

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 生活與應用科學(二)科

第三名

032913

以「亮」取勝—探討如何辨識環境中的塑膠微粒

學校名稱：花蓮縣立國風國民中學

作者： 國二 林亞慧 國二 張立琪	指導老師： 黃耀輝 戴淑萍
---------------------------------	-----------------------------

關鍵詞：尼羅紅、塑膠微粒、海洋污染

摘要

使用尼羅紅螢光染劑對已知的 1 至 7 類塑膠染色，我們測試條件下，98 無鉛汽油為溶劑、波長 365nmUV 光照射、(22 微米)500 目不鏽鋼網當濾材，可以得到最佳辨識率。若濾材微濕就進行尼羅紅染色，會降低螢光偵測塑膠微粒的靈敏度，塑膠樣品染色後靜置的時間愈短辨識率愈高。來自環境的塑膠微粒和非塑膠有機物，即使不染色，當受 UV 光照射時也會發出較微弱的螢光，但是顏色有差異，可使用簡單的濾光片分辨出過濾環境樣品中的塑膠與非塑膠，解決尼羅紅染色對自然界中有機生物欠缺分辨能力的困境。解析海砂中的塑膠殘留量發現：距離海水愈近殘留量愈高，此趨勢和海砂的顆粒大小較無關聯。表層海水中的塑膠微粒數量驚人，3185/1000ml，大約是溪水和雨水中塑膠密度的 3~10 倍。

壹、研究動機

21 世紀的到來，在我們的生活中，每年至少有 800 萬噸的塑膠垃圾進入海洋，根據環保署近年統計，全台灣每人在一週內約可食用下將近一張信用卡的塑膠量。而環保意識是 21 世紀的最新問題，尤其是塑膠對於生態的傷害、讓動物誤食的狀況，甚至在海洋中還有一種默默對生態造成影響的微粒，名為微型塑膠，我們在新聞上看到了這些報導後，我們產生了極大的興趣，希望能夠探討海洋是否有自行過濾塑膠微粒的功能。

貳、研究目的

- 1、 測試以不同的溶劑、光源、濾材檢驗塑膠微粒的辨識率。
- 2、 測試縮短尼羅紅染料和塑膠粒的靜置時間對塑膠微粒辨識率的影響。
- 3、 檢測海砂、河沙、海水、溪水、雨水中塑膠微粒的含量。
- 4、 自製便宜有效的過濾裝置。
- 5、 快速鑑別環境中塑膠和非塑膠。

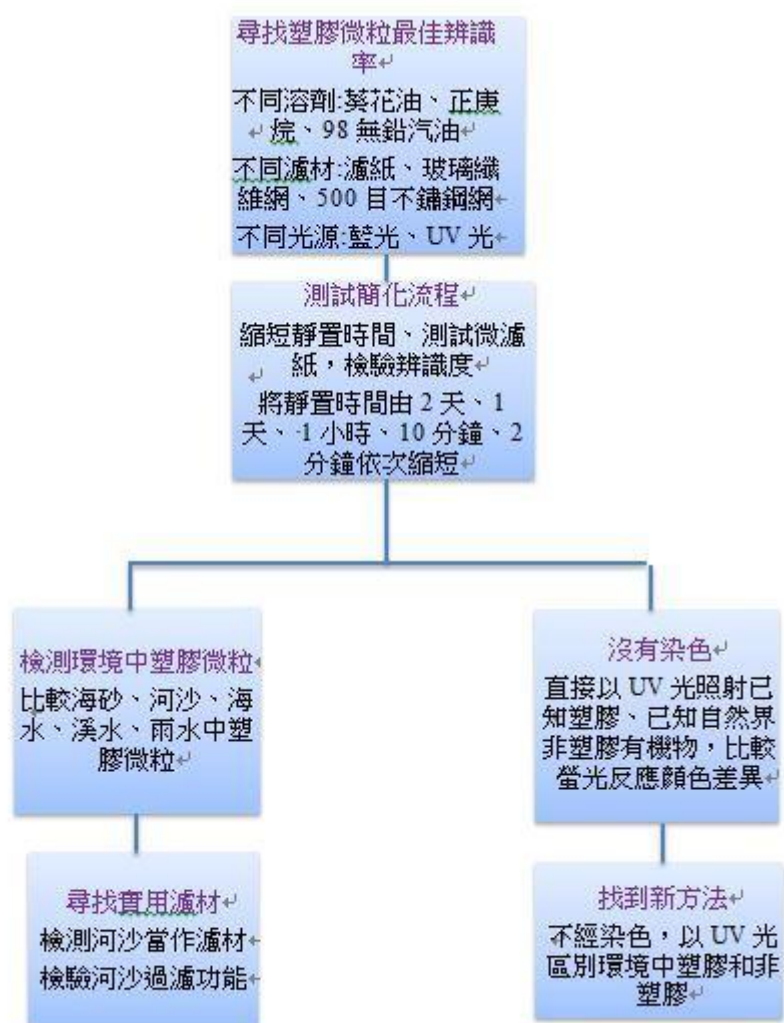
參、設備器材

實驗藥品及器材：密封盒、熱風槍、尼羅紅、UV 光、藍光、培養皿、濾紙、玻璃纖維、500 目不鏽鋼網、1 至 7 類塑膠、顯微鏡、Image J 應用程式、葵花油、正庚烷、氯化鋅、海沙、河砂、海水、溪水

				
密封盒	熱風槍	尼羅紅	365nmUV 光， 470nm 藍光	顯微鏡
				
濾紙	玻璃纖維	500 目不鏽鋼 網	1 至 7 類塑膠	氯化鋅
				
葵花油	正庚烷	98 無鉛汽油	黃色濾光鏡	Image J 應用程式

肆、研究過程及方法

研究架構：



文獻探討

何謂塑膠微粒：

1. 塑膠微粒：根據美國海洋暨大氣總署（NOAA）的定義，塑膠微粒（microplastics）是指粒徑小於 0.5 公分的塑膠碎片。這些微粒若被浮游生物攝食，而浮游生物又是魚、貝類等濾食性動物的食物來源，這些有機化合物就進入食物鏈，並在生物體內堆積。最後就會累積進入最高級的掠食者，像是海洋哺乳類或人類的身上。

何謂尼羅紅：

1. 尼羅紅（Nile Red），是一種染劑，能和塑膠或生物體中的脂質結合。其性質穩定，著色清晰，並在藍光或 UV 光照射時發出螢光，但無法與極性溶劑或水結合。

如何觀察塑膠微粒：

1. 觀察塑膠微粒的方法：以尼羅紅溶液染色塑膠微粒，染色後，分別以 UV 光與藍光在黑暗環境中照射，以濾鏡過濾掉反射出的光線後使用顯微鏡觀察螢光，如圖(1、2)，最後再以 Image J 來分析數量並比較。

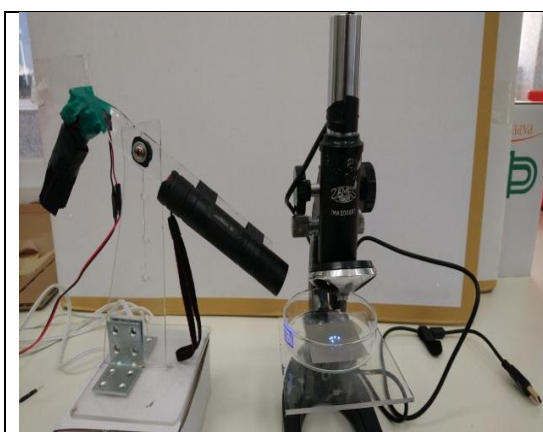


圖 1、觀察塑膠微粒的方法

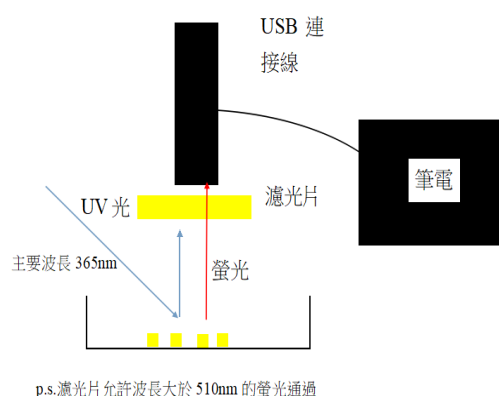


圖 2、觀察塑膠微粒方法的示意圖

1. 使用 image j 的流程圖：

圖 片					
說 明	步驟一 在 Image J， 點擊 File， 再點擊 Open 把圖 片叫出	步驟二 按下 Image J 後，會出現 Type，將照 片轉成黑白	步驟三 點擊 Adjust 後會出現 Treshold，點 擊後可以調 節要被數的 顆粒對比	步驟四 點擊 Analyze 後出現 Analyze particles，點 擊後可按指 示完成。	即可算出數 據

研究一、以不同的溶劑、光源、濾材檢驗塑膠的辨識度

實驗一-1:探討不同溶劑溶解尼羅紅，對塑膠染色的辨識率

計算辨識率的方法是：放置自行準備好的塑膠顆粒 10 顆，若程式只數到 8 顆即為 80%，而程式若是數到 12 顆，亦為 80%，即超過 20 顆者辨識率為 0%）

實驗步驟：

1. 先將七類塑膠各 10 顆自製塑膠顆粒置於孔隙 6 微米濾紙上，再將尼羅紅與溶劑(分別是:葵花油、正庚烷、98 無鉛汽油)混合的溶液(0.1mg/ml)以滴管滴置塑膠和濾材上，靜置 2 天。
2. 以 USB 顯微鏡在黑暗環境中分別照射藍光與 uv 光拍攝後，檢測塑膠顆粒辨識率。
3. 以溶劑洗掉殘留在濾材(濾紙)上的尼羅紅後(以下簡稱清洗背景)，重複上述實驗。

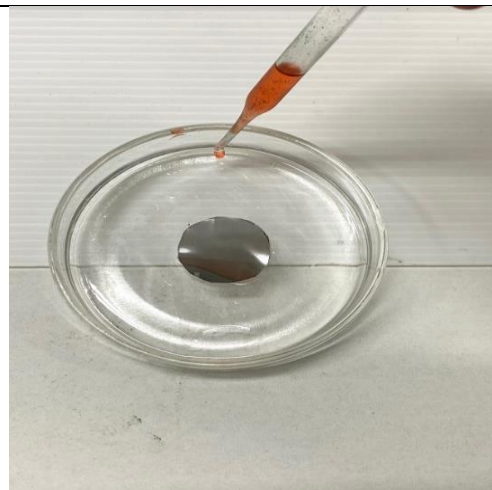


圖 3 以 98 無鉛汽油由高往低處滴

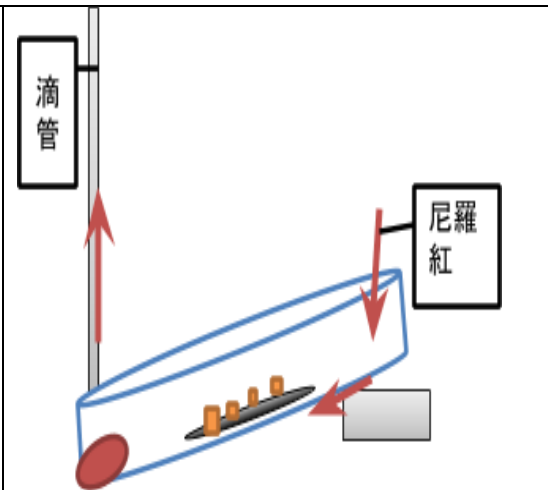


圖 4 清洗濾材上尼羅紅染料的示意圖

實驗一-2:探討不同濾材，對塑膠染色的辨識率

實驗步驟: (實驗藥品如同實驗一-1)

1. 將上述實驗濾材改成玻璃纖維、500 目不鏽鋼網（孔隙 22 微米），重複上述實驗。

研究二：以不同的靜置時間檢測塑膠的辨認度

實驗二-1：將靜置時間從 2 天改成 1 天、1 小時、10 分鐘、2 分鐘，再檢測辨識率。

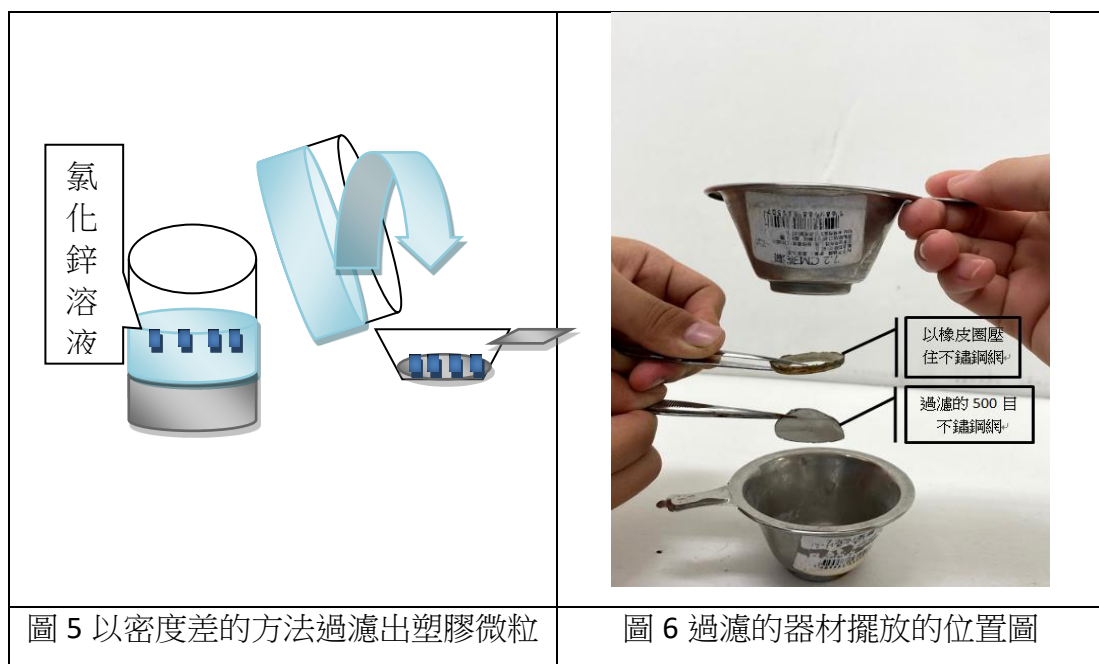
實驗二-2：測試濾紙微濕時進行尼羅紅染色的辨識率。

研究三：過濾海砂、河沙、海水、溪水、雨水，檢查殘留的塑膠微粒。

研究三-1：過濾海砂、河沙。

實驗步驟：

1. 利用密度 1.78g/立方公分的氯化鋅水溶液將河沙泡入，河沙中的塑膠微粒浮起來，河沙沉下去。
2. 倒出含有塑膠微粒的上層氯化鋅溶液，用 500 目不鏽鋼網（孔隙 22 微米）過濾出塑膠微粒並檢測塑膠微粒的數量。



研究三-2：過濾海水、雨水、溪水

實驗步驟：

1. 先將 A 地與 B 地的海水各取 1000ml
2. 以 500 目不鏽鋼網（孔隙 22 微米）過濾兩地的海水。

3. 晾乾後滴上尼羅紅加 98 無鉛汽油溶液
4. 以溶劑洗掉殘留在不鏽鋼網上的尼羅紅後檢測塑膠微粒
5. 拍攝後送入 Image J 記數並比較兩地的塑膠微粒的數量。

研究四：自製便宜有效的過濾裝置。



圖 7、乾淨的河沙過濾海水的器材

實驗步驟：

1. 取出(圖 5)下層的河沙放入圓筒中(圖 7)當作過濾器，假設砂中已無塑膠微粒。
2. 將河沙分成四個區域，分別為上層、中上層、中下層及下層，共四層。
3. 將 1000 毫升的海水倒入過濾器中，並等待過濾後的海水流出
4. 將四個區域的河沙分別挖出，並利用先前過濾河沙的方法過濾出其中的塑膠微粒，送入 Image J 檢測各層河沙的過濾效果。
5. 檢驗過濾後流出的海水中是否仍有殘留塑膠微粒。

研究五：快速鑑別環境中的塑膠和非塑膠微粒。

1. 用 500 目不鏽鋼網過濾海水、溪水、雨水後得到過濾樣品，沒有使用尼羅紅染色，直接使用波長 365nm 的 UV 光照射過濾樣品。拍攝並以 image J 計算樣品的亮點數量，此數量 $X = (\text{塑膠} + \text{非塑膠}) \text{顆粒數}$ 。
2. 使用黃色壓克力濾光片和綠色玻璃紙疊加的濾光組合過濾光線後，拍攝並以 image J 計算樣品的亮點數量，此數量 $Y = \text{塑膠顆粒數}$ 。



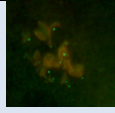
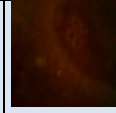






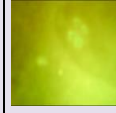
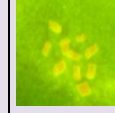

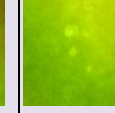
3. 上述 $X-Y$ = 非塑膠顆粒數。

伍、研究結果

研究一、研究以不同的溶劑、光源、濾材檢驗塑膠顆粒的辨識度

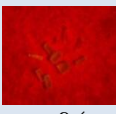


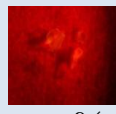

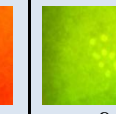
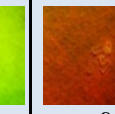
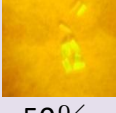


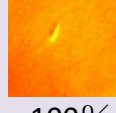

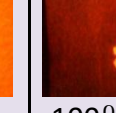
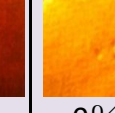
一、探討以葵花油為溶劑濾紙作為濾材並以藍光及 UV 光照射：

表 1 葵花油當溶劑清洗背景後的塑膠微粒辨識率

未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均值
藍光	 40%	 60%	 40%	 0%	 60%	 0%	 80%	40%
UV 光	 60%	 10%	 10%	 0%	 10%	 10%	 50%	21%



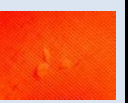
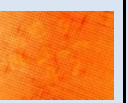


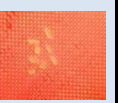







二、探討以正庚烷為溶劑以濾紙作為濾材並以藍光和 UV 光照射：

表 2 以正庚烷為溶劑、濾紙為濾材辨識率的比較

未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	 20%	 30%	 100%	 40%	 0%	 90%	 90%	52%
UV 光	 50%	 70%	 10%	 100%	 0%	 100%	 0%	47%

三、探討以正庚烷為溶劑以玻璃纖維網作為濾材檢驗塑膠微粒辨識率：

表 3：以正庚烷為溶劑，玻璃纖維網為濾材，清洗過背景的辨識率：

未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	 0%	 30%	 10%	 0%	 0%	 100%	 0%	20%
UV 光	 0%	 60%	 0%	 100%	 0%	 100%	 90%	50%

四、探討以正庚烷為溶劑以 500 目不鏽鋼網作為濾材並以藍光和 UV 光照射

表 4 以正庚烷為溶劑、500 目不鏽鋼為濾材辨識率的比較：


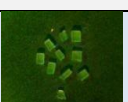













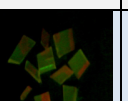
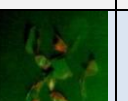






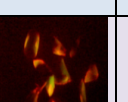




未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	 30%	 10%	 50%	 100%	 10%	 90%	 10%	42%
UV 光	 50%	 90%	 90%	 10%	 40%	 90%	 60%	61%




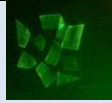
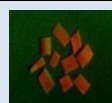




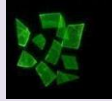
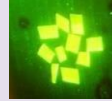
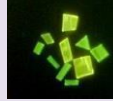
表 5 以正庚烷為溶劑、500 目不鏽鋼網為濾材，清洗背景後辨識度

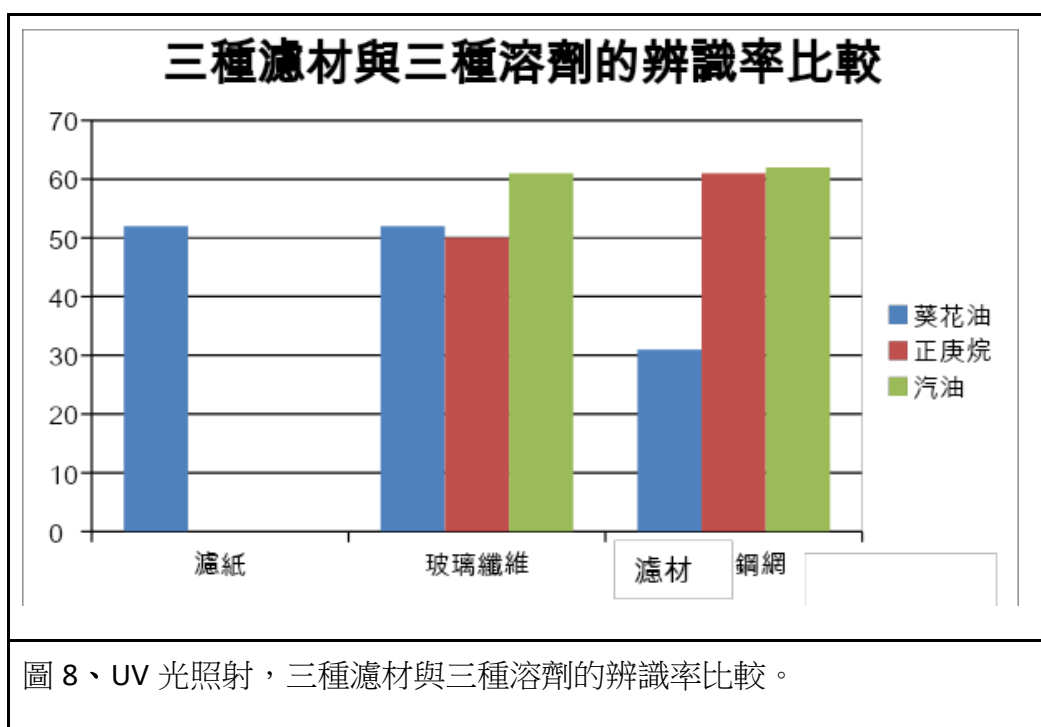
洗過	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	 10%	 100%	 60%	 20%	 70%	 100%	 60%	60%
UV	 30%	 50%	 80%	 50%	 70%	 100%	 50%	61%

光								
---	--	--	--	--	--	--	--	--

五、探討以 98 無鉛汽油為溶劑以藍光和 UV 光照射：

表 6，以 98 無鉛汽油為溶劑，500 目不鏽鋼網為濾材的辨識率比較

未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	 10%	 70%	 100%	 90%	 90%	乳化	 60%	60%
UV 光	 70%	 60%	 90%	 70%	 80%	乳化	 70%	62%



綜合一、二、三、四、五、的實驗結果，得到圖 8 可知：

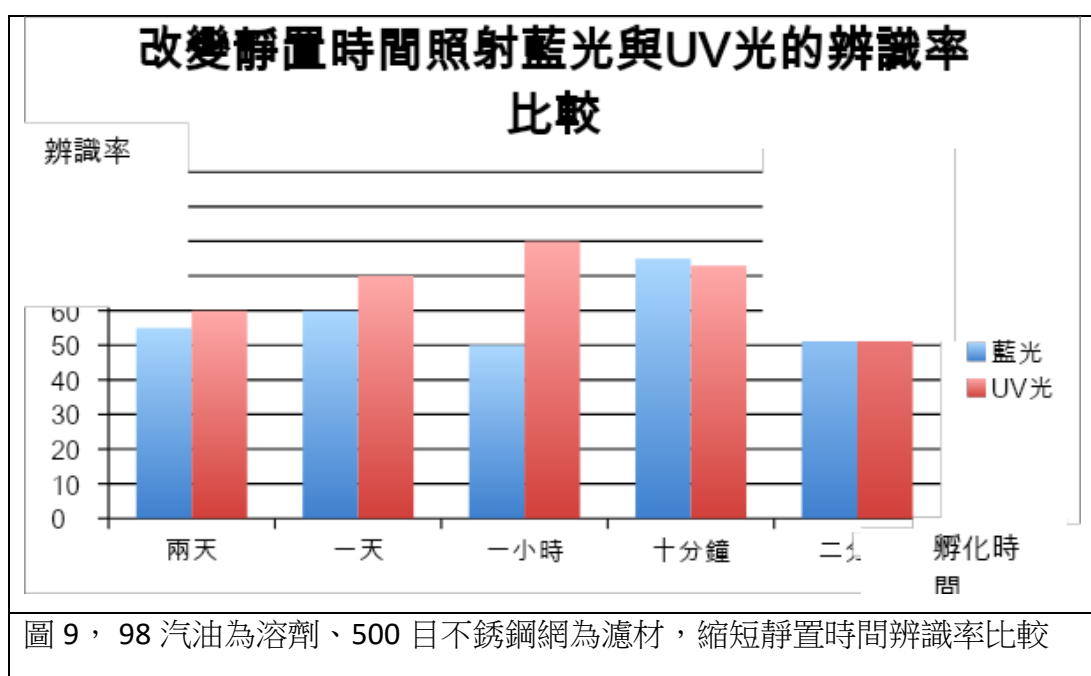
1. 以 98 無鉛汽油為溶劑的辨識率最佳，葵花油為溶劑的辨識率最差。

- 500 目不鏽鋼網為濾材時的辨識率是三種濾材中辨識率最好的。所有組合中，以 98 無鉛汽油為溶劑搭配 500 目不鏽鋼網為濾材、加上 UV 光照射且清洗過背景的組合，各類塑膠的綜合辨識率最佳。
- 第六類塑膠會被 98 無鉛汽油溶解。

研究二-1：縮短尼羅紅染色靜置時間檢測塑膠的辨識度：

因為每個實驗所花的時間最少需要二天，若能縮短靜置時間，也許可以做出大量且精確的數據，所以我們決定試驗縮短孵化時間看看會不會影響辨識率，以 1 天、1 小時、10 分鐘和 2 分鐘來測試。

以 98 無鉛汽油為溶劑、500 目不鏽鋼網為濾材的辨識度，實驗結果如下：

















- 如圖 9，在 2 天、1 天、1 小時、10 分鐘、2 分鐘可知，靜置 2 分鐘且清洗過背景的塑膠顆粒辨識度最好，有靜置時間愈短，辨識率愈高的趨勢。
- 在過程中，不論是清洗過與未清洗過背景的情況，2 分鐘及 10 分鐘的第六類塑膠皆未完全溶掉，第六類塑膠的辨識度反而能由 0 提高到 60~100 %。

研究二-2：測試過濾後，水未完全乾的狀況染色，檢測塑膠的辨認度：

此實驗要模擬過濾後樣品還沒有乾燥之前進行尼羅紅染色，檢測其辨識度，結果如下

表 7 微濕的濾紙，以正庚烷為溶劑辨識率：

	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	 10%	 40%	 0%	 0%	 0%	 0%	 0%	7 %
UV光	 0%	 10%	 40%	 50%	 0%	 0%	 10%	15 %

- 由表 7，以正庚烷為溶劑，濾紙為濾材，先滴水未乾時，辨識率都降低，無法準確的呈現個數，若以 98 無鉛汽油為溶劑也會得到相同的結果，所以實驗時必須讓樣品乾燥再進行染色。

研究三、研究海砂、河沙、海水、溪水、雨水塑膠微粒的顆粒數目：

過濾海水、雨水、溪水，檢測環境中塑膠微粒的數量，結果如下：

註：研究三、四實驗照片是使用 200 萬畫素 USB 顯微鏡拍攝。

表 8，每 1000 立方公分海砂中的塑膠微粒數

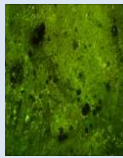
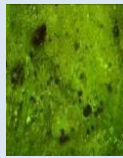
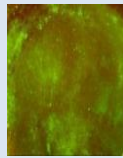
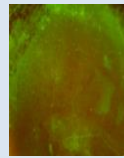

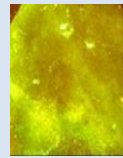
	最近的海砂樣品 1	最近的海砂樣品 2	次近的海砂樣品 1	次近的海砂樣品 2	最遠的海砂樣品 1	最遠的海砂樣品 2	平均
海砂							4120 顆
顆粒數	5560 顆	4810 顆	4690 顆	4740 顆	2030 顆	2640 顆	

表 9，每 1000 立方公分河沙中的塑膠微粒數

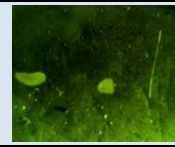
	河沙 1	河沙 2	河沙 3	河沙 4	河沙 5	平均
河沙						400 顆
顆粒數	210 顆	230 顆	290 顆	530 顆	720 顆	

表 10，每 1000ml 海水中塑膠顆粒數

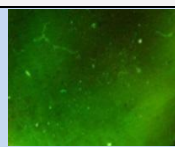
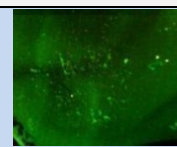
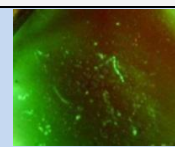
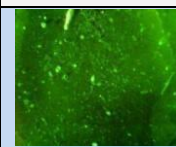
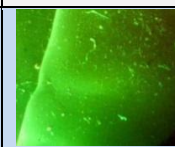
	樣品一	樣品二	樣品三	樣品四	樣品五	平均
海水						1550 顆
顆粒數	1285 顆	3185 顆	225 顆	2030 顆	1035 顆	

表 11 每 1000ml 溪水中塑膠顆粒數



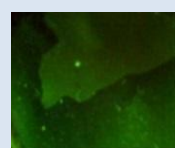
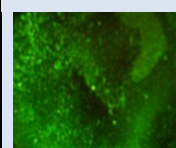

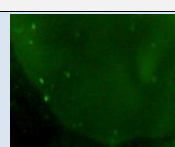
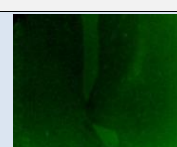
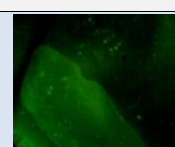
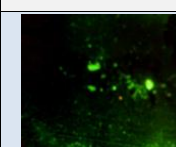
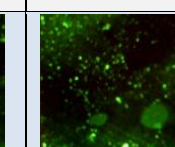
	樣品一	樣品二	樣品三	樣品四	樣品五	平均
溪水						135 顆
顆粒數	185 顆	165 顆	30 顆	135 顆	165 顆	

表 12，每 1000ml 雨水中塑膠顆粒數

	第一個樣品	第二個樣品	第三個樣品	第四個樣品	第五個樣品	平均
雨水						175 顆
顆粒	100 顆	100 顆	290 顆	60 顆	340 顆	

數						
---	--	--	--	--	--	--

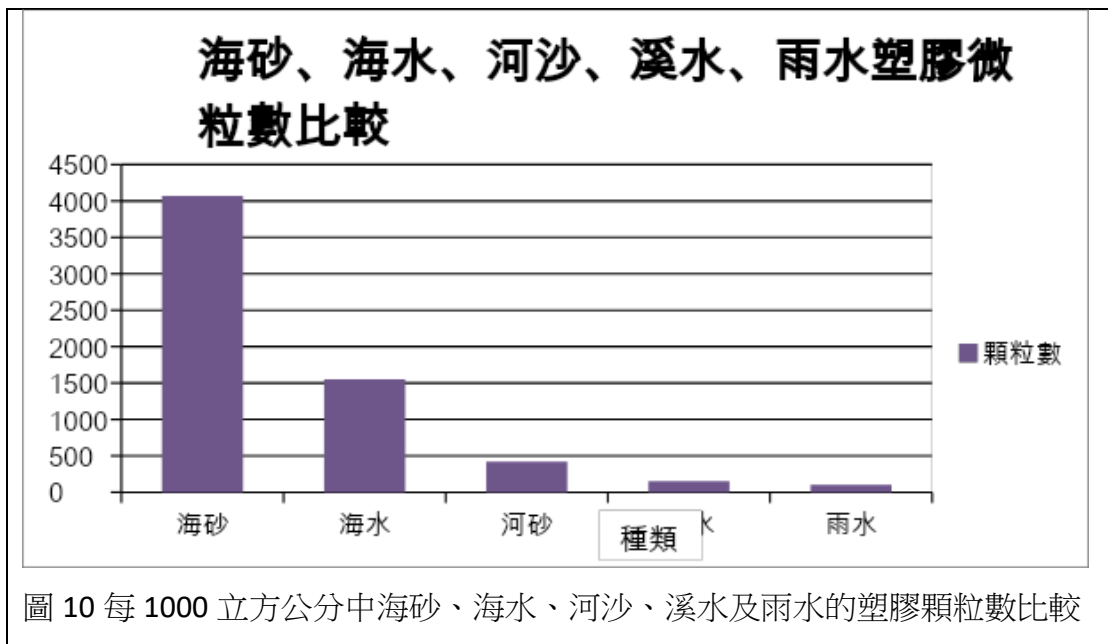
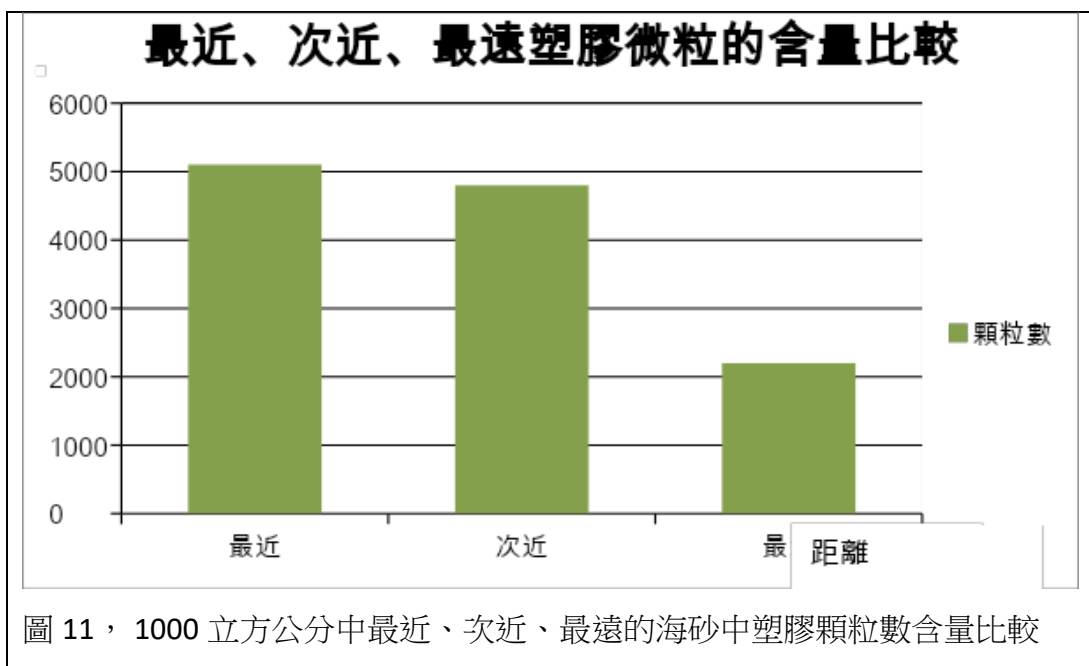


圖 10 每 1000 立方公分中海砂、海水、河沙、溪水及雨水的塑膠顆粒數比較

1. 由圖 10，可知海水中的塑膠微粒大於溪水和雨水中的塑膠微粒含量，大約是 3~10 倍的含量。
2. 海砂中的塑膠顆粒殘留量大約是海水中的 3 倍。可知海砂過濾海水中的塑膠微粒的功能並不顯著。暫時過濾海水中的塑膠顆粒會被後來的海浪沖走，不能無限的累積。
3. 河沙過濾河水中塑膠微粒的能力和海砂過濾海水中塑膠微粒的能力類似。
4. 由(表 8)可知，距海越遠近的海砂塑膠微粒越少，而越近的海砂塑膠微粒也就越多。此塑膠粒分布的趨勢和海砂的顆粒粗細無關，反而跟距離海水遠近有關。

(距海近的海沙粒徑：3.5~15.6mm，比較大顆；距海遠的海沙粒徑：1.5~5.6mm，比較小顆)



研究四、自製便宜有效的過濾裝置。

以(圖 7)河沙(粒徑 0.3~1.7mm)過濾海水的器材，河沙是已經過氯化鋅溶液分離過塑膠微粒的乾淨沙子，每 2cm 為一層，直徑 17cm。測試如下：

表 13，以河沙過濾海水，各層殘留塑膠顆粒數量：

	上層	中上層	中下層	下層	平均值
河沙過濾海水	 184	 206	 172	 202	194

結果顯示，當海水由上方向下流過河沙，海水中的塑膠微粒會被河沙過濾出來，且過濾後的海水中塑膠微粒殘留量檢測結果是零。表示河沙能有效清除海水中的塑膠微粒，有潛力可以成為過濾海水中塑膠微粒的便宜濾材。

研究五、快速鑑別環境中塑膠和非塑膠：

測試已知塑膠樣品時，意外發現沒有染色的塑膠在黑暗中被 UV 光照射會發出螢光，更意外的是連樹皮和雜草也會。但是它們發出的螢光有些不同，於是我們先準備一些已知樣品做了一些測試：(用 6.7 倍解剖顯微鏡+1200 萬畫素手機拍攝)。

我們的假設是以 UV 光直接照射，塑膠和水中非塑膠之間有螢光差異，可以根據這個差異區別過濾出來的顆粒是塑膠、非塑膠(猜測溪水中可能出現的生物和

碎屑)，經過反覆測試後，發現使用黃色壓克力濾光片加綠色玻璃紙的組合能有效區別它們。

顯微鏡下照射自然光的影像：

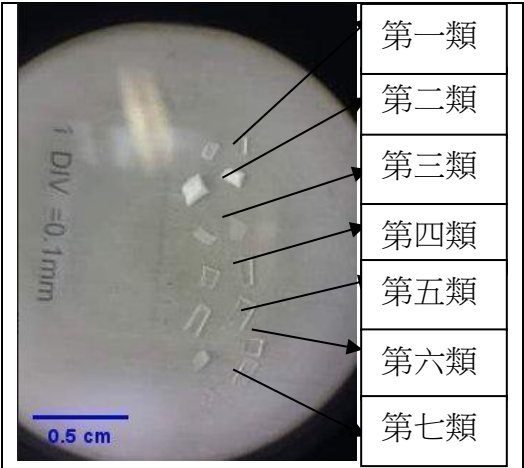


圖 12，1 到 7 類塑膠樣品共 14 個

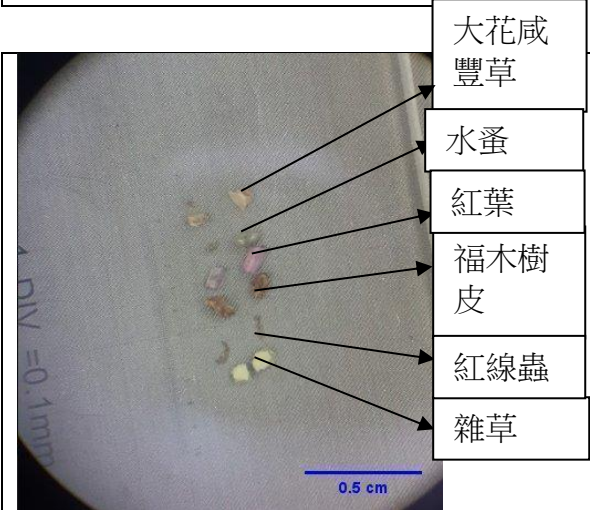

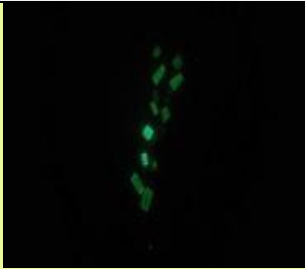




圖 13，非塑膠樣品(共 12 個)

表 13，已知的樣品 1~7 類塑膠有無濾光片的差異：

七類塑膠(放置 1~7 類塑膠各 兩個樣品)	無放置濾光片	放黃色濾光片配上綠色 璃紙
14 顆已知的塑 膠樣品		

	14 顆	14 顆

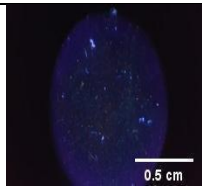
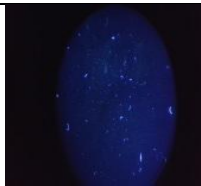
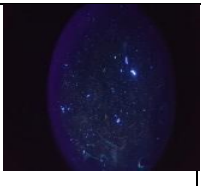
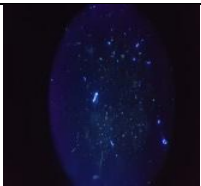
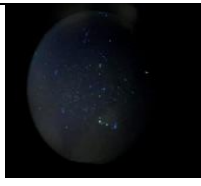
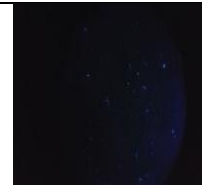

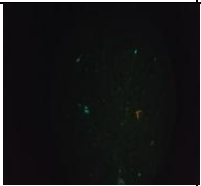
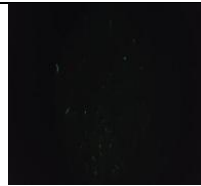
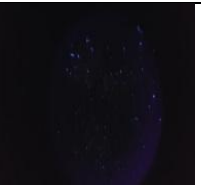
表 14，已知的非塑膠樣品有無濾光片的差異：

非塑膠(放置 12 個非塑膠樣品)	無放置濾光片	放黃色濾光片配上綠色玻璃紙
12 顆非塑膠的樣品	 12 顆	 0 顆

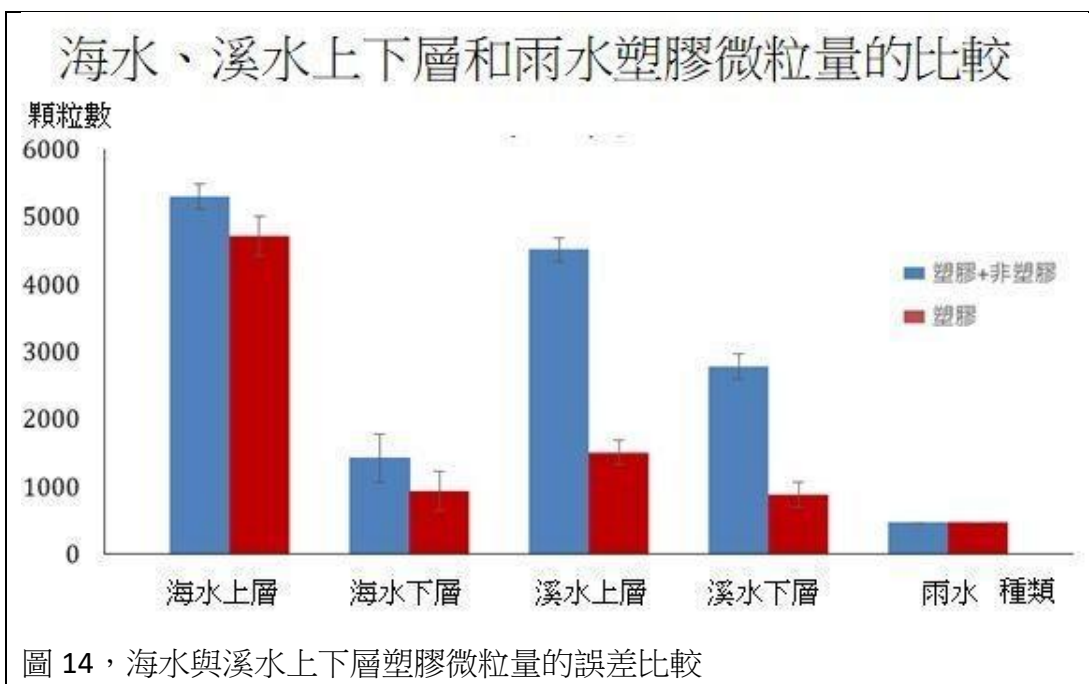
比較表 13、14：顯示 1~7 類塑膠再放置黃色濾光片配上綠色玻璃紙前後都能被辨識，水中非塑膠(動物、植物)的螢光能被黃色濾光片配上綠色玻璃紙遮蔽而看不見。

於是我們以此方法重新檢查過濾的樣品中塑膠與非塑膠，結果如下：

表 15，海水上下層、溪水上下層、雨水在顯微鏡中呈現的影像：

				
海水上層無放置濾光片	海水下層無放置濾光片	溪水上層無放置濾光片	溪水下層無放置濾光片	雨水無放置濾光片
				
海水上層有放	海水下層有	溪水上層有	溪水下層有放	雨水有放置濾

置濾光片	放置濾光片	放置濾光片	置濾光片	光片
------	-------	-------	------	----



由圖 14 顯示：

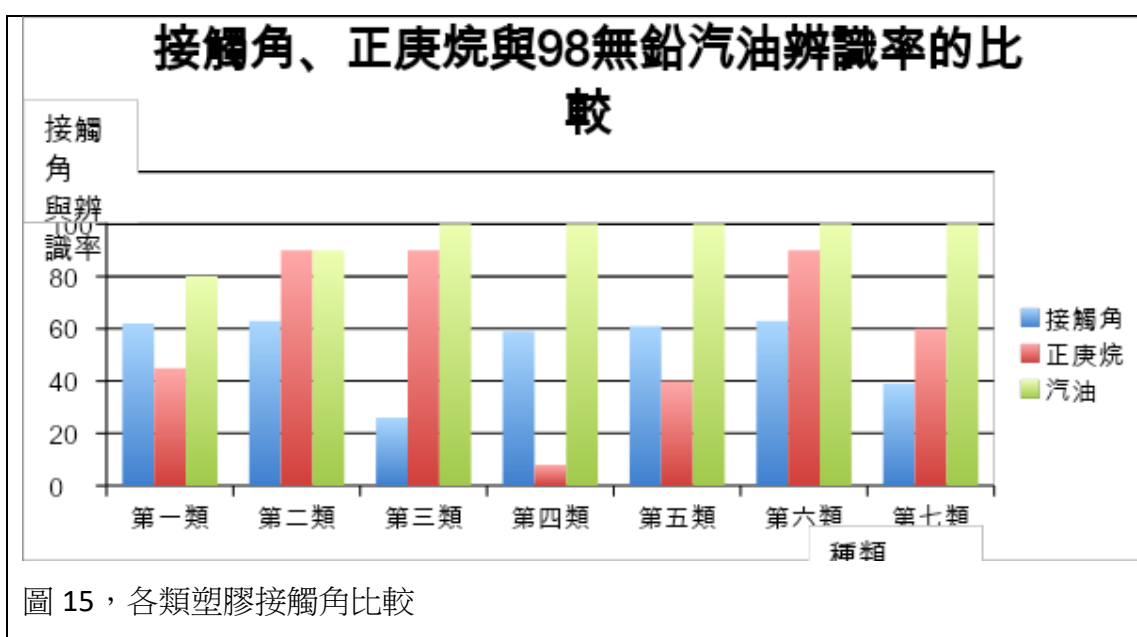
1. 溪水中含有螢光反應的小生物最多，雨水中的生物量較少。
2. 海水的上層(表層)中塑膠微粒比下層的塑膠微粒多，大約是 6 倍。
3. 雨水中仍然有塑膠微粒。

陸、討論

研究一、研究以不同的溶劑、光源、濾材檢驗塑膠顆粒的辨識度

- 1、Image J 無法順利辨認的原因我們猜測可能是因為此濾材上殘留的尼羅紅也產生螢光，導致塑膠和濾材上殘留的螢光無法形成強烈對比。
- 2、使用溶劑清洗塑膠下方濾材中的殘留尼羅紅時，必須很緩慢進行，否則溶劑也會把塑膠上的尼羅紅一起洗掉，導致螢光一起下降，同樣造成辨識度不高。
- 3、選用葵花油做為溶劑是因為尼羅紅需要以非極性溶液作為溶劑，但呈現效果不佳，可能是尼羅紅在塑膠和濾紙上附著的狀況差不多，造成明暗對比不明顯。

- 4、選用正庚烷和 98 無鉛汽油作為溶劑進行染色時，尼羅紅附著塑膠發出的螢光較強，且尼羅紅較不易附著在不鏽鋼網上，所以辨識率較高。
- 5、如果以水和塑膠的接觸角代表溶劑和各類塑膠的親油性，檢測各類塑膠的接觸角和辨識度的關係如下圖 15 所示：顯示各類塑膠和油的親和能力與辨識度沒有明顯的相關性，辨識度的大小和溶劑與尼羅紅一起跟塑膠的交互作用有關。

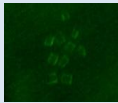
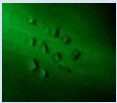

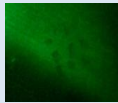
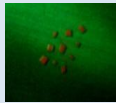
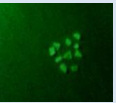
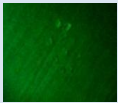
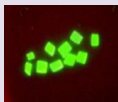
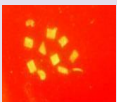
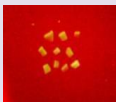






研究二、縮短靜置時間極微溼的狀況會不會降低塑膠微粒的辨識度？

1. 因為後續實驗要過濾海水、河水，所以先模擬當時的情況。因為過濾海水後的濾紙是溼的，所以我們就先在染色塑膠顆粒前先以水滴至濾材上，使全部的塑膠顆粒和濾紙都得以沾到水，靜置 2 小時後以正庚烷作溶劑進行實驗，結果如(表 7)，顯示辨識率很低。我們猜測是因為滴水會使尼羅紅的螢光消失，而使塑膠顆粒的螢光減弱，因而導致塑膠顆粒無法被 image j 數出，所以實驗時過濾海水等樣品後，必須先使塑膠樣品和濾材完全乾燥再進行染色。
2. 由(圖 9)顯示，縮短靜置時間會使得辨識率提高，這點和國外實驗室做的結果很不一樣。我們原本擔心縮短時間會導致辨識率降低，卻意外得到相反且驚喜的成果，有可能是塑膠比起不銹鋼網更親油、更容易被尼羅紅染色，另一個原因是第六類塑膠來不及被無鉛汽油融化而被辨識出來。

3. 如果縮短時間能導致好的結果，我們不禁想知道：如果極端的情況是不對塑膠染色呢？會有螢光反應嗎？

表 16 無螢光染色的塑膠辨識率：

無染色	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	0% 	0% 	0% 	0% 	0% 	70% 	0% 	10%
UV光	90% 	70% 	60% 	0% 	0% 	90% 	100% 	58%

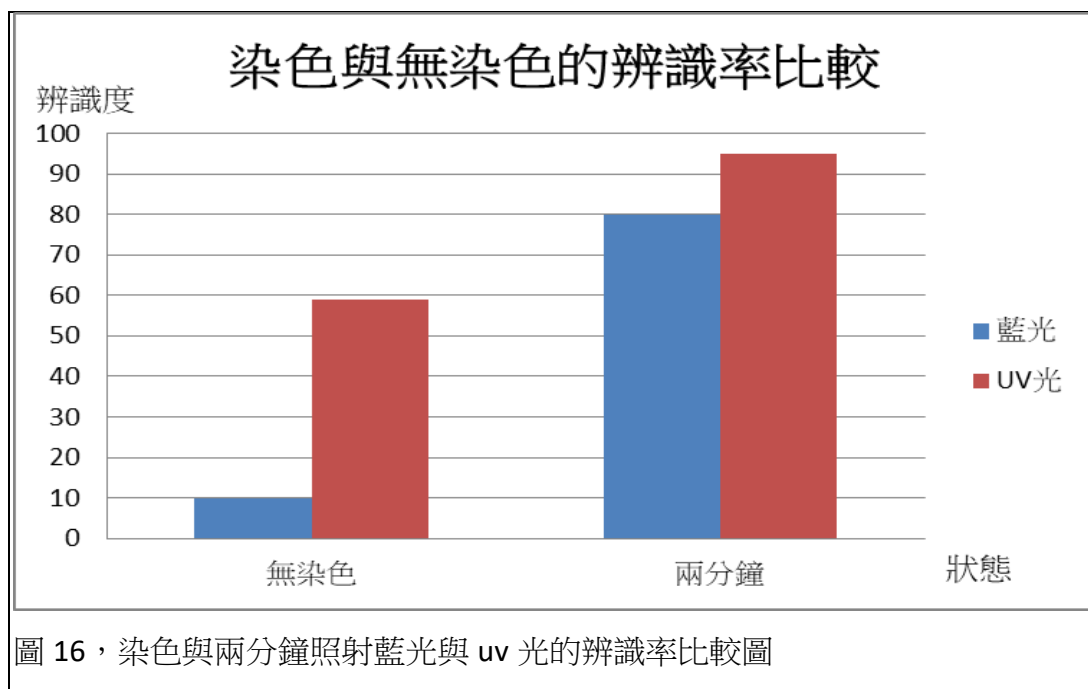


圖 16 顯示，無染色的塑膠在 UV 光照射下依然有不錯的螢光反應，從照片顯示 1~7 類塑膠都能夠被看見，但是部分辨識率仍然不高，於是我們改用解剖顯微鏡，放大 6.7 倍拍攝、辨識。

研究三、四：檢測海水、溪水、雨水塑膠微粒的含量

1. 相同體積的水體中塑膠微粒含量，海水＞溪水＞雨水。前者大約是後兩者的 10 倍左右。顯示海洋受到的汙染更甚於溪水，而且由於雨水中也含有塑膠微粒，表示塑膠微粒在海中、在空中，無處不在，環境汙染情形相當嚴重。
2. 自然界的海砂和河沙都沒有留住塑膠微粒的能力，頂多只能比同體積的水體留住 3 倍量的塑膠微粒，不能無限制的吸收。等於宣告人類不能仰賴大自然自身的力量清除塑膠微粒，環境保護仍得由自己負起責任。
3. 粒徑 0.3~1.7mm 的河沙可以當作過濾的材料，將可在清除濾掉環境中塑膠微粒時，降低濾材的費用。

研究五、快速鑑別環境中塑膠和非塑膠：

表 17，比較解剖顯微鏡和 USB 顯微鏡拍攝得到得塑膠顆粒數差異：

塑膠微粒的含量(顆/1000ml)	解剖顯微鏡加 1200 萬畫素手機，以 UV 光照射	200 萬畫素 USB 顯微鏡，以 UV 光照射
雨水	940	180
溪水上	1512	173
溪水下	648	
海水上	5472	265
海水下	1000	

1. 資料上顯示尼羅紅雖然螢光耀眼，但是對水中生物脂質呵塑膠的部分一樣都會附著，造成研究人員無法以尼羅紅染劑明確區別過濾後所得到的微小顆粒是塑膠還是水中生物。如果樣品不用尼羅紅染色，我們可以使用簡單的濾光方法區別出水中的塑膠和生物碎屑。
2. 實驗採用的海水上、下層的高度差距大約 10cm，但是其中所含的塑膠微粒差距已是 5~6 倍，可以推測海中塑膠微粒分布的狀況，不是在最底層就是在最頂層。這可以推論在海中的濾食性生物中，在海水頂層濾食的生物風險比較高；若進行大規模的海水過濾應優先處理表層海水的塑膠微粒。


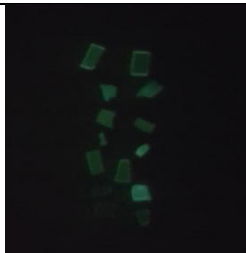

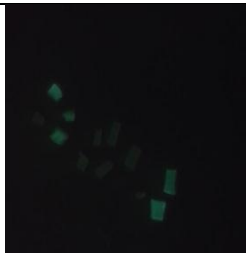
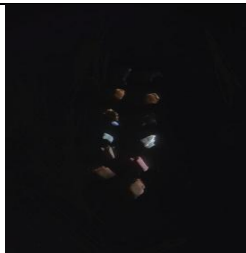
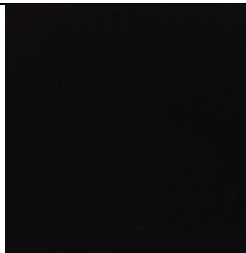

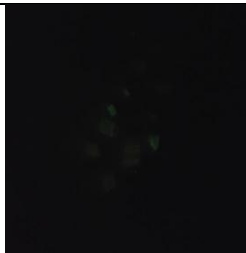
接著比較實驗中使用過的 2 種拍照裝置的實驗差異：

由上表可知發現，以解剖顯微鏡所算出的塑膠微粒數較多於 USB 顯微鏡，我們

猜測是因為 USB 的畫素較低所以無法檢測出較小的亮點，而因為解剖顯微鏡的畫素較高，較能算出準確的塑膠微粒數。因此，若要進行這類實驗，建議以解剖顯微鏡加上高畫素手機拍攝過濾樣品再進行檢測。

最後，因為不染色就進行拍照、辨識，既正確又快速，想知道如果樣品微濕就進行實驗，效果和微濕染色進行實驗一樣嗎？實驗結果如下；

表 18，比較不染色乾燥和微濕狀態下拍攝得到得塑膠顆粒數差異：

	UV 光、無濾光	UV 光、有濾光片	UV 光、無濾光（微濕）	UV 光、有濾光片（微濕）
塑膠				
非塑膠				

上表中，左半側是乾燥樣品，是現在採用的實驗方法。右半側是過濾後樣品微濕就進行實驗，可以發現螢光竟然更為強烈，值得後續進行研究。

柒、結論

- 1、在測試過的非極性溶劑中，以 98 無鉛汽油最適合做為溶劑、而濾材方面則適合選用孔目小又不易沾染尼羅紅的 500 目不鏽鋼網、以 UV 光照射塑膠微粒，這種組合最能夠清楚分辨塑膠微粒。
- 2、用溶劑洗掉濾材上殘留的尼羅紅螢光染劑後能提高塑膠微粒分辨率。
- 3、塑膠和尼羅紅靜置時間中以二分鐘的效果最好。
- 4、在檢測過的環境塑膠微粒含量中，以海砂>海水>河沙>雨水>溪水。顯示環境中塑膠微粒無處不在，汙染相當嚴重。而且海沙、河沙皆沒有無限過濾其水體中塑膠微粒的能力，人類必須自己負起責任來清理塑膠微粒。
- 5、以河沙自製的過濾器能過濾出海水中的塑膠微粒，可知河擁有過濾塑膠微粒的功能，是廉價的濾材選項之一。
- 6、沒有使用尼羅紅染色時，用波長 365nm 的 UV 光照射塑膠和環境中的有機生物時，它們大多會在黑暗中發出微弱螢光，但是顏色有些不同。可藉此找出分辨塑膠和環境有機生物的方法，成功解決尼羅紅染劑對塑膠和非塑膠無法區別的缺點。
- 7、海水頂層的塑膠微粒含量遠大於下層大約 10cm 的塑膠含量，推測在海水表層濾食的生物吃進的塑膠量遠大於在海水下層濾食的生物。若要從海水中過濾塑膠，應優先從表層著手。

捌、參考文獻

- 1、游景欽、陳德謙（2018）基隆外木山沙灘塑膠微粒汙染探討與研究。檢自 <https://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/58/pdf/NPHSF2018-052604.pdf>（Oct.15,2019）
- 2、Fionn Ferreira Fionn Ferreira at the 2019 Google Science Fair. Retrieved from <https://www.youtube.com/watch?v=akCig2s7xrs>（Sep. 23,2019）
- 3、簡志祥（2012）使用 Image J 基礎教學影片—計算紅血球數量。檢自 <https://www.google.com/search?q=%E9%98%BF%E7%B0%A1%E7%94%9F%E7%89%A9%E7%AD%86%E8%A8%98&oq=%E9%98%BF%E7%B0%A1&aqs=chrome..69i57j0l5.7317j0j8&sourceid=chrome&ie=UTF-8>（Oct. 31,2019）

- 4、 P Greenspan,E P Mayer,S D Fowler (1985) 。 Nile Red: A Selective Fluorescent Stain for Intracellular Lipid Droplets. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3972906/> (Nov. 12,2019)
- 5、 黃欣怡 (2019) 海洋中塑膠微粒之染色檢測及定量。檢自 http://www.fs.ntou.edu.tw/ezfiles/21/1021/attach/37/pta_27593_1654285_94773.pdf (Dec. 15,2019)
- 6、 聯合新聞網 (2018) 全球市售瓶裝水大檢驗 9 成竟含微小塑膠顆粒。檢自 <https://news.housefun.com.tw/news/article/113165190876.html> (Jan. 2,2020)
- 7、 李繼強(1900) 。 塑膠概論。臺北市:三民。(Feb. 1,2020)

【評語】 032913

1. 主要是探究以尼羅紅螢光劑染色法，辨識環境中之塑膠微粒，是有趣且重要的環保議題。
2. 在研究各種影響因素時，建議固定其他條件，只改變一個操作變因。
3. 作品製作出便宜且方便取得的過濾裝置，妥善利用自然資源。
4. 本研究目的在於測試不同的染色以及濾片條件，以光學的方法辨識塑膠和非塑膠。部分實驗變因不易看出其被採用的理由(如濾材，應可直接使用干擾小者)，辨識率不易從圖片中讀，且最終辨識度的數據統整應作說明，較易判定。圖九不易看出參賽者所敘述的結論。
5. 如能與相關的文獻結果比較分析，較能彰顯本研究之價值。

摘要

使用尼羅紅螢光染劑對已知的1至7類塑膠染色，在我們測試的條件下，以98無鉛汽油為溶劑、波長365nmUV光照射、500目不鏽鋼網當濾材，可以得到最佳辨識率。若濾材微濕就進行尼羅紅染色，會降低螢光偵測塑膠微粒的靈敏度，塑膠樣品染色後靜置的時間愈短辨識率愈高。

來自環境的塑膠微粒和非塑膠有機物，即使不染色，當受UV光照射時也會發出較微弱的螢光，但是顏色有差異，可因此分辨出過濾環境樣品中的塑膠與非塑膠，解決尼羅紅染色對自然界中有機生物欠缺分辨能力的困境。解析海砂中的塑膠殘留量發現：距離海水愈近殘留量愈高，此趨勢和海砂的顆粒大小較無關聯。海水中的塑膠微粒分布量驚人，3185顆/1000ml，大約是溪水和雨水中塑膠微粒密度的3~10倍。

研究動機

21世紀的到來，在我們的生活中，每年至少有800萬噸的塑膠垃圾進入海洋，根據環保署近年統計，全台灣每人在一週內約可食用下將近一張信用卡的塑膠量。而環保意識是21世紀的最新問題，尤其是塑膠對於生態的傷害、讓動物誤食的狀況，甚至在海洋中還有一種默默對生態造成影響的微粒，名為微型塑膠，我們在新聞上看到了這些報導後，我們產生了極大的興趣，希望能夠探討環境是否有自行過濾海洋塑膠微粒的功能。

研究目的

1. 測試以不同的溶劑、光源、濾材檢驗塑膠微粒的辨識率。
2. 測試縮短尼羅紅染料和塑膠粒的靜置時間對塑膠微粒辨識率的影響。
3. 檢測海砂、河砂、海水、溪水、雨水中塑膠微粒的含量。
4. 自製便宜有效的過濾裝置。
5. 快速鑑別環境中的塑膠和非塑膠。

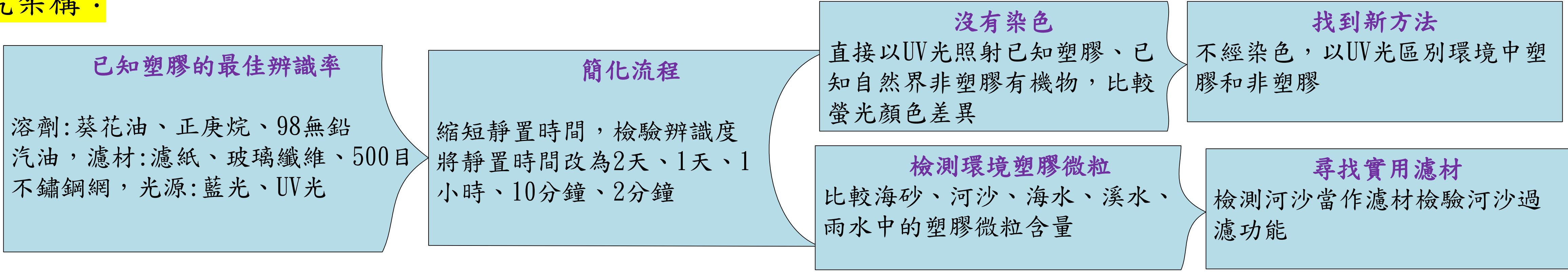


研究設備與器材

密封盒、熱風槍、尼羅紅、UV光、藍光、解剖顯微鏡、培養皿、濾紙、玻璃纖維、500目不鏽鋼網、1至7類塑膠、顯微鏡、Image J應用程式、葵花油、正庚烷、氯化鋅、海沙、河砂、海水、溪水

研究過程與方法

研究架構：



研究一、探討各種溶劑溶解尼羅紅染色的辨識率並將上述實驗濾材改成玻璃纖維和500目不鏽鋼網。

探討各種溶劑溶解尼羅紅染色的辨識率並將上述實驗濾材改成玻璃纖維和500目不鏽鋼網。

註:計算辨識率的方法是：放置自行準備好的塑膠顆粒10顆，若程式只數到8顆即為80%，而程式若是數到12顆，亦為80%，即超過20顆者辨識率為0%）

（一）實驗步驟

1. 先將七類塑膠各10顆自製塑膠顆粒置於孔隙6微米濾紙上，再將尼羅紅與溶劑混合的溶液(0.1mg/ml)以滴管滴置塑膠和濾材上，靜置2天。
2. 以USB顯微鏡在黑暗環境中分別照射藍光與uv光拍攝後，先檢測塑膠顆粒辨識率。
3. 以溶劑洗掉殘留在濾材(濾紙)上的尼羅紅後(以下簡稱**清洗背景**)，重複上述實驗。

實驗結果:以正庚烷和98無鉛汽油為例

表1以正庚烷為溶劑、表2以汽油為溶劑辨識率的比較（濾材皆為不鏽鋼網）：

未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光								42%
	30%	10%	50%	100%	10%	90%	10%	
UV光								61%
	50%	90%	90%	10%	40%	90%	60%	

未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光						乳化		60%
	10%	70%	100%	90%	90%		60%	
UV光						乳化		62%
	70%	60%	90%	70%	80%		70%	

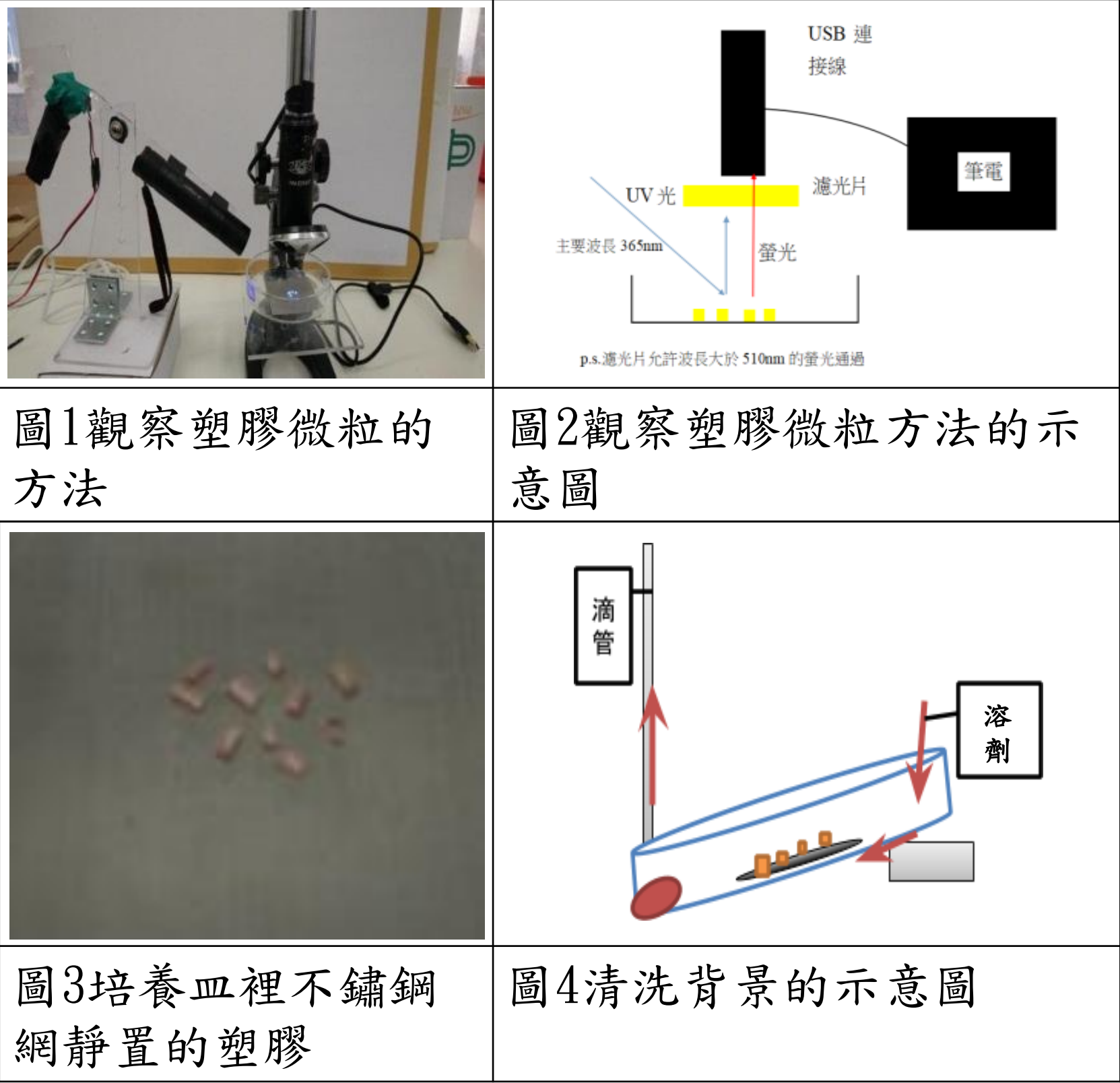
研究二-1. 模擬微濕的情況

先以水滴至濾材上，靜置2小時後以正庚烷作溶劑進行實驗：
表3. 微濕濾紙，以正庚烷為溶劑辨識率

未洗	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光								7%
	10%	40%	0%	0%	0%	0%	0%	
UV光								15%
	0%	10%	40%	50%	0%	0%	10%	

表3顯示沾濕的濾材染色辨識率很低。我們猜測是因為滴水會使尼羅紅的螢光淬滅，而使塑膠顆粒的螢光減弱，因而導致塑膠顆粒無法被image j數出，所以實驗時過濾海水等樣品時，必須先使塑膠樣品和濾材完全乾燥再進行染色。

如何觀察塑膠微粒：



以98無鉛汽油為溶劑、500目不鏽鋼網為濾材時的辨識率是三種濾材中辨識率最好的；而以濾紙為濾材的辨識率是三種濾材中辨識率最差的

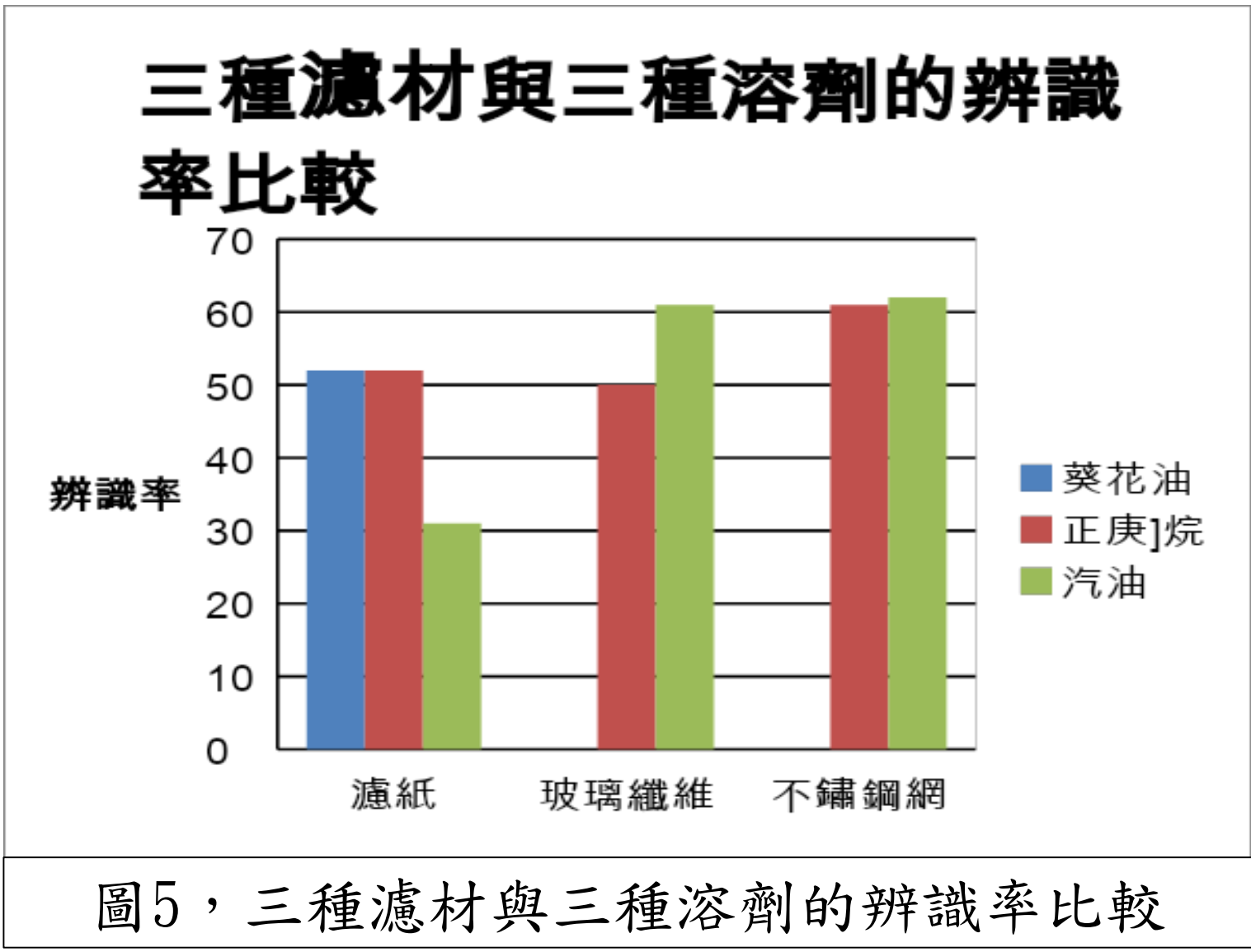


圖5，三種濾材與三種溶劑的辨識率比較

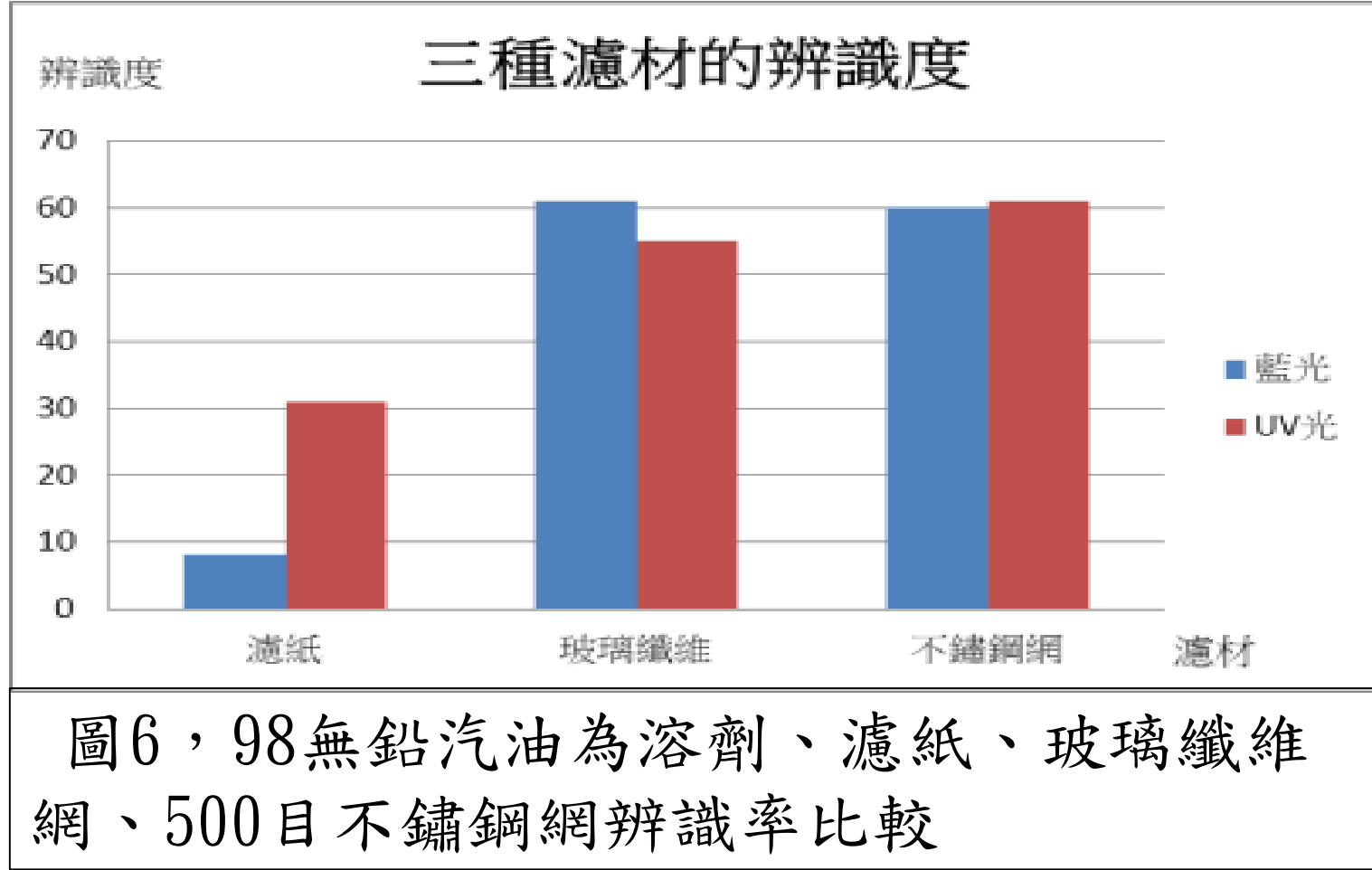


圖6，98無鉛汽油為溶劑、濾紙、玻璃纖維網、500目不鏽鋼網辨識率比較

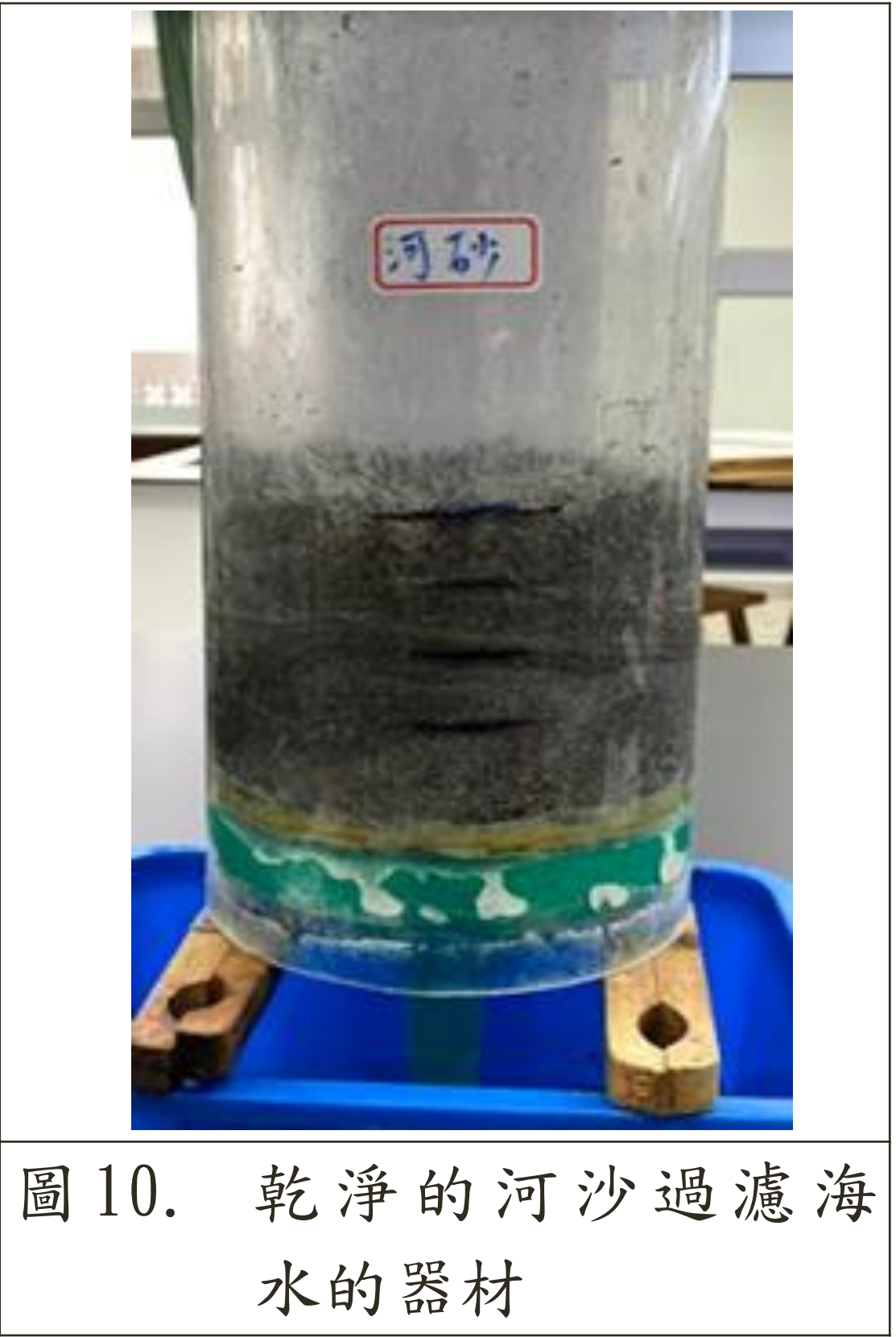
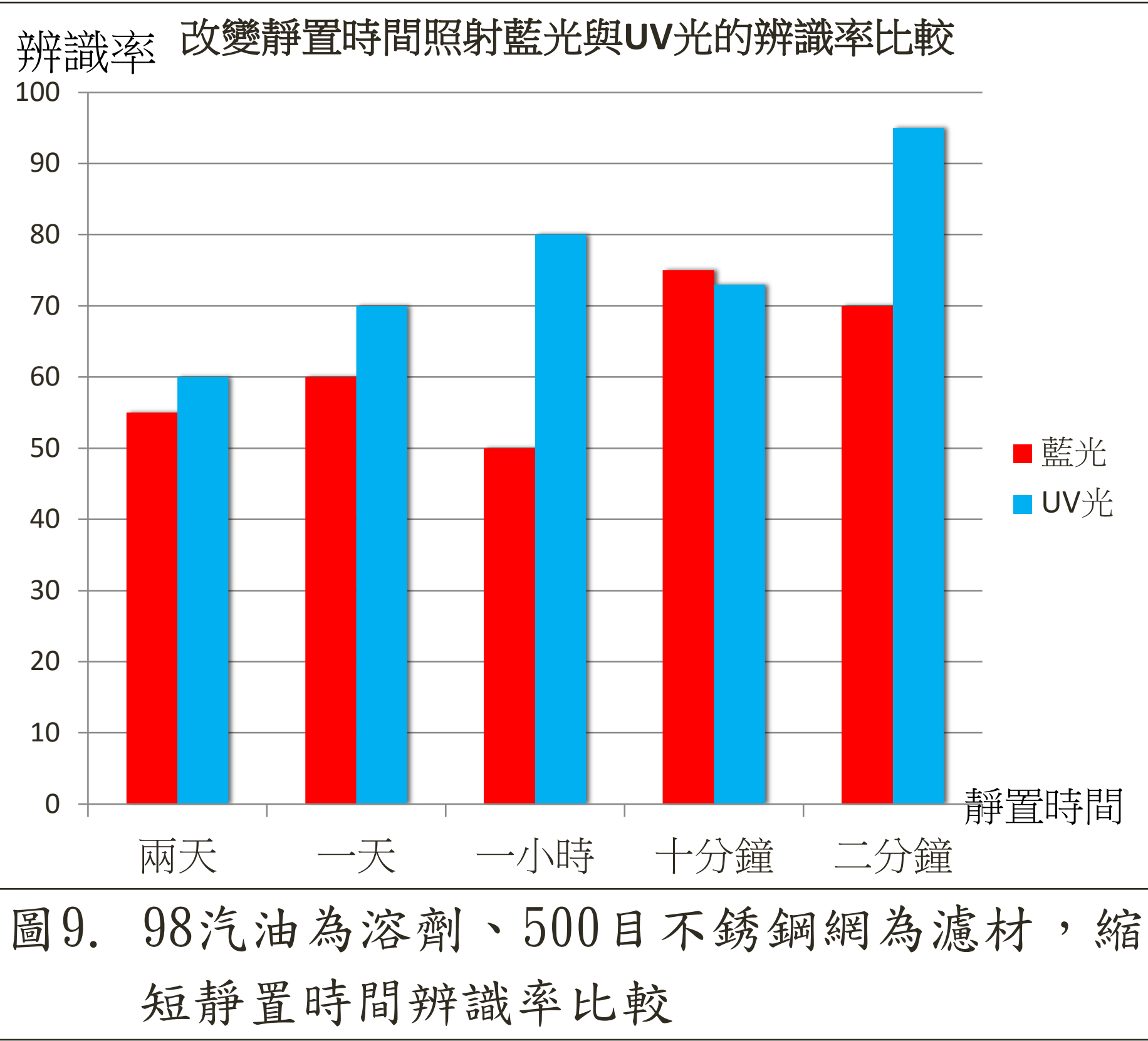
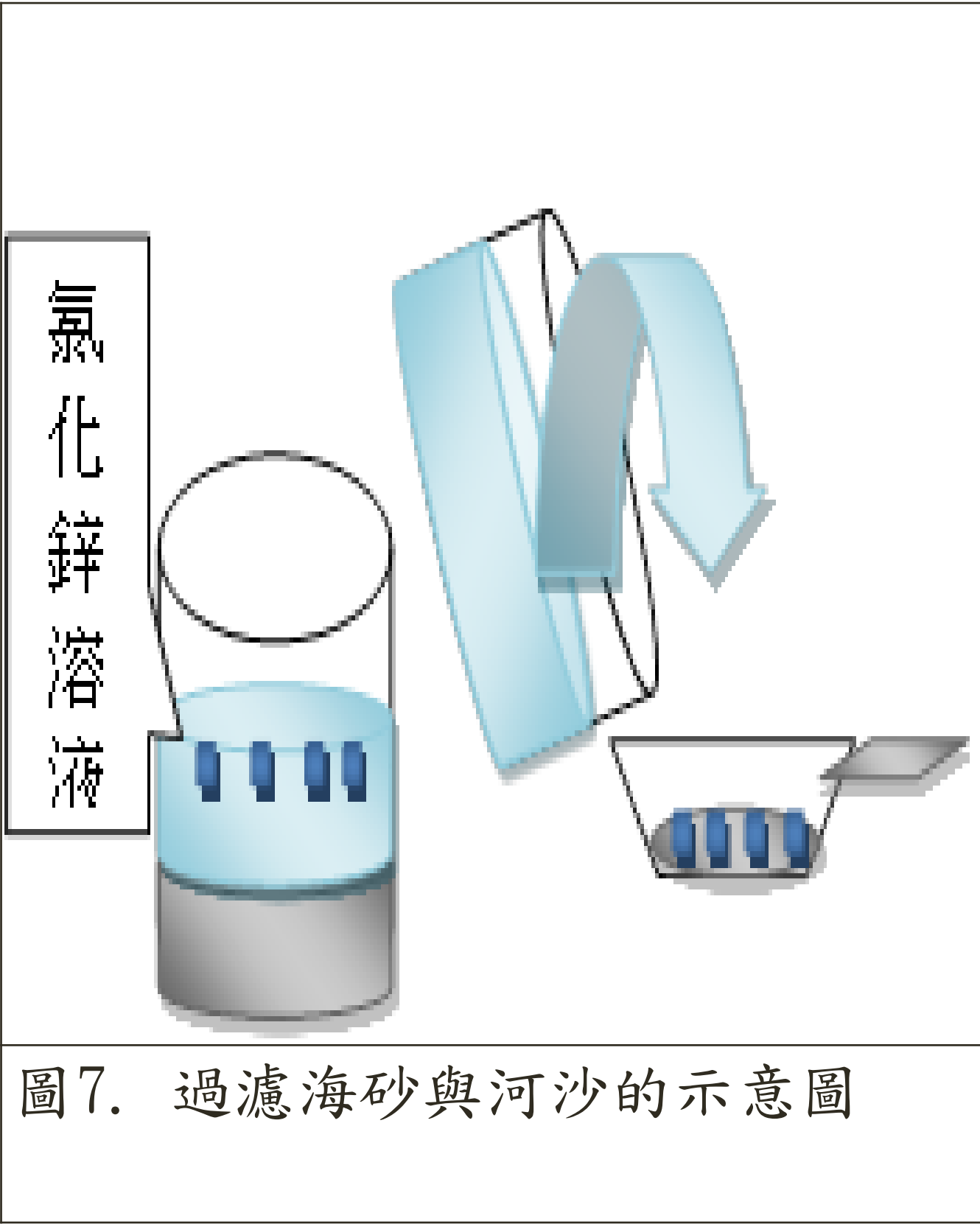
1. 由圖可知98無鉛汽油>正庚烷>油的辨識率。
2. 所有組合中，僅有98無鉛汽油搭配500目不鏽鋼網最可被Image J辨識。
3. 98無鉛汽油含有某種成分會溶解第六類塑膠，使用要注意。

研究二-2. 以不同的靜置時間檢測塑膠的辨識度：

- 1. 2天、1天、1小時、10分鐘、2分鐘可知，2分鐘洗過背景的塑膠顆粒辨識率最好。
- 2. 在過程中，洗過與未洗的2分鐘及10分鐘的第六類塑膠皆未完全溶掉，第六類塑膠的辨識度能由0％提高到60～100％。

研究三-1：過濾海砂、河沙，檢查殘留的塑膠微粒：

(距海較近的海砂粒徑：3.5～15.6mm，比較大顆；距海較遠的海砂粒徑：1.5～5.6mm，比較小顆)



實驗步驟：

- 1. 利用密度1.78g/立方公分 的氯化鋅水溶液將河沙泡入，河沙中的塑膠微粒浮起來，河沙沉下去。
- 2. 倒出含有塑膠微粒的上層氯化鋅，以(圖8)的裝置過濾，用500目不鏽鋼網（孔隙22微米）過濾出塑膠微粒。

研究三-2：過濾海水、溪水、雨水中塑膠微粒的含量：

- 1. 以(圖8)的裝置過濾兩地各取1000ml的海水和溪水、雨水。
- 2. 晾乾後滴上尼羅紅，加98無鉛汽油溶液以溶劑洗掉殘留在不鏽鋼網上的尼羅紅後檢測塑膠微粒Image J記數並比較兩地的數量多寡。

實驗結果：

- 1. 由(圖11)，可知海水中的塑膠微粒大於溪水和雨水中的塑膠微粒含量，大約是3～10倍的含量。
- 2. 海砂中的塑膠顆粒殘留量大約是海水中的3倍。可知海砂過濾海水中的塑膠微粒的功能並不顯著。暫時過濾海水中的塑膠顆粒會被後來的海浪沖走，不能無限的累積。
- 3. 由(圖12)可知，距海越遠的海砂塑膠微粒越少，而越近的海砂塑膠微粒也就越多。此塑膠粒分布的趨勢和海砂的顆粒粗細無關，反而跟距離海水遠近有關。

研究四：自製便宜有效的過濾裝置：

我們想知道粒徑0.3～1.7mm的河沙能不能當作過濾的材料，河沙是已經過氯化鋅溶液分離過塑膠微粒的乾淨沙子，每2cm為一層，分別為上層、中上層、中下層及下層，直徑17cm 。測試如下：

實驗結論：

以河沙過濾海水的辨識率：結果顯示，當海水由上方向下流過河沙，海水中的塑膠微粒會被河沙過濾出來。表示河沙有潛力可以成為過濾海水中塑膠微粒的便宜濾材。

研究五、快速鑑別環境中的塑膠和非塑膠：

- 1. 用500目不鏽鋼網過濾海水、溪水、雨水後得到過濾樣品，沒有使用尼羅紅染色，直接使用波長365nm的UV光照射過濾樣品。拍攝並以ImageJ計算樣品的亮點數量，此數量X＝(塑膠＋非塑膠)顆粒數。
- 2. 使用黃色壓克力濾光片和綠色玻璃紙疊加的濾光組合過濾光線後，拍攝並以image J計算樣品的亮點數量，此數量Y＝塑膠顆粒數。上述X－Y＝非塑膠顆粒數。

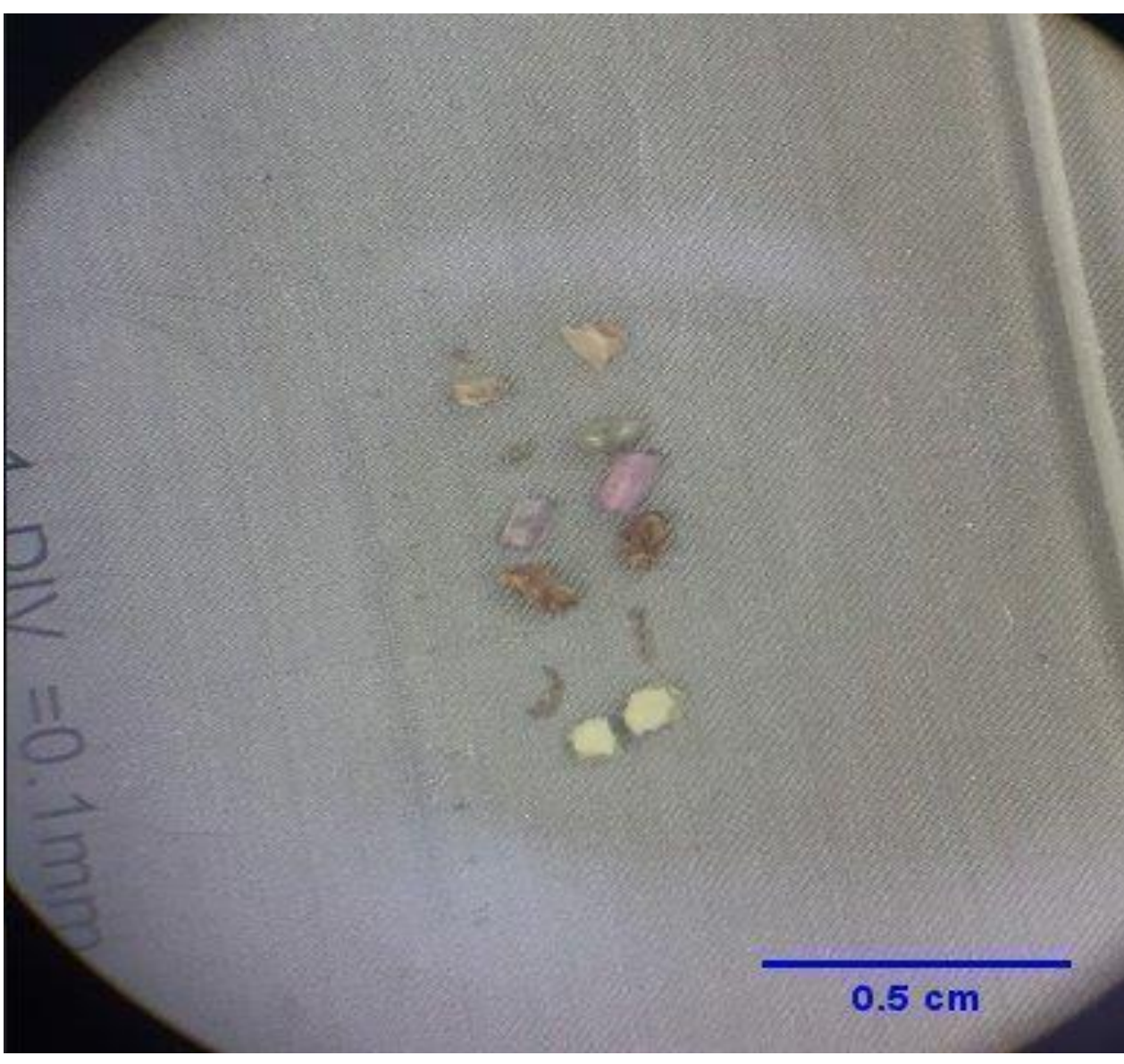
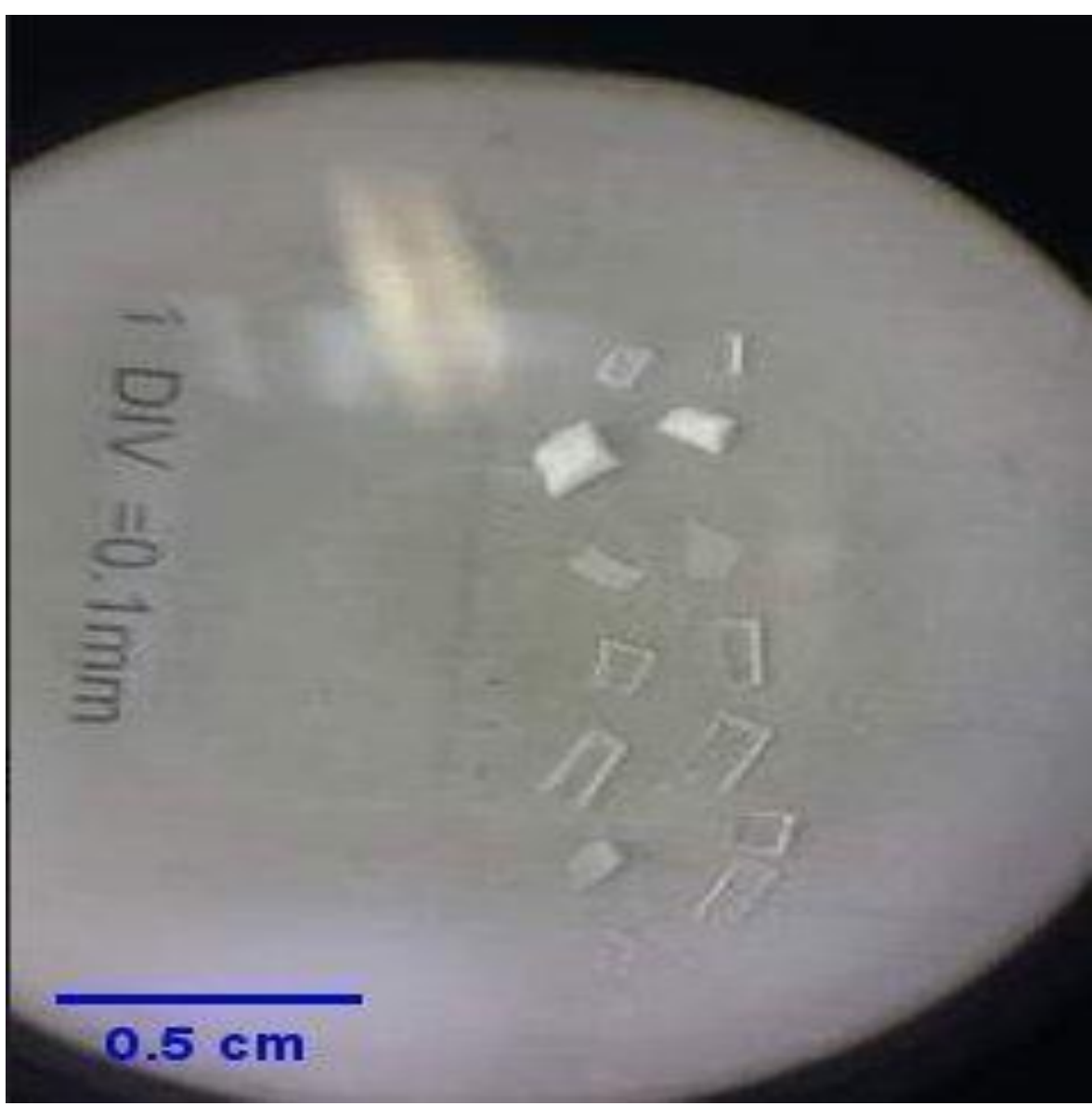


圖13. 1到7類塑膠樣品共14個

圖14. 非塑膠樣品共12個

比較表5、6：顯示1～7類塑膠再放置黃色濾光片配上綠色玻璃紙前後都能被辨識，水中非塑膠(動物、植物)的螢光能被黃色濾光片配上綠色玻璃紙遮蔽而看不見。於是我們以此方法重新檢查過濾的樣品中塑膠與非塑膠，結果如下：

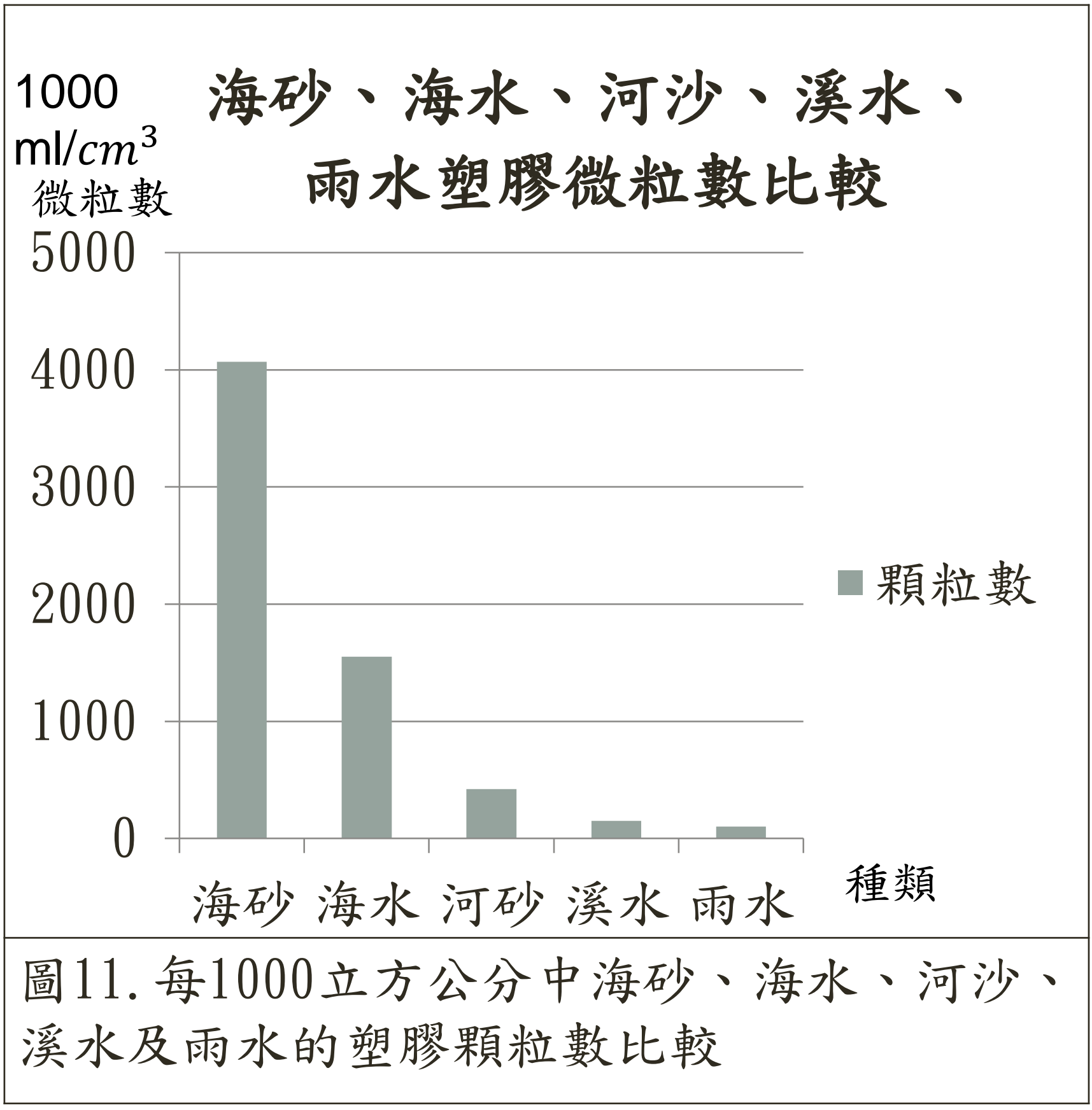


圖11. 每1000立方公分中海砂、海水、河沙、溪水及雨水的塑膠顆粒數比較

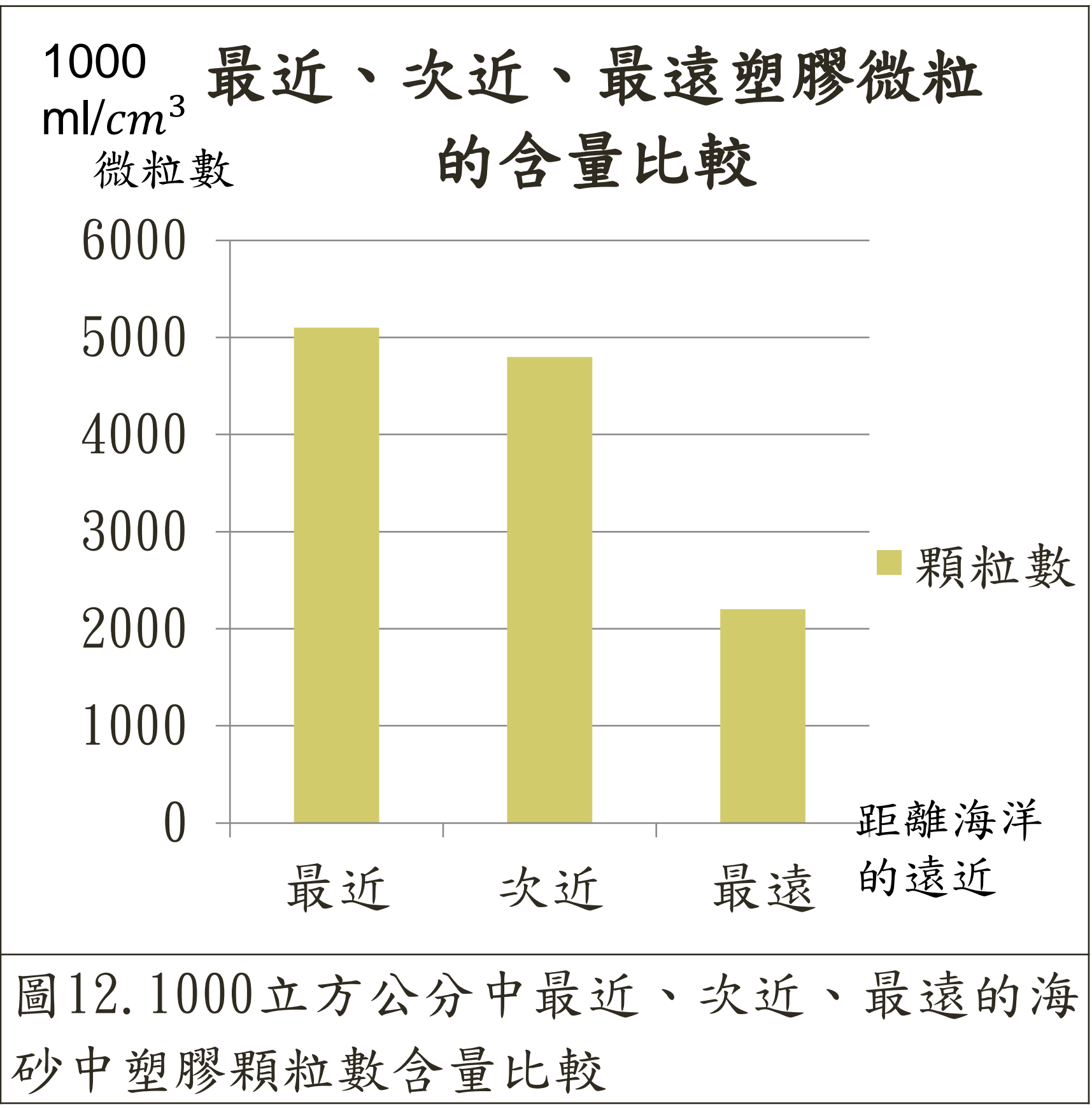


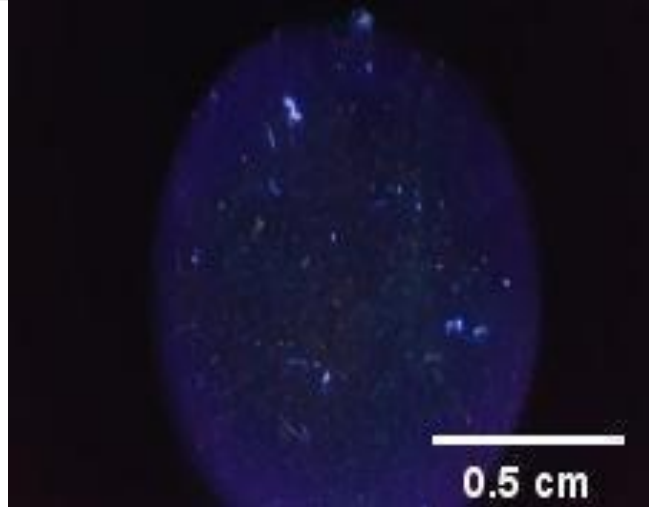





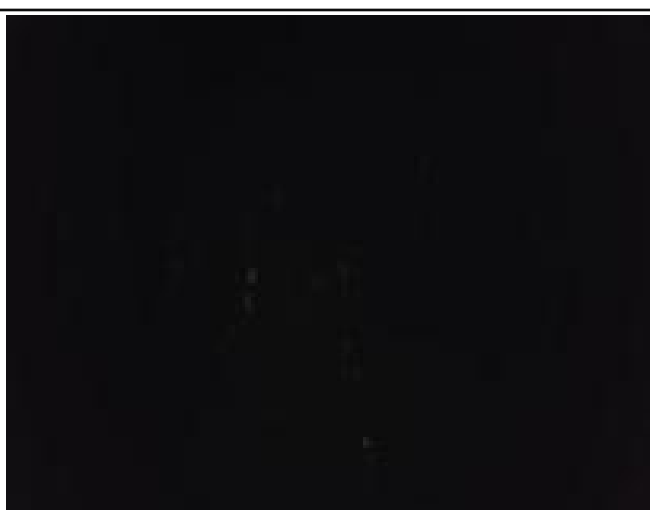
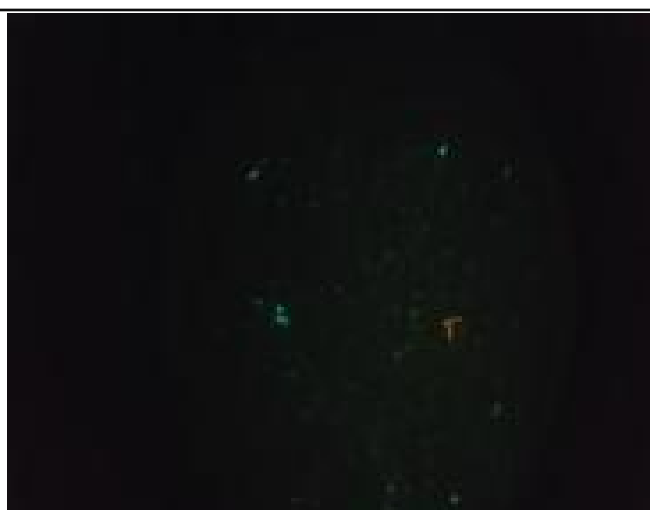
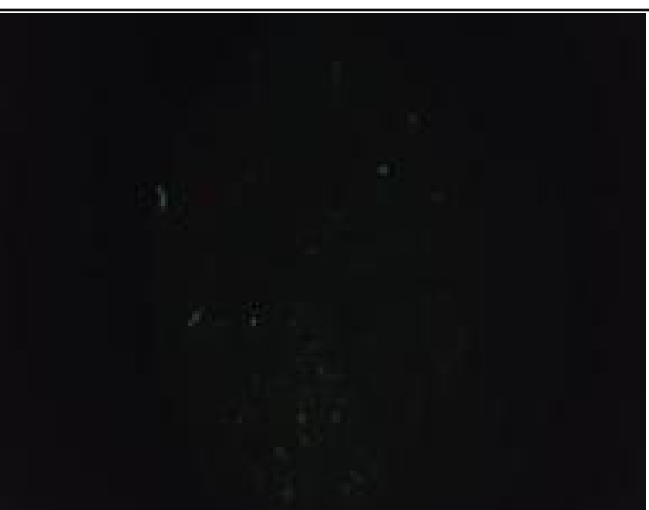

圖12. 1000立方公分中最近、次近、最遠的海砂中塑膠顆粒數含量比較

表4，以河砂過濾海水，各層殘留塑膠顆粒數量					
各層	上層	中上層	中下層	下層	平均
河砂過濾海水的照片					
顆粒數量	184顆	206顆	172顆	202顆	194顆

表5. 已知樣品1~7類塑膠有無濾光片的差異		
各兩個1~7類塑膠	無放置濾光片	放黃色濾光片配上綠色玻璃紙
測出個數	14 顆	14顆

表6. 已知的非塑膠樣品有無濾光片的差異		
各兩個6種非塑膠	無放置濾光片	放黃色濾光片配上綠色玻璃紙
測出個數	12 顆	0顆

表7，海水上層溪水上下層雨水在顯微鏡中呈現的影像

				
海水上層無放置濾光片 1865個	海水下層無放置濾光片 494個	溪水上層無放置濾光片 731個	溪水下層無放置濾光片 273個	雨水無放置濾光片 367個
				
海水上層有放置濾光片 1452個	海水下層有放置濾光片 423個	溪水上層有放置濾光片 423個	溪水下層有放置濾光片 210個	雨水有放置濾光片 367個

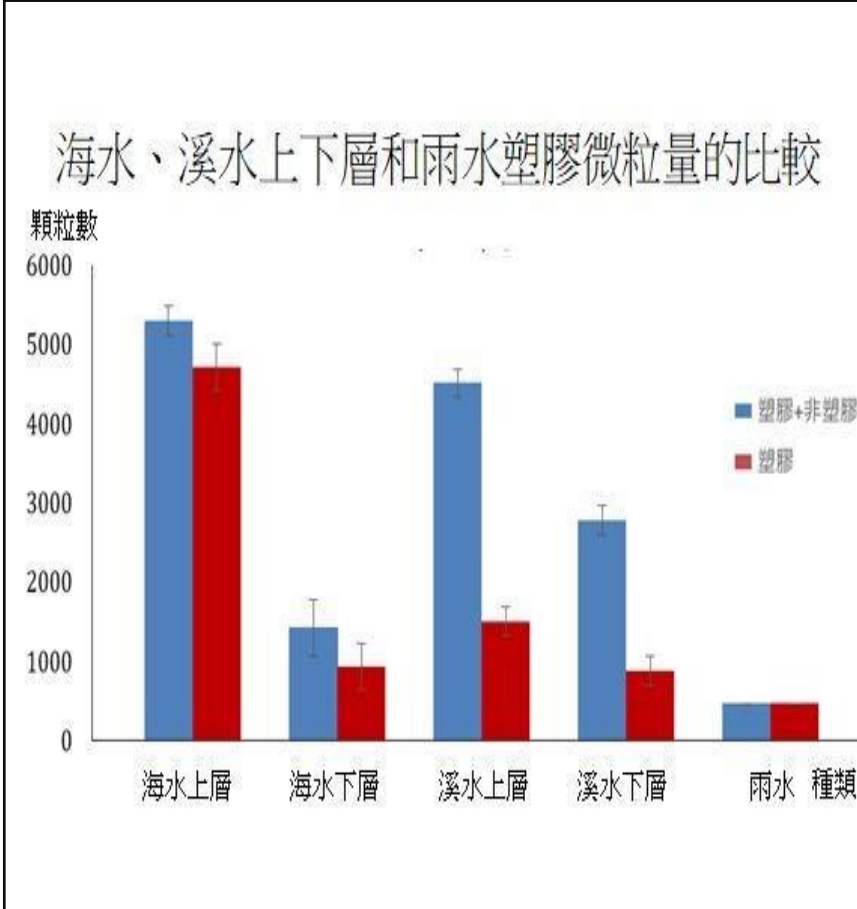


圖15，海水與溪水上下層塑膠微粒量的誤差比較

由圖15顯示：

1. 溪水中含有螢光反應的小生物最多，雨水中的生物量較少。
2. 海水的上層(表層)中塑膠微粒比下層的塑膠微粒多，大約是6倍。
3. 雨水中仍然有塑膠微粒。

討論



表8，無使用尼羅紅染色的塑膠辨識率

無染色	第一類	第二類	第三類	第四類	第五類	第六類	第七類	平均
藍光	0%	0%	0%	0%	0%	70%	0%	10%
UV光	90%	70%	60%	0%	0%	90%	100%	58%

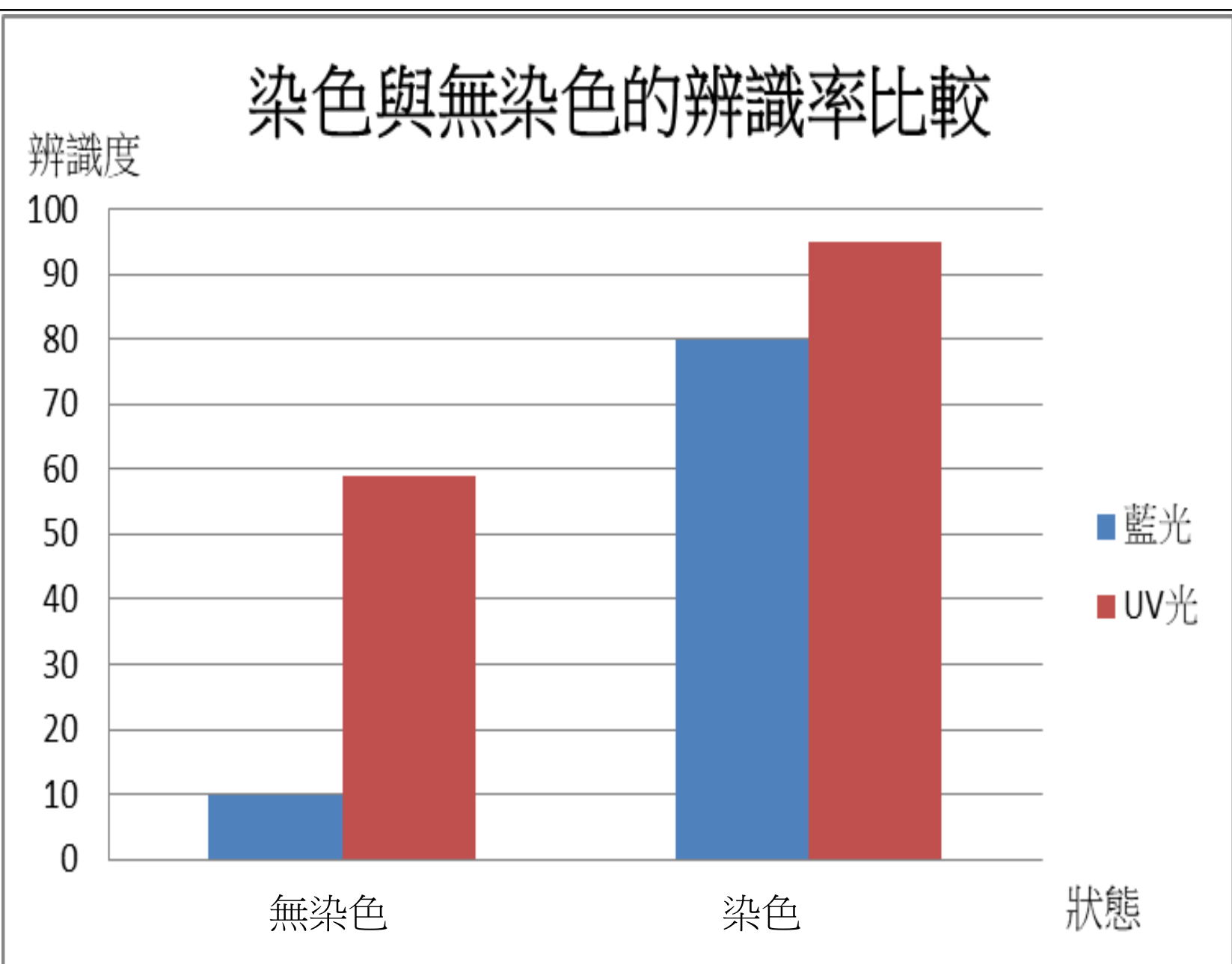


圖17，染色與無染色照射藍光與uv光的辨識率比較圖

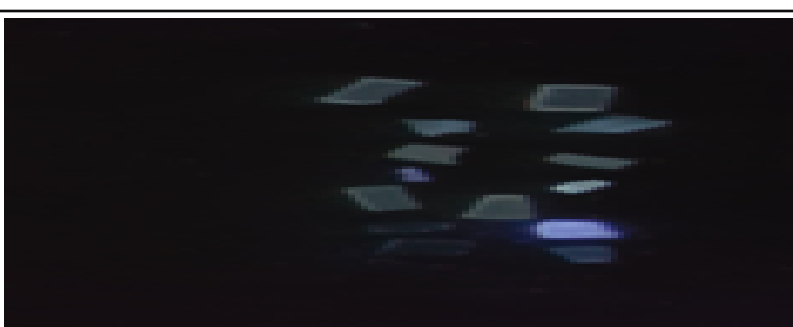


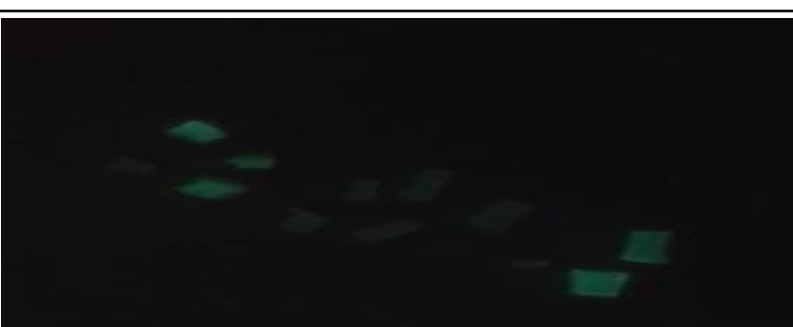
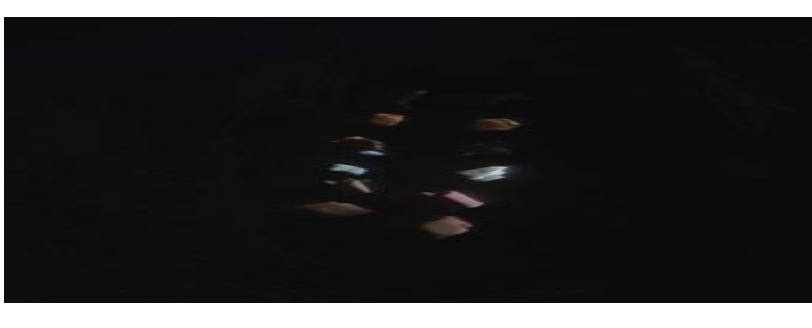

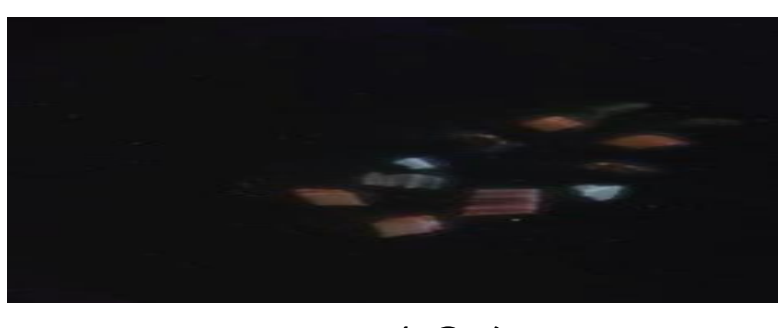

研究五、快速鑑別環境中塑膠和非塑膠：

表9，比較解剖顯微鏡和USB顯微鏡拍攝得到得塑膠顆粒數差異

塑膠微粒的含量(顆/1000ml)	解剖顯微鏡加1200萬畫素手機，以UV光照射	200萬畫素USB顯微鏡，以UV光照射
雨水	940	180
溪水上	1512	173
溪水上	648	
海水上	5472	265
海水下	1000	

資料上顯示尼羅紅雖然螢光耀眼，但是對水中生物脂質和塑膠的部分一樣都會附著

表10，比較不染色乾燥和微濕狀態下拍攝得到得塑膠顆粒數差異

	UV光、無濾光	UV光、有濾光片	UV光、無濾光（微濕）	UV光、有濾光片（微濕）
塑膠	 14個	 14個	 14個	 7個
非塑膠	 12個	 0個	 12個	 5個

上表中，左半側是乾燥樣品，是現在採用的實驗方法。右半側是過濾後樣品微濕就進行實驗，可以發現螢光竟然更為強烈，值得後續進行研究。

以上顯示，溪水中含有螢光反應的小生物最多，雨水中沒有這類生物。（在無放置濾光片的情況下照片呈現粉色，而先前照片呈現其他顏色是因為以前放置黃色濾光片）

研究結論

1. 在測試過的非極性溶劑中，以98無鉛汽油最適合做為溶劑、而濾材方面則適合選用孔目小又不易沾染尼羅紅的500目不鏽鋼網、以UV光照射塑膠微粒，這種組合最能夠清楚分辨塑膠微粒。
2. 用溶劑洗掉濾材上殘留的尼羅紅螢光染劑後能提高塑膠微粒辨識率。
3. 塑膠和尼羅紅靜置時間，以二分鐘的辨識率最好。
4. 在檢測過的環境塑膠微粒含量中，以海砂>海水>河沙>雨水>溪水。顯示環境中塑膠微粒無處不在，汙染相當嚴重。而且海沙、河沙皆沒有無限過濾其水體中塑膠微粒的能力，人類必須自己負起責任來清理塑膠微粒。
5. 以河沙自製的過濾器能過濾出海水中的塑膠微粒，可知河沙擁有過濾塑膠微粒的功能，是廉價的濾材選項之一。
6. 沒有使用尼羅紅染色時, 用波長 365nm 的 UV 光照射塑膠和環境中的有機生物時, 它們大多會在黑暗中發出微弱螢光, 但是顏色有些不同。可藉此找出分辨塑膠和環境有機生物的方法, 成功解決尼羅紅染劑對塑膠和非塑膠無法區別的缺點。
- 7、 海水頂層的塑膠微粒含量遠大於下層大約 10cm 的塑膠含量, 推測在海水表層濾食的生物吃進的塑膠量遠大於在海水下層濾食的生物。若要從海水中過濾塑膠, 應優先從表層著手。

參考文獻

1. 簡志祥（2012）使用 Image J基礎教學影片－計算紅血球數量。檢自 <https://www.google.com/search?q=%E9%98%BF%E7%B0%A1%E7%94%9F%E7%89%A9%E7%AD%86%E8%A8%98&oq=%E9%98%BF%E7%B0%A1&aqs=chrome.1.69i57j0i15.7317j0j8&sourceid=chrome&ie=UTF-8>（Oct. 31, 2019）