

2023年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

普高組 成果報告表單

題目名稱：桑葉蠶砂及抹茶光合色素之關聯性

一、摘要

本研究主要探討桑葉、蠶沙及抹茶中的葉綠素種類有何區別，以及葉綠素受綠光照射之發光情形，但因蠶沙及泡水後的水溶液顏色皆為咖啡色，而當中是否真的含有大量葉綠素。第一我們使用桑葉、蠶砂及抹茶為材料，萃取其色素進行光合色素濾紙層析分離實驗，再以各色素rf值判斷其種類。第二為探討三者萃取液受綠光照射後的發光行為，使用手機光譜儀並輔以 ImageJ 來解析其光譜強度，透過兩個實驗去驗證與新聞內容是否相同。我們發現蠶沙中的葉綠素和桑葉相比，缺少了部分色素，推測蠶蛾幼蟲在體內將部分葉綠素吸收或轉換為其他成分。抹茶和桑葉比較，有明顯區別，且色素濃度為實驗三者中最高。而色層分析的實驗中，觀察到乙醇萃取液較丙酮萃取液的效果佳。

二、探究題目與動機

日前有篇新聞「抹茶粉與蠶寶寶有關？營養師解答「是的」曝提煉製造流程」¹，敘述抹茶食品中所添加的綠色是可食用色素，可以由蠶蛾幼蟲的糞便裡提煉出來。

新聞中提到之銅葉綠素，若依《食品添加物使用範圍及限量暨規格標準》中有關葉綠素類型之規定。可分為銅葉綠素 (Copper Chlorophyll)、銅葉綠素鈉 (Sodium Copper Chlorophyllin) 及鐵葉綠素鈉 (Sodium Iron Chlorophyllin) 三種²。雖說是合法的人工著色劑，但是我國食藥署是採取正面表列的核准使用方式，並且註明每一種容許添加項目的添加範圍或上限濃度³。使用於飲料時，用量以 Cu 計為 0.064g/kg 以下²。

中藥用的蠶沙一般來自家蠶蛾 (*Bombyx mori*) 幼蟲所排泄之糞便乾燥而得者。乾燥蠶沙呈短圓柱形顆粒狀，外表呈黑褐色，表面粗糙，凹凸不平，質堅而脆，搓之易碎，碎後成黑褐色粗粉。以色黑，乾燥，無雜質，且不發霉，質較堅硬，以手搓之能沙沙作聲者佳⁴。蠶沙含有有機物 83.77~90.44%，灰分 9.5~16.2%，總含氮量 19.1~3.60%，有機質中含蛋白質及多量葉綠素，並含有維生素 A 及 B 等，此外含有吡啶乙酸及組氨酸，亮氨酸等 13 種胺基酸、多種固醇類 (β -sitosterol、cholesterol、ergosterol、tetracosanol、lupeol) 與銅⁵。能夠從蠶沙中提煉葉綠素是因為蠶蛾幼蟲無法完全吸收桑葉中的葉綠素，因此糞便中會含有豐富的葉綠素。而製作銅葉綠素的蠶沙還須經過皂化、銅化來精製，所以我們使用銅葉綠素或銅葉綠素鈉，而並非是食用蠶蛾幼蟲的糞便，且市面上供應的產品也有來自許多綠色植物或青菜提煉的³。

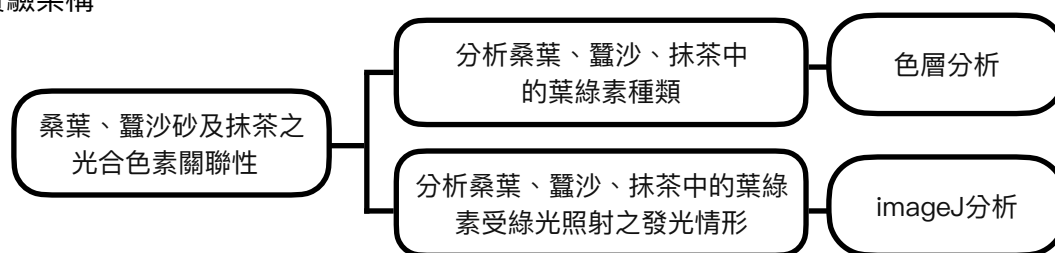
雖然抹茶粉中是否含有葉綠素的問題看似已解決，但在眾多反駁文章¹的新聞中，從未提及蠶沙中真正含有哪些葉綠素。除此之外，實際上的蠶沙顏色為咖啡色，無法看到綠色的部分，且在蠶沙泡水過後，呈現的水溶液顏色亦為蠶沙本身的顏色，蠶沙中是否真的含有大量葉綠素。我們想利用從蠶沙中的葉綠素和蠶蛾幼蟲所食用之桑葉中的葉綠素，去比較蠶沙究竟含有桑葉中的哪些葉綠素，及比較抹茶中的葉綠素是否有關聯性，且探討蠶沙中是否真正含有大量葉綠素，以上問題作為我們的探究目的。

三、探究目的與假設

- 1.比較蠶沙、抹茶和蠶蛾幼蟲食物桑葉中的葉綠素之種類差別
- 2.比較蠶沙、抹茶和蠶蛾幼蟲食用桑葉中的葉綠素受綠光照射之發光情形

四、探究方法與驗證步驟

一、實驗架構



二、實驗方法

(一)、分析桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素種類⁷

1-1 萃取桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素：

(1) 概述：分別利用丙酮及乙醇，萃取出桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素。

(2) 實驗方法：

將桑葉、蠶沙放入烘箱烘 24 小時、溫度 80 度去除水分後研磨成粉末狀。桑葉、抹茶、蠶沙各秤取 10 公克，倒入錐形瓶後，分別量取 20 毫升的丙酮及乙醇，倒回錐形瓶，放置 24 小時萃取後，過濾後倒入裝液瓶儲存。

1-2 分析桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素種類：

(1) 概述：利用濾紙色層分析，分析桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素

(2) 實驗方法：

取長條濾紙，裁切至 23.5 公分後用木棍固定，並在底部 1.5 公分處剪成尖形，在 3 公分處，以毛細管垂直吸收萃取液的容量為最小單位。將 10ml 丙酮與 90ml 石油醚分別倒入量筒內，以鋁箔紙密封。將長條濾紙放入量筒，使濾紙 1.5 公分高處浸至液面，固定濾紙，再用鋁箔紙密封。當展開劑上升至 3 公分處開始計時，每隔 5 分鐘拍照紀錄展開劑上升的高度，至 15 分鐘結束，進行三次重複。長條濾紙取出並測量展開液與各種物質移動的距離 (rf 值 = (物質-所行距離) / (展開液所行距離))，將紀錄結果繪製成圖表。

(二)、分析蠶沙、抹茶和蠶蛾幼蟲食用桑葉中的葉綠素受綠光照射之發光情形

1-1 萃取桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素：

(1) 概述：利用丙酮萃取出桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素。

(2) 實驗方法：

將桑葉、蠶沙放入烘箱烘 24 小時、溫度 80 度去除水分後研磨碎成粉末狀。利用電子秤取蠶沙、桑葉粉和抹茶粉各 0.3g，分別裝入三角錐瓶中後加入 20ml 的丙酮混合均勻，並用鋁箔紙密封。靜止 24 小時後將蠶沙粉、桑葉粉和抹茶粉過濾並儲存溶液。

1-2 拍攝及分析桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素受綠光照射之發光情形⁸

(1) 概述：利用丙酮萃取出桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素。

(2) 實驗方法：

分別將桑葉、蠶沙和抹茶之萃取液置於無其他光線干擾的黑色箱子中，利用綠色雷射筆照射萃取液，以手機光譜儀拍攝其發光情形，並用 imageJ 光譜分析得出綠光強度，此過程進行三次重複。

三、實驗結果

(一)、實驗一：分析桑葉、蠶沙、抹茶中的葉綠素

1-1 各色素上升情形rf值

表1 丙酮萃取之色層分析結果

色素頂端順序	P1	P2	P3	P4	P5
桑葉	1.00±0	0.835±0.014	0.755±0.018	0.581±0.033	0.434±0.020
蠶沙	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
抹茶	1.00±0	0.910±0.054	0.860±0.047	0.750±0.030	N. D.

丙酮作為萃取液時(表 1)。桑葉出現五個色素頂端。抹茶出現四個色素頂端。而蠶沙的色層分析結果不佳，無法判斷其rf值。

表2 乙醇萃取葉綠素結果

色素頂端順序	P1	P2	P3	P4	P5
桑葉	1.00±0	0.913±0.026	0.858±0.042	0.739±0.096	0.535±0.281
蠶沙	N. D.	N. D.	0.729±0.056	0.441±0.144	0.286±0.071
抹茶	1.00±0	0.911±0.005	0.862±0.002	0.746±0.015	N. D.

乙醇作為萃取液時(表 2)。桑葉出現五個色素頂端。蠶沙出現三個色素頂端。抹茶出現四個色素頂端。

1-2 濾紙色層分析結果討論

桑葉色層分析結果可清楚看到五種色素，分析後判斷為胡蘿蔔素、色素x、葉黃素、葉綠素a和葉綠素b，且丙酮萃取結果和乙醇相似，故以桑葉的色層分析結果作為標準，與蠶沙和抹茶進行對照。另外，我們發現以丙酮作為萃取液時，對於蠶沙效果不佳。

根據乙醇萃取蠶沙中色層分析結果可以觀察到三個色素頂端，顏色分別為一種黃色色素、兩種綠色色素(深綠及淺綠)，根據rf值，推測其可能為類似葉黃素、葉綠素a和葉綠素b的色素，且因為蠶沙的色層分析結果和桑葉比較，rf值皆有落差，推測可能是色素在蠶蛾幼蟲體內被吸收或轉換，導致色素的rf值結果不同。

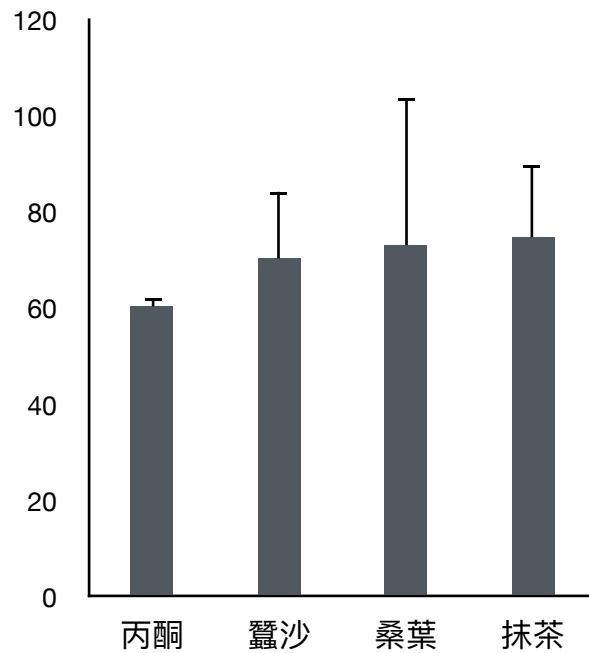
根據抹茶色層分析的結果，可看出抹茶有四個色素頂端，顏色分別為兩種黃色色素、一種灰色色素和一種綠色色素，和桑葉結果比較，色素應為胡蘿蔔素、色素x、葉黃素、葉綠素a或葉綠素b，但P2、P3和P4在丙酮的色層分析結果不同與桑葉，推測其原因可能是抹茶在製作過程出現了其他成分，或是因為市售抹茶粉的放置時間，相較於新鮮桑葉所研磨的桑葉粉時間長，導致其中的成分出現變化，使顏色不同。且抹茶之製作過程，採收前約 6 個星期會覆蓋特殊布料擋住陽光，其中原因有待探討。另外，抹茶的色層分析結果出現相較於桑葉及蠶沙，有出現拖尾的現象，即使減少色素在色層分析的含量(一管)，但效果仍無改善，推測是因為抹茶中葉綠素濃度較高，才會導致拖尾的現象產生。

最後蠶沙和抹茶的比較結果，在抹茶的色層分析結果能夠清楚看到最上層的黃色色素及底下的灰色色素，而此二者蠶沙皆無，且抹茶中也無出現第二種綠色色素，在P4 時的綠色色素，兩者顏色也不同，進而得知蠶沙不可能作為添加於抹茶的綠色色素。

(二)、比較桑葉、蠶沙、抹茶在綠色雷射筆照射下的強度

2-1imageJ分析結果(發光強度)

圖1 imageJ分析結果



2-2、imageJ分析結果 (發光強度) 討論

以純丙酮作為標準，其發光強度為 60.42。蠶沙萃取液的發光強度為 70.56、桑葉萃取液的發光強度為 73.04、抹茶萃取液的發光強度為 75.06，三者經過比較，可發現蠶沙的強度最弱，其次為桑葉，強度最高者為抹茶。根據上述結果，可發現蠶沙的葉綠素含量較桑葉低。推測蠶蛾幼蟲吸收部分的葉綠素，而和抹茶發光強度最高，表示抹茶中葉綠素含量最多。

(三)、實驗結果比較及討論

在兩個實驗中，都能夠發現蠶沙的葉綠素含量不多，甚至全無。在色層分析的實驗中，蠶沙在丙酮萃取液的色層分析結果顏色不明顯，導致無法判斷，而乙醇萃取液的色層分析效果雖比丙酮萃取液好，但和相同濃度的桑葉萃取液和抹茶萃取液相比，顏色仍淡非常多。在綠光照射之發光情形的實驗中，同樣能發現此現象，雖然蠶沙的萃取液有出現發光行為，但強度仍不及其桑葉和抹茶的強度，且萃取液顏色也較淡。而上述實驗結果和多篇研究結果相反，蠶沙的葉綠素含量極少，推測其中的葉綠素可能被蠶蛾幼蟲所吸收或轉換成其他成分。另外，經由兩個實驗，可得知抹茶因製作的方法特殊，能夠保持葉片顏色與營養，並防止葉片產生酵素作用，而此做法也使抹茶在進行萃取及色層分析的實驗中，可看出其顏色較桑葉深許多，且在綠光照射之發光情形的實驗中，發光強度也較桑葉的強度大。

五、結論與生活應用

一、結論

- 1.蠶沙中的葉綠素和蠶蛾幼蟲所食用的桑葉相比，缺少了部分色素，推測蠶蛾幼蟲在體內將部分葉綠素吸收或轉換為其他成分。且根據實驗結果，發現蠶沙中的葉綠素含量極少，甚至全無，和多篇文章結果相反。
- 2.抹茶因為製作過程中，會覆蓋特殊布料擋住陽光，導致色層分析結果顏色和桑葉比較，有明顯區別，且色素濃度為實驗三者中最高。

3.色層分析的實驗中，觀察到乙醇萃取液較丙酮萃取液的效果佳。

二、生活應用

1. 可以利用萃取及分析蠶沙中的葉綠素，延伸至其他鱗翅目昆蟲的幼蟲對於葉綠素的吸收。比較幼蟲與其食用植物種類的葉綠素差別，或是比較不同幼蟲體對於葉綠素的吸收及轉換能力。
2. 可以利用上述實驗結果，加上葉綠素受綠光照射之發光情形實驗，分析幼蟲實際對於葉綠素的吸收及轉換之含量多寡，或是利用不同色光之雷射筆，比較其發光情形。
3. 蠶沙本身為一種中藥材，且桑葉經過蠶蛾幼蟲的消化後，營養價值更高⁹，常用於風濕痺痛、頭風、頭痛、皮膚瘙癢、腰腿冷痛、腹痛吐瀉等症，而蠶沙茶亦能作為日常保健飲品。而其他鱗翅目昆蟲之幼蟲蠶沙是否同樣也具有藥理功能，或是成為日常保健食品等，作為新的研究方向。
4. 根據色層分析的結果，我們發現乙醇萃取液較丙酮萃取液的效果佳，可以進而探討其他有機溶劑萃取葉綠素，呈現最好的色層分析效果。

參考資料

1. 李國綸 (2022/03/04)。抹茶粉與蠶寶寶有關？營養師解答「是的」曝提煉製造流程。民視新聞網。<https://www.ftvnews.com.tw/news/detail/2022304W0109>。
2. 食品添加物使用範圍及限量暨規格標準 (2022/08/02)。
3. 關於銅葉綠素及銅葉綠素鈉等食用人工色素的說明 (2013/11/07)。國衛院環境毒物研究中心。<http://nehrc.nhri.org.tw/toxic/news.php?cat=news&id=86>。
4. 李雲英 (2005)。蠶沙之本草考察及藥理研究。通識教育學報，第七期，91-108。
5. 江蘇新醫學院 (編) (1978)。中藥大辭典下冊，上海科學技術出版社，1830。
6. 韋恩的食農生活。抹茶粉的綠色是來自蠶大便的銅葉綠素？專家直言不可能。udo元氣網。(2022/03/24)。https://health.udn.com/health/story/60376188927?from=udnsearch_ch1005。
7. 李依儒、簡君芳、許喬婷、張育哲 (2007)。眼見不為憑:光合色素的濾紙層析分離。中華民國第47屆中小學科學展覽會高中組生物 (生命科學) 科。國立臺灣科教館。
8. 陳鈞彥、黃子祐、郭界宏 (2017)。Oh!「葉」~利用手機光譜儀探討市售植物油 在可見光雷射照射下發光之行為。中華民國第57屆中小學科學展覽會高級中等學校組農業與食品學科。國立臺灣科教館。
9. A+醫學百科。<http://cht.a-hospital.com/w/%E8%9A%95%E6%B2%99>。