

考生編號_____ 分數_____

二〇〇六年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 C 試場

葉中花青素(anthocyanin)特性的研究

A 實驗器材：

紫葉酢醬草	3 片葉片
小離心管(1.5 ml eppendorf)	10 個
桌上型離心機	1 台 (預設轉速 6000-8000 rpm)
小試管(10 ml)	5 支
研鉢及杵	1 組
n-butanol	10 ml
1M HCl	10 ml
1M NaOH	10 ml
蒸餾水	100 ml
顯微鏡 (具目鏡測微器)	1 台
分光光度儀(具有掃描功能 280-700 nm)	2 台 (共用)
石英管(cuvette)	2 個 (共用)
具有刻度的塑膠吸管	3 支
裝水的洗瓶	1 個
鑷子	1 支
載玻片、蓋玻片	各 3 片
膠帶 (1.5 cm 寬) 及膠帶座台	1 個 (共用)

※ 請注意：

1. 桌上的藥品及器材用完後，將不再補充。
2. 本試卷 (含封面、試題卷) 共 3 頁，於交卷時全部繳回。
3. 作答時間 **60 分鐘**，請於本卷上作答。試題答案可寫至題目背面，但請註明並標上題號。
4. 請於本頁左上角「考生編號」處，填入個人編號。

二、步驟：

1. 取紫葉酢醬草小葉葉片，撕取表皮細胞後以顯微鏡觀察表皮細胞及葉肉細胞的顏色，推測花青素存在哪些細胞中；並量測表皮細胞大小及記錄其形狀。
2. 取小葉葉片 1 片，置於研鉢中，加入 1ml 蒸餾水及 1ml n-butanol 磨碎。
3. 再加入 3 ml 蒸餾水及 2 ml n-butanol，研磨後以塑膠吸管吸取萃取液各 1ml，分別放入數個小離心中。
4. 以 8000 rpm (已設定) 離心 3 分鐘，收集各小離心管下層液[A]置於小試管中。
5. 加蒸餾水到[A]液中至體積為 9 ml，並混和均勻。
6. 取 3 個小試管，各放入下列物質，
 - 甲 3ml [A]+0.4 ml H₂O
 - 乙 3ml [A]+0.4 ml 1M NaOH
 - 丙 3ml [A]+0.4 ml 1M HCl

混和均勻後，觀察並記錄顏色的變化；各取 1ml 倒入石英管(cuvatte)中，依序掃描於波長 280-700 nm 下的吸收度，並標定出可見光範圍的吸收高峯波長，列印花青素於三種不同 pH 值下的吸收光譜。

三、探討問題：

1. 繪出下表皮細胞形狀 (含保衛細胞)，並由細胞大小估算氣孔密度。(20%)

2. 以葉橫切面的簡圖來標示葉中花青素存在的可能位置。(20%)

3. 貼上光譜圖（向監試人員索取膠帶），並指出花青素於三種不同 pH 值下的最高吸收峯的波長值(nm)與吸收值(OD)。(30%)

4. 此次實驗所得的花青素吸收光譜與理論上的葉綠素吸收光譜有差異嗎？花青素會干擾或輔助光合作用嗎？解釋之。(10%)

5. 假設某生於萃取 carotene 和 anthocyanin 的過程中忘了標記，由於此二種色素顏色接近，無法直接區分。試設計一套完整實驗流程以幫助他分離並且確認此兩種色素。(20%)