

2025年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

☐國中組 ☒普高組 ☐技高組 成果報告格式

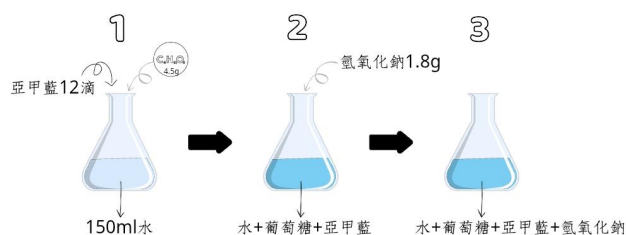
題目名稱：以色彩分析進行藍瓶實驗中亞甲藍檢量探究
一、摘要
藍瓶實驗透過亞甲藍的氧化還原產生明顯顏色變化，本研究透過實驗一：定鹼改亞甲藍濃度，得出的實驗數據以分光光度計測量665nm吸光值製作檢量線作為檢量法1並以實驗二：定鹼定亞甲藍改葡萄糖濃度，得出的實驗數據用手機拍照擷取實驗影像用PS得其中紅綠藍三顏色數值(簡稱RGB)進行相關性比對，結果發現B值對亞甲藍含量相關性最高，R平方值達0.9271，相對於R值及G值最為相關(此為檢量法2)。接著改變藍瓶實驗中其他成分的比例以及添加順序，並以兩種檢量法進行亞甲藍含量比較，實驗結果當葡萄糖比例較低時亞甲藍含量最高所以顏色會最深RGB值相對較小、添加順序為氫氧化鈉早於亞甲藍時，亞甲藍的變化會較快且顏色較偏灰紫。
二、探究題目與動機
進行藍瓶實驗時，我們注意到試劑比例與添加順序都會影響亞甲藍溶液顏色深淺，利用手機拍攝及肉眼觀測便能看出差異，經查詢文獻得知一般實驗室會使用分光光度計蒐集吸光值能進行濃度定量，因此我們想以實驗照片進行影像分析取得RGB值，並與分光光度計之檢量結果進行比較，尋找出以手機輔助藍瓶實驗中亞甲藍含量檢測的簡易方式。
三、探究目的與假設
根據藍瓶實驗的觀察結果，我們預計配置含不同濃度亞甲藍之藍瓶，並先以分光光度計讀取數值製作檢量線，再以手機拍照後分析溶液RGB值，找出能輔助藍瓶實驗中亞甲藍含量檢測的簡易方式，最後應用上述兩種檢量方式判讀其他變因下亞甲藍含量。我們假設： 1. 假設藍瓶實驗中不同條件下顯現之藍色均為亞甲藍造成，該顏色深淺與濃度呈現線性關係。 2. 由實驗畫面擷取出隨著濃度或時間變化之截圖中，當中RGB中有一數值結果與亞甲藍濃度具一定程度相關性。
四、探究方法與驗證步驟
(一)探究方法 生活中顏色常見卻難精準形容，於是有了用代碼定義顏色的色彩系統。像手機屏幕的紅、綠、藍發光二極體(RGB)。藍瓶實驗通過氧化還原反應變色，能否用RGB值描述？研究探究材料比例、添加順序等對顏色變化的影響，用分光光度計和實驗照片獲取RGB值，分析與亞甲藍波長關係，驗證方法有效性。依結果顯示，葡萄糖

越多還原越快、顏色越淺，攪拌比搖晃更能加速氧化、讓還原劑分布均勻。顏色淺則RGB值大、分光光度計ABS小，兩種檢測亞甲藍濃度方式的趨勢變化有關聯，所以RGB值檢測可行。

(二)材料處理

*試劑準備：

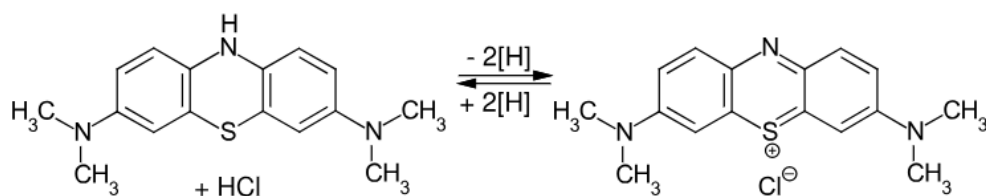
1. 原比例：量150ml水倒入錐形瓶中→用電子秤取4.5g葡萄糖→加入12滴亞甲藍→並搖晃均勻後加入98.5%氫氧化鈉1.8g(圖一)



圖一、藍瓶實驗流程圖

(三)實驗原理：

1. 還原過程：葡萄糖作為還原劑，還原水中亞甲藍液(使亞甲藍呈無色)，且氫氧化鈉提供鹼性環境來促進反應。
2. 氧化過程：當振盪時與空氣接觸，空氣中的氧氣溶解於溶液中，且氧氣是常見的強氧化劑，具有奪取電子的能力，使無色的還原態亞甲藍分子中的氫原子被氧氣奪取，最後使亞甲藍回到藍色，亞甲藍顏色變化主要來自氧化還原(圖二)的過程。
3. 反應物質：(圖二)左側為含有-NH-結構的無色還原態亞甲藍(還原態亞甲藍失去2個氫原子，轉換為氧化態亞甲藍)，右側則為含有=N-結構且與Cl⁻成離子對形式的藍色氧化態亞甲藍(氧化態亞甲藍得到2個氫原子，變回還化態亞甲藍)



圖二、亞甲藍還原反應

(四) 實驗一.檢量線:固定鹼性→調整亞甲藍用量(控制 操縱 應變)

1. 控制變因：150ml水(溶劑)、1.8g氫氧化鈉(鹼性環境)、5個錐形瓶大小

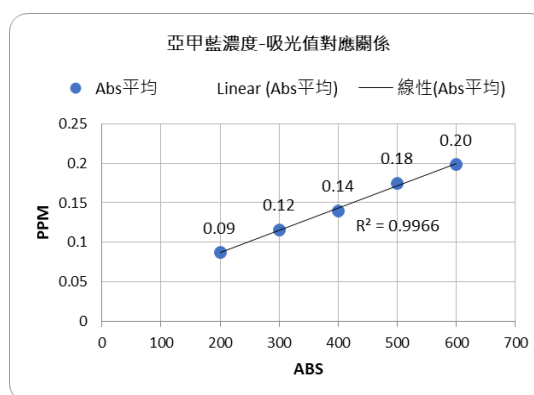
2. 操縱變因:五個不同濃度梯度的亞甲基藍溶液←分別標記為樣本 (1)~(5)

(1) 200ppm	(2) 300ppm	(3) 400ppm	(4) 500ppm	(5) 600ppm
------------	------------	------------	------------	------------

3. 步驟:(1)將5個乾淨的錐形瓶中分別加入1.8g氫氧化鈉,確保每個容量瓶內溶液的鹼性環境一致且固定。(2)將制備好的不同濃度亞甲藍溶液(1)~(5),對應加入到等量氫氧化鈉的錐形瓶中,混合均勻。(3)用純水注入比色皿作為空白對照,放入分光光度計中進行校準,消除儀器誤差和背景干擾。(4)依次將5個調製好的樣本溶液裝入比色皿,放入已校準的分光光度計,在統一設置波長為665nm下測量吸光值,每個樣本進行三次重複測量(如表一&圖三)。

亞甲藍ppm	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs平均
200	0.086	0.088	0.087	0.087
300	0.115	0.118	0.116	0.116
400	0.149	0.148	0.123	0.14
500	0.175	0.187	0.162	0.175
600	0.195	0.206	0.194	0.198

表一、亞甲藍濃度-吸光值對應關係圖表



圖三、亞甲藍濃度-吸光值對應關係圖

(五) 實驗二.檢量線:固定鹼性環境、固定亞甲藍→調整葡萄糖含量

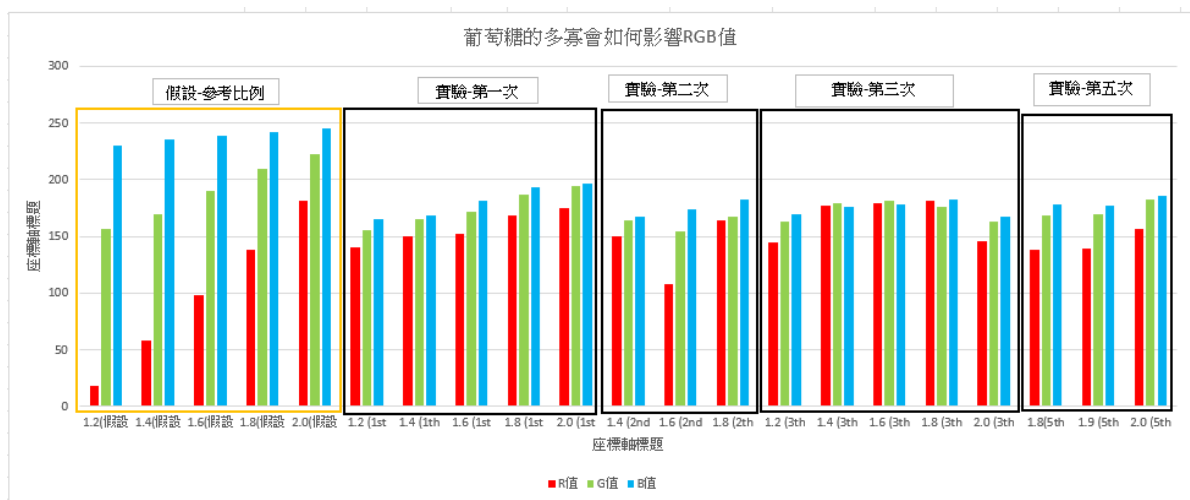
4. 控制變因:50ml水(溶劑)、亞甲藍溶液1000ppm、0.6g氫氧化鈉(鹼性環境)、5個錐形瓶大小、靜置時間(2min)、拍攝手機型號
5. 操縱變因:5個葡萄糖濃度←分別標記為樣本 (1)~(5)

(1) 1.2g	(2) 1.4g	(3) 1.6g	(4) 1.8g	(5) 2.0g
----------	----------	----------	----------	----------

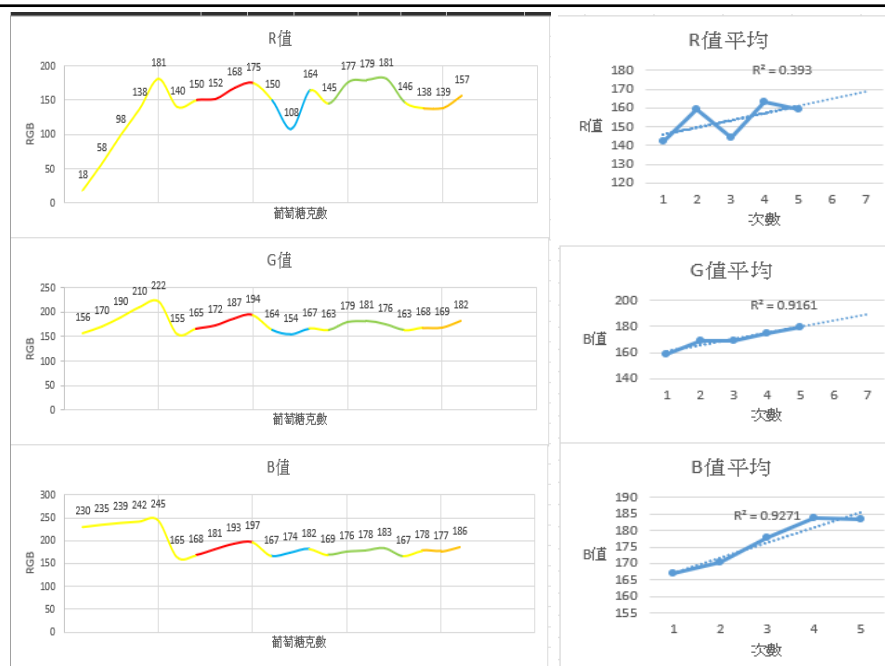
6. 步驟:(1)因為從錐形瓶的口從上往下拍,所以要先找光線平均的地方及平整的桌面放白紙並做記號。(2)分別在5個錐形瓶中依序加入50ml的水→對應標記的葡萄糖濃度

1~5→亞甲藍溶液→0.6g氫氧化鈉。(3)加完後迅速搖勻並在放平裝置在做完記號的白紙上開始計時靜置兩分鐘。(4)因為無法保證每次能及時拍到結果所以測量每個樣品都會間隔1分鐘，然後依先開始計時的裝置截取圖象。(5)選擇要測量的區域(錐形瓶底部圓形)→套用平均濾鏡(ps會計算所選區域的平均色彩)→吸管工具點選得到平均色板→再點開顏色資訊面板即可得到RGB值。(6)為確保數據準確性，各個樣品會依需要測量多少，並記錄數據(如圖四)。

7. 假設:RGB值因該要呈線性關係, B值影響較大。結果:雖然也是呈線性關係但數據起伏比較不明顯, 甚至有誤差, 猜測可能因為搖晃因素或攪拌有無導致亞甲藍水溶液的氧化還原反應速率不一樣, 所以顏色也會有所差異。
8. 為了讓實驗數據更加準確而增加實驗次數, 從第一次有五個樣品, 到後面應需求縮減到某幾個特定濃度樣品並修正實驗過程中可能會造成反應效率不一的變因, 最後再統一紀錄數據並做出圖表以利觀察(如圖五), 在分別把每次的R/G/B值的平均算出來求出 R^2 (如表二、圖六), 且B值的 R^2 跟實驗一的吸光值有對應關係(0.9271:0.9966), 由此可證RGB值可檢驗出顏色的微量變化, 尤其B值相較之下影響較大。



圖四、葡萄糖的多寡會如何影響RGB值



圖五、RGB值變化趨勢/圖六、R/G/B值平均值及 R^2

	1	2	3	5	R值平均
1.2 (1st)	140		145		142.5
1.4 (1th)	150	150	177		159
1.6 (1st)	152	108	179	138	144.25
1.8 (1st)	168	164	181	139	163
2.0 (1st)	175		146	157	159.333
	1	2	3	5	G值平均
1.2 (1st)	155		163		159
1.4 (1th)	165	164	179		169.333
1.6 (1st)	172	154	181	168	168.75
1.8 (1st)	187	167	176	169	174.75
2.0 (1st)	194		163	182	179.667
	1	2	3	5	B值平均
1.2 (1st)	165		169		167
1.4 (1th)	168	167	176		170.333
1.6 (1st)	181	174	178	178	177.75
1.8 (1st)	193	182	183	177	183.75
2.0 (1st)	197		167	186	183.333

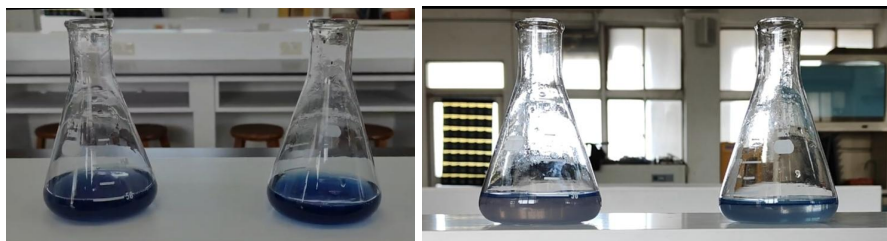
表二、R/G/B值數據(平均)

(六) 實驗三.相同配方下改變氫氧化鈉和亞甲藍的添加順序

1. 正常順序:150ml水→4.5g葡萄糖→12滴亞甲藍→1.8g氫氧化鈉
2. 改後順序:150ml水→4.5g葡萄糖→1.8g氫氧化鈉→12滴亞甲藍

正常順序下, 先加入亞甲藍, 體系未呈鹼性時, 葡萄糖還原亞甲藍反應較慢, 而當加入氫氧化鈉後, 氫氧化鈉在溶液中放出氫氧根離子, 使體系轉變為鹼性環境, 從而使反應加速進行。而改變順序後, 加入亞甲藍時, 體系已是鹼性, 由於氫氧化鈉提前加入, 早已營造出鹼性環境, 所以當亞甲藍加入後, 能迅速與葡萄糖發生氧化還原反應, 亞甲藍快速得到氫原子, 從藍色的氧化態轉變為無色的還原態, 顏色從藍到無的變化明顯加快更為迅速。至於後續的振為正常順序和改後順序的顏色差異兩者本質

是相同的。圖七、圖八分別為振盪後及靜止時，左為改變順序後右為正常順序，由這兩張圖可直觀的發現兩者顏色的差異。



圖七/圖八

(七) 綜合討論

1. 分光光度計的檢量結果， R 平方值可以到達0.9966，符合一般檢測所需標準，但所需儀器成本較高，且須有專業操作；相較之下雖然本研究自製檢量方式透過照片所分析出的RGB值中，B值相關性最高 R 平方僅0.9271，但操作簡單成本低廉，只須手機搭配圖片顏色讀取，即可快速簡單做初步判定亞甲藍含量。
2. 亞甲藍會作為水族使用，也是紡織廢水常見成分，但水中含量過多時可能有優養化問題，因此排放需受管制，我們推測可以使用藍瓶配方搭配B值以及研究所得的B值檢量數據做濃度初步分析，或許有機會做出更簡便水質檢測工具。
3. 最早進行藍瓶實驗遊戲時，我們就發現即使使用相同配方，僅修改添加順序就改變產物進而造成顏色改變，實驗三的結果也驗證了當中確實存在差異，如果要進行水質檢測實務開發，應該將試劑添加順序納入考量，將短期內顏色變化最明顯的步驟作為檢測的水樣。
4. 根據實驗結果分光光度計在亞甲藍濃度檢測上較為準確，我們認為除了以初始添加值推算外，針對特定時間的亞甲藍含量，也可以延伸研究，將測量結果作為標準值帶入檢量線計算濃度作為標準值，再以照片取得B值帶入檢量作為測量值，作為比較濃度檢測結果誤差探討。

五、結論與生活應用

根據本實驗結果，藍瓶實驗中亞甲藍的含量，會因氫氧化鈉含量不同及添加的先後順序，發生不同反應導致含量發生變化，進而導致吸光值或是RGB數值改變，兩種方式都可以做檢量使用，其中吸光值的 R 平方為0.9966，亞甲藍中的B值相關性較R及G值高， R 平方達0.9271，顯示雖然吸光值相關性較高，但B值也有機會作為亞甲藍含量的判斷依據。由於亞甲藍也是紡織廢水常見的污染物，我們認為本實驗結果可以延伸作為水質檢測使用，而且某些污染物或離子會與亞甲藍、氫氧化鈉發生不同程度的反應，且添加順序不同反應的過程也會有所差異，可以考慮在不同水樣採取不同氫氧化鈉添加順序，輔助顯色較明顯，同時以吸光值或拍照並讀取B值讀取做為亞甲藍含量分析依據，作為水質檢測輔助。

參考資料

Methylene blue, https://en.wikipedia.org/wiki/Methylene_blue

亞甲藍分光光度法 www.jendow.com.tw

色彩系統 <https://youtu.be/xhMyuw6PX8Y?si=5GnJo2zpkDVIReIJ>