吸收度大小幾近為 0，我們推測因為溫度不夠高，不足導致葡萄糖、雙硝基水楊酸，沒有足夠的動能發生有效碰撞，而加熱溫度由 30℃～100℃增加時，粒子的能量增加，漸漸的發生

了有效碰撞，因此反應後的溶液的顏色有明顯變深趨勢；然而考慮到離心管為 PP 材質有耐熱度的問題，PP 材質的耐熱溫度為 110℃～140℃，因此不宜在油浴中高溫加熱，因此本實驗採取在水浴中進行加熱，且加熱區間為 20℃～100℃。

討論：為何不要選擇 100℃乙上溫度呢?

(一) 考慮到離心管為 PP 材質有耐熱度的問題

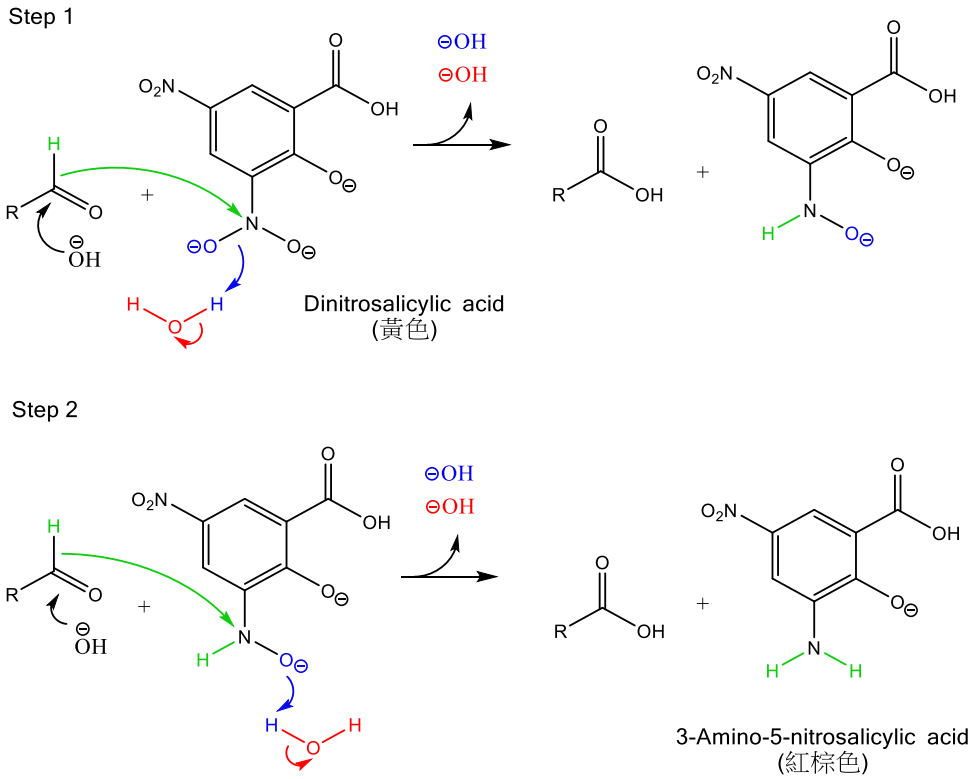
(二) 溫度超過 100℃，溶液顏色會變黑，甚至有雞蛋花一樣的絮狀沉澱出現

(三) 溫度超過 100℃，會產生水分大量蒸發，影響濃度，造成誤差。

因此，本實驗最佳加熱溫度為 100℃。

四、DNS 試劑中的氫氧化鈉濃度(pH)討論

我們不確定 pH 值是否會影響 DNS 試劑與葡萄糖分子反應，因此用不同 pH 值的氫氧化鈉溶液配置成 DNS 試劑進行討論，從上圖可以發現雙硝基水楊酸在不同 pH 下，不論是溶解度、顏色外觀均有明顯差異，為了瞭解其中差異，我們將反應後的溶液以光度計測定，結果發現當氫氧化鈉溶液 pH 值為 14 時，其吸收度有明顯的提升，上網查閱資料之後，並且與老師討論，推測其反應結構如下：



最後，我們選用 2M(pH14.3)的氫氧化鈉溶液配置 DNS 試劑比 0.63M(pH13.8)的氫氧化鈉有更高的吸收值。

討論：為何 pH14.3 有較高吸光度呢?

本實驗是利用 DNS 具有還原力的特性，讓分解後的碳水化合物中游離的醛基與酮基，在鹼性溶液下具有較強的還原力，產生氧化還原反應以及顏色改變，因此 pH14.3 有較加反應性。

五、溶液顏色與分子結構的關係

我們很好奇為什麼還原糖的顏色會發生變化，於是我們上網查閱資料、並且詢問老師過後，了解到溶液的顏色與分子的共振結構有密切相關，越多的共振結構，越能夠分散電子，使得結構越加穩定，導致顏色越偏向能量低的紅光，我們由下面的分子結構也可以發現，對比前後的反應物－雙硝基水楊酸，和反應後的生成物－3-氨基-5-硝基水楊酸，反應後的生成物具備較多的共振結構，因此結構也較穩定，溶液顏色也偏向紅色，而我們的實驗結果也證實了我們的推論。

六、能量和葡萄糖之間的關係

在進行實驗之前，我們假設能量飲料的來源與葡萄糖的含量有關，並依照國中的電學設計了一個簡易光度計，實驗結果發現能量飲料中確實含有葡萄糖，然而無糖紅茶中幾乎沒有任何葡萄糖，這一結果證實了我們一開始的假設，能量飲料能提供較多的能量(熱量)，是因為其中包含了葡萄糖，而無糖紅茶無法提供任何的能量(熱量)。

七、還原糖的種類

在常見的食品中還原醣包括單醣和雙醣，其中單糖包含葡萄糖、果糖，雙醣包含乳糖、麥芽糖；然而蔗糖雖然在食品中常使用，但其在溶液中不生成醛基和酮基，故不屬於還原醣，因此這糖不是用本反應方法測量，由於時間的關係，果糖實驗條件的最佳化正在進行中，之後我們會將果糖數據補充完畢，讓實驗結果更加完善。

八、本實驗方法與其他文獻方法比較

篇名	試劑/器材	結果	評論
本實驗	DNS 試劑 自製分光光度計(利用光電二極體 photodiode 將光訊號轉換成電壓訊號再轉換成吸光值)	藉由測定電壓值轉換成吸光度，結果發現反應物濃度愈高，所通過光就越少，而測得的電壓就會愈小，彼此間呈線性關係，與肉眼測定及他文獻的結果比較，準確度較高，線性關係良好。 真實樣品測定應用，效果良好	優點：精確測量、操作時間短、操作方便、真實樣品可用性高、能自製分光光度計作為測量工具，讓學生實際操作具有實作性。
色粒分明～探討本氏液與還原醣變色反應	本氏液	證明課本上以藍、綠、黃、橙、紅的顏色變化來顯示葡萄糖的含量多寡有誤。	清楚證明顏色的形成與變化是由於紅色的奈米氧化亞銅顆粒大小、數量與藍色硫酸銅溶液混合狀態所造成。 缺點：無法精確定量。
登『糖』入『氏』-本氏液數位化了	本氏液 光敏電阻	藉由測定電阻值，結果發現反應物濃度愈高，所通過光就越少，而測得的電阻值就會越大，彼此間呈線性關係，與肉眼測定的結果比較，準確度較高。	能自製器材作為測量工具，值得嘉許。 缺點：呈現精確度不足宜再改進。

九、能量飲料行不行

能量飲料確實能提供較多的能量(熱量)，因為飲料中含有較高濃度葡萄糖。解析能料飲料成分除了葡萄糖外還有「牛磺酸、咖啡因、維生素 B6」。咖啡因是一種神經興奮劑，攝取咖啡因後會刺激人體的中樞神經系統，讓人消除睡意，但卻不代表能消除疲勞。牛磺酸為胺基乙磺酸，是身體所需的營養成分之一，具有保護腦部神經細胞損傷及抗氧化的功效；維生素 B 群則是協助體內新陳代謝的酵素輔酶因子。適時飲用能量飲料提神確實可以產生較大能量與提神效果，然而過度飲用時也會產生副作用，不可不知。咖啡因短時間內大量攝取，除了容易過度亢奮，也容易利尿、失眠、抽搐、血壓提升，嚴重則可能造成心悸、心律不整等問題，甚至導致休克、死亡。短期服用大量牛磺酸可能會造成舒張壓升高，增加心臟負擔。食用 B 群過量，也可能會出現頭痛、暈眩、噁心、失眠甚至出現神經病變。

陸、 結論

本研究成功製作出葡萄糖檢驗方法，利用葡萄糖具有還原性的醛基，與雙硝基水楊酸反應，並產生紅棕色的 3-氨基-5 硝基水楊酸產物，利用光度計在 540nm 的波長下進行測量，研究結果發現，當加熱時間為 10 分鐘、加熱溫度為 100℃、且 DNS 試劑中氫氧化鈉濃度為 2M 時，有最好的反應結果，使溶液的吸收度來到最高；此外，葡萄糖溶液的檢量線範圍為 0.00%～0.04%，檢量線的 R^2=0.991，證實具有良好的線性關係，此方法的相對誤差介於 0.06%～4.6%，證實了無須購買數十萬元的光度計、昂貴的的液相層析儀，也可以得到量好的實驗結果。

柒、 參考文獻資料

一、許芷薰、江岳展、林致宇。色粒分明～探討本氏液與還原醣變色反應，第 60 屆中小學科展。雲林縣立樟湖生態國民中小學。

二、洪凱倫、洪惟哲、洪浩翔、洪道涵。登『糖』入『氏』-本氏液數位化了，第 49 屆中小學科展。金門縣烈嶼國中。

三、李環（2013）DNS 法測定山楂片中還原糖含量的研究。食品工業科技，18: 75-77。

四、黃武章 (2011) 環境化學， 高立圖書。

五、陳俊榮 (2004) 食品化學實驗， 禾楓書局 。

六、賴新枝、葉世榮 (2017) 科學探究與實作，易儀科技有限公司 (P97～P110)。