

抽絲剝繭話螢光—探討螢光筆之毒性， 並自製無毒螢光筆

國中組應用科學科第二名

台北縣立海山中學

作者：林瑋翔、黃珮嘉、張紘嫻、蔡憶萍
指導教師：周國芬、盧宗鋹

一、研究動機

每天，我都要使用到螢光筆。有一天：我粗心地將螢光筆塗到了手指，媽媽看見了我的手指，心疼地說：「媽媽吃東西前，都要先將唇上的口紅擦掉，以免食用化學品中毒，你使用螢光筆也要小心才是呀！」我聽了驚覺：是呀：螢光筆塗起來顏色鮮艷，聞起來有些化學味，對人體或其他生物是否會有不良影響呢？於是，我動手做了對螢光筆的探討。

二、研究目的

- (一) 挑選市售大眾品牌之螢光筆，並探討其對生物的影響及毒性。
- (二) 探討四色螢光筆的成分，以及各種成分對生物的影響及毒性。
- (三) 探討螢光筆組成成分濃度改變時對生物的影響。
- (四) 找出螢光筆中有毒成分，並自行調製毒性較小之螢光筆。

三、研究設備器材（略）

四、研究過程及結果

〔第一部分〕：探討市售各種螢光筆的毒性

實驗〔一〕之1：測試市售各種螢光筆對枯草桿菌的抑菌圈

(一) 過程：略

P.S.：當測試完畢，紙錠周圍會呈現透明環狀抑菌圈，抑菌圈愈大，表示測試物的毒性或抑菌力愈強。

(二) 結果：我們發現各種品牌的螢光筆多少都有抑菌圈，即對細菌造成不良影響。因此我們進一步探討螢光筆對生物的影響。

〔第二部分〕：爲了進一步瞭解螢光筆的毒性，我們針對戊組中A、B、C、D四色的螢光筆，做更深入的探討，包括其成分、濃度，及對生物傷害等。

P.S.：(1)本次實驗所取樣之戊組A、B、C、D四色螢光筆，雖然不能代表所有的螢光筆，但此品牌螢光筆，黃、藍色的螢光粉末是德國BASF公司製造，橘色、桃紅色也是從知名廠商進口。此牌螢光筆行銷甚廣，在國內愛買、家樂福等大賣場均可購得，因此本次實驗也算是有相當代表性。

〈枯草桿菌實驗〉

實驗〔二〕之1：探討螢光液對枯草桿菌的抑菌作用

(一) 過程：略

(二) 結果：

表一：不同濃度螢光液之抑菌圈（單位：mm）

溶液 抑菌圈 時間 濃度	A (黃色)		B (橘色)		C (綠色)		D (桃紅色)		對照 清水
	6 小時	24 小時	6 小時	24 小時	6 小時	24 小時	6 小時	24 小時	
100%	0	1	13	10	0	2.5	7	14	0
80%	0	0	12	10	0	1.5	7	13	
60%	0	0	11	9	0	1	8	12	
40%	0	0	10	9	0	0.5	8	12	
20%	0	0	9	7	0	0.5	6	11	

實驗〔二〕之2：探討螢光筆中所用的溶劑對枯草桿菌的抑菌作用

(一) 過程：略

(二) 結果：

表二：不同濃度溶劑TEA、DEG之抑菌圈（單位：mm）

抑 菌 圈 濃 度	T E A		D E G	
	6 小 時	2 4 小 時	6 小 時	2 4 小 時
1 0 0 %	7	6	6	1 . 5
3 0 %	3	0	5	0
2 5 %	4	0	3	0
2 0 %	3 . 5	0	1	0
1 0 %	2	0	1 . 5	0

實驗〔二〕之3：探討螢光液中所用的粉末對枯草桿菌之抑菌作用

(一) 過程：略

(二) 結果：

表三：不同濃度粉末之抑菌圈（單位：mm）

抑菌圈 濃度	溶劑	Pyranin(a)		Victoria Blus(c)		Rhodamin(d)	
		6 小 時	2 4 小 時	6 小 時	2 4 小 時	6 小 時	2 4 小 時
0.3 %		0	0	0	0	6	13
1.6 %		0	0	0	0	8	15
5 %		0	0	0	0.5	8	16
10 %		0	0	0	0	9	17

實驗〔二〕之4：探討NaOH對枯草桿菌的抑菌作用

(一) 過程：略

(二) 結果：NaOH在0.3時沒有抑菌圈。

〈大肚魚實驗〉

實驗〔二〕之5：探討螢光筆溶液對大肚魚的影響

(一) 過程：略

(LD50：大肚魚死亡一半的時間。LD50愈短，表示魚死亡愈快，溶液毒性越高)

(二) 結果：

表四：不同濃度螢光液之大肚魚LD50時間（單位：天）

結果 濃度 溶液	5% 5000ppm	1% 1000ppm	5000ppm	1000ppm	500ppm	100ppm
A黃色	〈10分鐘〉	〈10分鐘〉	<1	3	6	9
B橘色	〈10分鐘〉	〈10分鐘〉	<1	11	13	16
C綠色	*	*	*	7	7	7
D桃紅色	*	*	*	7	7	14
對照組清水	14					

*：我們做了A、B的實驗，5%，1%，0.5%濃度的螢光液對大肚魚有強烈的影響，所以我們降低濃度為1000ppm、500ppm、100ppm，繼續做C、D的實驗。

P.S.：ppm：百萬分之一（0.0001%）

實驗〔二〕之6：探討螢光筆溶液中溶劑對大肚魚之影響

(一) 過程：略。（本實驗溶劑之稀釋濃度，為稀釋螢光液中之溶劑濃度，可對照實驗〔二〕之5）

(二) 結果：

表五：不同濃度中，大肚魚LD50時間（單位：天）

LD50 溶劑 \ 濃度	250ppm	125ppm	25ppm
TEA	5.5	5.5	8
DEG	5	5	7
對照組(清水)	14		

〈浮萍實驗〉

實驗〔二〕之7：探討螢光筆溶液對浮萍的影響

(一) 過程：略

(二) 結果：

表六：不同濃度螢光液，浮萍第10天死亡比率(%)

死亡率 溶劑 \ 濃度	20%	10%	5%	1%	0.5%
A(黃色)	**	**	10%	10%	0
B(橘色)	10%	10%	10%	20%	10%
C(綠色)	**	**	10%	0	0
D(桃紅色)	90%	90%	90%	70%	50%
對照組(清水)	0				

**：所有浮萍聚成一片，浮在水面，用鑷子一碰即沉入螢光液中。

實驗〔二〕之8：探討螢光筆中溶劑對浮萍的影響

(一) 過程：略

(二) 結果：

表七：不同濃度溶劑對浮萍的影響

死亡率 溶劑 \ 濃度	5%	2.5%	1.25%	0.25%	0.125%
TEA	**	**	10%	10%	0
DEG	0	0	0	0	0
對照組(清水)	0				

**：所有浮萍聚成一片，浮在水面，用鑷子一碰即沉入螢光液中。

實驗〔二〕之9：探討NaOH對浮萍的影響

(一) 過程：略

(二) 結果：

NaOH在0.06%時(相當於原螢光液中的濃度)，不會對浮萍造成傷害。

〈黃金葛實驗〉

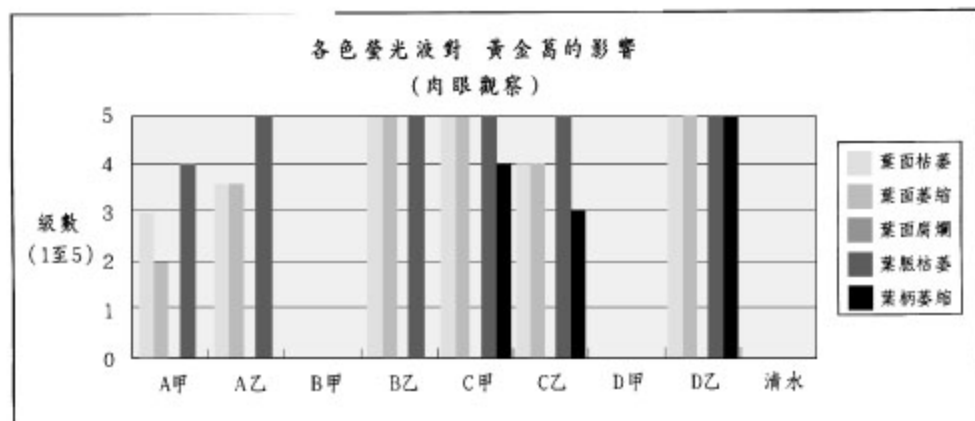
實驗〔二〕之10：探討螢光液對黃金葛的影響

(一) 過程：1.將黃金葛分為甲、乙兩組，以不同顏色螢光液塗抹葉片，甲

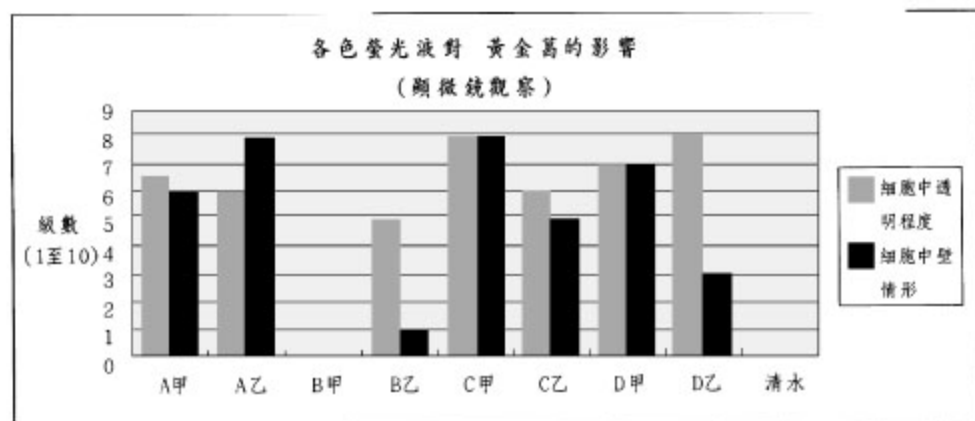
組塗葉面（上表皮），乙組塗葉背（下表皮）。

2. 第十天記錄葉片情形，並置顯微鏡下觀察。

（二）結果：



▲枯萎、腐爛級數：0（正常）→5（最嚴重）



PS：

0：正常黃金葛細胞（翠綠不透明）

10：完全透明

0：正常細胞壁

10：細胞壁被侵蝕至消失

實驗〔二〕之11：探討螢光筆溶劑（TEA、DEG）對黃金葛的影響

（一）過程：以不同溶劑塗抹甲、乙組黃金葛葉片，並記錄葉片情形。

（二）結果：

(二) 結果：表八：肉眼觀察塗抹溶劑之黃金葛

P.S.：●枯萎級數 (0：(正常) → 5 (最嚴重))

■萎縮級數 (0：(正常) → 5 (最嚴重))

▲腐爛級數 (0：(正常) → 5 (最嚴重))

結果 溶劑	項目	組別	葉表皮	葉脈	葉柄	葉面顏色
TEA		甲	●：4 ▲：3	■：5	■：1	茶色
		乙	●：4 ▲：2	■：4	■：1	茶色
DEG		甲	●：5 ▲：2	■：5	■：5	土黃色
		乙	●：5 ▲：4	■：5	■：2	墨綠， 呈褐色
對照組(清水)			全正常	全正常	全正常	翠綠色

表九：顯微鏡下觀察，塗抹溶劑之黃金葛

PS：#：表細胞中透明程度

0：正常黃金葛細胞(翠綠不透明)

10：完全透明

*：表細胞壁情形

0：正常細胞壁有致癌性，故仍以乙醇為取代之

10：細胞壁被侵蝕至消失

結果 溶劑	項目	組別	倍數	細胞中 透明程度	細胞壁	顏色
TEA		甲	100X	#：8	*：3	油黃色
		乙	100X	#：8	*：7	暗黃綠色
DEG		甲	100X	#：4	*：6	淡綠色 帶枯黃
		乙	100X	#：3	*：4	淡綠色
對照組(清水)			100X	#：0	*：0	翠綠色

實驗〔二〕之12：NaOH對黃金葛的影響

(一) 過程：略

(二) 結果：NaOH對黃金葛沒有影響。

〔第三部分〕：自行調製毒性較小的螢光液

實驗〔三〕之1：用各種不同的溶劑，取代原先具有毒性的TEA、DEG溶劑以調製螢光筆

(一) 過程：略

(二) 結果：乙醇及DMSO效果良好，但DMSO有致癌性，故仍以乙醇為取代之

溶劑。

實驗〔三〕之2：溶質固定，將乙醇、丙醇（溶劑）、水、NaOH依不同比例調合，以尋找最合適之組合

（一）過程：略

（二）結果：乙醇、丙醇之濃度各佔5%、NaOH0.5%時效果是最佳的。

實驗〔三〕之3：自行調製螢光液對生物的影響

（一）過程：略

（二）結果：

表十：自行調製螢光筆（第一代）A（黃色）對生物影響

濃度 狀態	抑菌圈 半徑(mm)		大肚魚 LD 50 (天)			浮萍(死亡率)(%)					黃金葛(肉眼)	
	6 小時	24 小時	1000 ppm	500 ppm	100 ppm	20 %	10 %	5 %	1 %	0.5 %	100%甲 (葉上表皮)	100%乙 (葉下表皮)
原螢光液 A(黃色)	0	1	3	6	9	**	**	10	10	10	枯萎萎縮 (褐色)	枯萎萎縮 (棕色)
改良第一代 A(黃色)	0	0	>14	>14	>14	**	**	0	0	0	稍微腐爛 (墨綠色)	全正常 (翠綠色)
清水	0	0	14					0			全正常 (翠綠色)	

P.S.：**浮萍聚成一片，浮在水面上。

表十一：自行調製螢光筆（第二代）A（黃色）對生物影響

濃度 狀態	抑菌圈 半徑(mm)		大肚魚 LD 50 (天)			浮萍(死亡率)(%)					黃金葛(肉眼)	
	6 小時	24 小時	1000 ppm	500 ppm	100 ppm	20 %	10 %	5 %	1 %	0.5 %	100%甲 (葉上表皮)	100%乙 (葉下表皮)
原螢光液 A(黃色)	0	1	3	6	9	**	**	10	10	10	枯萎萎縮 (褐色)	枯萎萎縮 (棕色)
改良第一代 A(黃色)螢光液	0	0	>14	>14	>14	**	**	0	0	0	正常青綠色 (葉尖色)	正常青綠色 (葉尖色)
清水	0	0	14					0			正常青綠 (青綠色)	

五、討論

（一）從〔第一部分〕實驗得知：

各種廠牌螢光筆幾乎都有抑菌圈，因此都可能具有毒性。對細菌有不良影響。

(二) 枯草桿菌測試：

6小時抑菌圈：B（橘色）>D（桃紅色）>C（綠色）=A（黃色）=對照組。

24小時抑菌圈：D（桃紅色）>B（橘色）>C（綠色）>A（黃色）>對照組。

1.D溶液含Rhodamin B 粉末，在〔二〕之3實驗證明此粉末有極大（0.3%時14mm）抑菌圈，D所含溶劑TEA抑菌圈不大，故D的抑菌力大部分來自RhodaminB粉末。

2.實驗後6至24小時，B螢光液的抑菌力下降，我們推測是B中溶劑揮發後，抑菌圈縮小。

3.A、C螢光液的成分類似，其中溶劑TEA於6小時後，稍有抑菌力；其中粉末Pyranin、Victoria Blue 皆無抑菌圈；此外，添加微量（0.3%）的NaOH亦沒有抑菌力；然而以上成分製成A、C螢光液後卻出現抑菌圈，我們推測各成分抑菌力相加的結果。

4.濃度降低，抑菌圈稍有降低。

5.我們曾實驗用pH=4，pH=9緩衝液稀釋螢光液，但結果和用水稀釋沒有明顯差別，酸鹼性對螢光液之抑菌力沒有影響。

(三) 大肚魚實驗：

濃度1000ppm之LD50：A（黃色）<D（桃紅色）<C（綠色）<B（橘色）<對照組。

1.A、C螢光液皆含有溶劑TEA，由〔二〕之6實驗證明TEA對大肚魚造成不小的傷害，因此我們推測A、C螢光液是TEA導致大肚魚死亡。

2.D螢光液含有溶劑DEG，實驗〔二〕之6中，DEG的傷害更甚於TEA，因D螢光液的DEG應是導致大肚魚死亡的禍首。B螢光液對大肚魚幾乎沒有影響。

(四) 浮萍實驗：

浮萍死亡率：D（桃紅色）>A（黃色）、B（橘色）、C（綠色）、對照組。

1.D螢光液對浮萍有極大的傷害，濃度5%時可使90%浮萍死亡。但D螢光液中之溶劑DEG卻對浮萍幾乎沒有傷害，因此可推知D對浮萍的傷害應來自於粉末Rhodamin B。

2.A、C螢光液中之溶劑TEA為一點稠液體，會使浮萍聚成一片浮在水面上，無法看出對浮萍的傷害。但A、C及TEA在低濃度時，浮萍就不會聚成一片，對浮萍也沒有明顯傷害。

3. B螢光液對浮萍也沒有明顯傷害。

(五) 黃金葛實驗：

黃金葛傷害： $C_{甲} > C_{乙} = D_{乙} > B_{乙} > A_{乙} > A_{甲} > D_{甲} > B_{甲} > =$ 對照組。

1. 乙組（塗下表皮）的傷害，大部份都比甲組（塗上表皮）嚴重。這是因為黃金葛下表皮有較多氣孔，螢光液及溶劑較易進入葉內傷害葉片。

2. A、C、D螢光液對黃金葛都有極大的傷害，由〔二〕之11實驗可推知A、C的傷害來源應是溶劑TEA，D的傷害來源應是溶劑DEG。

3. B螢光液對乙組黃金葛有些微傷害，對甲組則沒有影響。

4. 本實驗雖然只塗抹黃金葛之葉片，但黃金葛之葉柄、莖都受到影響（可能經由輸導組織影響），螢光液之毒性可見一斑。

(六) 自製螢光筆：

1. 經實驗了解A（黃色）螢光筆毒性來自TEA之後，我們將溶劑替換，嘗試製作毒性較低之黃色螢光筆。經由推測，（黃色粉末）Ryranin粉末為非極性分子，而水為極性分子（故粉末無法用水溶解），溶劑的極性必須居中，既可以和水（極性）相溶，又可以和粉末（非極性）相溶。另外溶劑如具有較高之沸點，可使螢光筆較不易褪色，（如原廠所用TEA溶劑的沸點為335C）最重要的是對生物的毒性低。

2. A（黃色）螢光液添加之NaOH，有展色並延緩褪色之功能。但NaOH為強鹼，添加量須注意。

3. 第一代螢光筆使用10%的乙醇、0.5%的NaOH，以及水、粉末調製而成。乙醇濃度太高褪色較快，濃度太低溶解不良。NaOH若濃度太高不但螢光太亮且出現抑菌圈，並不適合。

第一代螢光筆對生物的影響極低：6及24小時抑菌圈皆為0；大肚魚LD50天數，1000ppm、500ppm、100ppm皆高於原本的螢光液；浮萍在其中死亡率幾乎為0；用其塗抹黃金葛上、下表皮後，葉片、葉柄正常，沒有明顯萎縮、腐爛現象。唯一可惜的是色澤仍然無法像原廠之螢光筆一般亮麗持久。有待改進。

4. 第二代螢光筆使用5%的乙醇、5%丙醇、0.5%的NaOH及水和粉末調製而成。添加丙醇的用途，可將螢光液總體之沸點提高，改善褪色情形。經觀察之後發現效果十分顯著，較第一代的自製螢光筆顏色耐久。

丙醇添加的濃度，以乙醇：丙醇=1：1最良好。丙醇添加過多會溶解不良（丙醇沸點高，極性也較大，溶解粉末之情形不如乙醇良好）；添加過少會和第一代螢光筆一樣褪色。

六、結論

(一) 大部分的螢光筆都有抑菌圈，即能抑制枯草桿菌生長。

(二) 本次實驗四色螢光筆 (A、B、C、D 四色)，不同的螢光筆對不同的生物有不同的影響。而螢光筆中毒性的來源 (即有毒成份) 也不同。螢光液之毒性和其發出螢光並無關係，主要毒性來源可能來自所含的溶劑、粉末等。

(三) 四種螢光液中，大致可判定：以 D (桃紅色) 毒性最強，A (黃色)、C (綠色) 次之，對生物也有不小傷害 (因 A、C 兩者成分類似，毒性亦類似，見附錄三)。B (橘色) 毒性最強。

(四) 枯草桿菌是一種極頑強的細菌。連乙醇都無法有效抑制其生長，但是 D (桃紅色)、B (橘色) 螢光液卻能有效抑制枯草桿菌 24 小時以上，雖然抑菌力隨螢光液濃度降低，但其傷害仍值得重視——既然對細菌生長有抑制力，那對人體細胞亦可能構成威脅。

(五) 在大肚魚的實驗中，A (黃色螢光液) 在稀釋一千倍以後，半數大肚魚仍於 3 天內死亡，稀釋一萬倍以後，對大肚魚仍具有殺傷力，如果有工廠排放數桶螢光液至河流或湖泊，不到一星期水面就佈滿魚屍！對環境傷害甚大，而大肚魚有隨螢光液變色情形，應是粉末沉積在魚體內所致。

(六) 浮萍的實驗中，以 D (桃紅色) 傷害最大，在濃度 20% 時可使 90% 浮萍死亡，其他各種顏色，雖然所造成的死亡不多，但葉片卻有隨螢光液變色情形，很可能造成慢性中毒或生物累積。

(七) 黃金葛的實驗中，證明螢光液即使不進入生物體內，僅經由表面接觸，也會造成傷害——而且比想像更嚴重；我們瞭解 TEA、DEG 此類有機溶劑對黃金葛傷害頗大，經顯微鏡觀察，葉片上葉綠體有消失的情形。且讓我們深思：倘若螢光液中含有 2 至 3 成此溶劑，不慎塗到手，豈能絲毫無損皮膚？

★A (黃色) 螢光液新配方

成分 \ 配方	原廠之配方	實驗後改良之配方 (第一代)	實驗後改良之配方 (第二代)
水	水 78.1%	水 87.9%	水 87.9%
溶劑	TEA 20%	乙醇 10%	乙醇 5% 丙醇 5%
粉末	Pyranin 1.6%	Pyranin 1.6%	Pyranin 1.6%
其他	NaOH 0.3%	NaOH 0.5%	NaOH 0.5%
成本 (1 公升)	144 元	82 元	86 元

(八) 最後我們自行調製成的螢光液，可成功的將毒性較高的溶劑(TEA)汰換成毒性低的乙醇、丙醇，並將NaOH的量提高，防止褪色；無論毒性、成本都降低許多；經枯草桿菌測試，其抑菌圈也較原螢光液小，對大肚魚、浮萍、黃金葛的影響皆不大，可以說是極理想的螢光筆。

我們相信只要多一份心，多用一分智慧，螢光筆也可以成為所有學子們最安全的“貼身”伙伴。

七、未來展望

- 1.自分子結構再深入探討螢光粉末及溶劑致命的原因。
- 2.為本實驗最毒的粉末Rhodamin B尋找替代品。
- 3.更進一步探討螢光筆對人體間接、直接的危害。

八、參考資料

- 1.有機顏色 吳振成（大行）
- 2.工業合成染料化解 小西謙參、黑木道彥（復漢）
- 3.合成染料（化學與應用）彭正中 周玲玉（中華書局）
- 4.MERK INDEX
- 5.HAZARD DATA SHEETS

評語

本作品針對不易引起一般民眾注意但經常使用的螢光筆，探討其毒性，就題材的選擇而言，頗為獨特。而探討螢光筆毒性的步驟，循序漸進，研究方法十分完全。替代品的設計頗具創意並具深度，為一不可多得之作品。

