

中華民國第四十七屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組生物(生命科學)科

最佳創意獎

040704

眼睛的守護神--淚水測試組

學校名稱：國立中和高中

作者： 高二鄭瑤萱 高二李靜純 高二林姿婷 高二蘇凌葶	指導老師： 黃秋純
---	--------------

關鍵詞：淚水雙氧水氧化還原

摘要：

雙氧水或稱過氧化氫常用於殺菌、漂白或作清潔劑使用，它亦可從生物體本身產生而傷害細胞。以前研究人體發炎時，體液中會出現大量的雙氧水。淚水是濕潤眼睛的體液，它的分泌量與眼睛疲勞或是乾眼症等眼睛不適有關。我們假設淚水中雙氧水含量可作為眼睛不適的生物指標。我們發明以氧化還原呈色原理之淚水試紙偵測淚水中之雙氧水濃度。我們運用淚水測試組，比較在抽煙前後、喝酒前後與疲勞或熬夜時淚水的分泌量與雙氧水的含量。我們發現硫酸與碘化鉀淚水測試紙具有最簡便且可以定性與定量淚水中雙氧水的含量。抽煙、喝酒與眼睛疲勞時，淚水的雙氧水含量明顯增加。我們發明的淚水試紙可及早篩選出眼睛的異狀，作為預防眼睛病變之守護神。

壹、研究動機：

有一次家中在大掃除時，爸爸不小心將雞蛋打破，丟入水槽中，而媽媽正巧用含雙氧水之漂白劑倒入其中，適時澄清透明之蛋白變成白色混濁狀，如同眼睛發生白內障之情況。這使我們聯想到在三上生物課程第二章教到的維持生物體的基本物質如醣類、蛋白質、脂質、核酸、維生素等，如果在某些狀態下如發炎的時候，是否會產生特殊的物質如雙氧水此類之氧化物(第三冊附表 1)而破壞這些基本營養物質而危害細胞。最近因為讀書熬夜，眼睛常出現乾澀、異物感、眼痛、畏光、眼充血的不舒服情況，所以到醫院眼科檢查眼睛。醫師利用特殊儀器檢查後說明是因眼睛過度使用如熬夜、長期使用電腦而造成的，所以要多休息補充睡眠。回到家後看到健康雜誌說曬太陽、口瘡、還有傷口發炎會產生一些氧化物質。其中有一種是我們常用來消毒傷口的雙氧水。我們很好奇的想知道是否眼睛出問題的時候，淚水中是否會有雙氧水的產生？而要如何收集測量我們的淚水呢？而雙氧水的檢驗可以用呈色的簡單方法測定嗎？是否可以利用簡易的淚水

呈色方法早期偵測出因為用眼過度、看電腦太久、眼睛發炎、抽菸或是喝酒對眼睛的傷害評估呢？所以我們有些問題要解決：

問題一、有問題的眼睛，淚水中有什麼特殊成份呢？

問題二、這種特殊成份可以用什麼簡易方法呈色驗出呢？

問題三、抽菸會不會增加淚水中的雙氧水含量呢？

問題四、喝酒會不會增加淚水中的雙氧水含量呢？

問題五、長期使用電腦會不會增加淚水中的雙氧水的含量？

問題六、早晨上課與晚間下課時對淚水中雙氧水的含量有無影響呢？

問題七、國中生與高二學生的用眼程度對淚水中雙氧水的含量有無影響？

問題八、高二學生眼睛近視度數的差異,其用眼程度對淚水中雙氧水的含量有無影響？

問題九、保護眼睛的方法有哪些？

貳、研究目的：

一、了解雙氧水的作用與角色。

二、了解淚水中是否有雙氧水的存在。

三、了解如何運用氧化還原呈色法測雙氧水。

四、了解運用淚水測試紙收集淚水。

五、了解熬夜或眼睛疲勞對淚水測試組的呈色反應。

六、了解長期使用電腦對淚水測試組的呈色反應。

七、了解在抽煙環境中淚水測試組的呈色反應。

八、了解如何預防眼睛傷害與及早偵測眼睛異樣之方法。

九、完成一項即時檢測淚水中雙氧水的測試組。

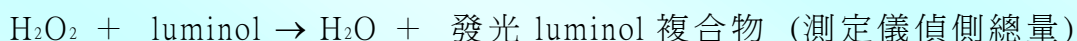
參、研究設備及器材：

1. 淚水測試紙	2. 雙氧水	3. 20% 碘化鉀	4. 10% 硫酸
5. luminol	6. 氯化鈣	7.化學發光測試儀	8.塑膠手套
9. 微量吸管	10.微量滴管	11. 計時器	12.微量天平
13.試管架	14.攪拌器	15.數位照相機	16.鑷子
17.白紙	18.擦手紙	19.試管	20.有蓋試管

肆、研究過程與方法：

一、H₂O₂ 雙氧水和化學發光定量的方法

(一) 測定 H₂O₂ 原理：



(二) 測定 H₂O₂ 的步驟：

- 1、 取 7 個試管，其中六管 (a~f) 先裝入 0.9 (ml) 蒸餾水，而甲試管置入 0.9 (ml) 30% H₂O₂
- 2、 從甲取 0.1 (ml) H₂O₂ 置入 a
- 3、 再從 a 取 0.1 (ml) H₂O₂ 置入 b
- 4、 如上，以此類推至 f
- 5、 濾紙 6 張——沾上 a~e 和甲

- 6、將測試淚水或不同濃度的 H₂O₂ 稀釋，利用發光試劑 Luminol (避光) 的加入，在冷光測定儀 (Chemiluminescence Analyzer, CLD-110, Tohoku Electronic Industrial Co., Sendai, Japan) 進行 H₂O₂ 濃度測定，觀察該樣本是否含 H₂O₂ 之含量。第 0 秒加入樣品 0.2 cc 或淚水試紙，第 60 秒加入 Luminol 0.5 cc，總測量時間為 300 秒。

二、不同濃度的雙氧水(0-3%)和氯化銻呈色試劑的反應

(一) 測定 H₂O₂ 原理：



(二) 測定 H₂O₂ 的步驟：

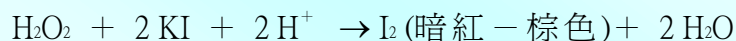
配置濃度 5 毫克/1cc 氯化銻：pH=3.8 用二次水稀釋；使用前配置。

(三) 呈色反應的確定：

1. 在淚水檢體試紙上滴上不同濃度的雙氧水 (0%, 0.0003%, 0.003%, 0.03%, 0.3%, 3%)。
2. 在淚水檢體試紙上滴上配置濃度 5 毫克/1cc 氯化銻溶液。
3. 有粉紅色顏色產生，表示檢體含有 H₂O₂。亦即有發炎症狀發生。

三、不同濃度的雙氧水(0-3%)和硫酸－碘化鉀呈色試劑的反應

(一) 測定 H₂O₂ 原理：



(二) 測定 H₂O₂ 的步驟：

甲 液 --- 10% H₂SO₄ (硫酸)：用二次水稀釋；使用前配置

乙 液 --- 20% KI (碘化鉀)：用二次蒸餾水稀釋；使用前配置

丙 液 --- H₂O₂ 雙氧水 (0%, 0.0003%, 0.003%, 0.03%, 0.3%, 3%)：使用

前配置。

丁液 --- H_2O_2 雙氧水 (0%, 0.0003%, 0.0012%, 0.0021%, 0.003%, 0.012%, 0.021%, 0.03%, 0.3%, 3%)：使用前配置。

(三) 呈色反應的確定：

1. 在淚水檢體試紙上滴上不同濃度的雙氧水，分兩組：

(0%, 0.0003%, 0.003%, 0.03%, 0.3%, 3%) 及

(0%, 0.0003%, 0.0012%, 0.0021%, 0.003%, 0.012%, 0.021%, 0.03%, 0.3%, 3%)。

2. 在淚水檢體試紙上滴上 10% H_2SO_4 溶液。

3. 再滴上等量的 20% KI 溶液。

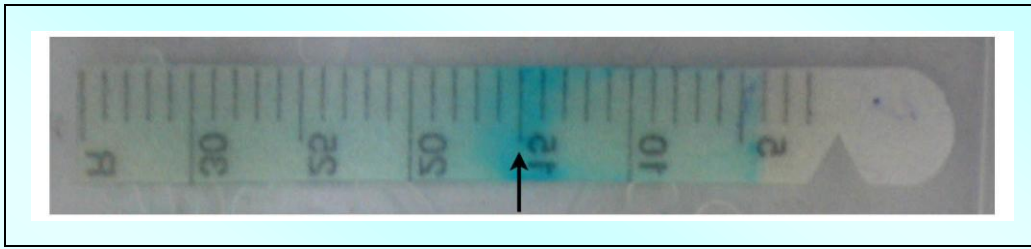
4. 有暗紅－棕色顏色產生，表示檢體含有 H_2O_2 。亦即有發炎症狀發生。

四、淚水反應測試

(一) 將淚水檢體試紙掛於眼睛的兩側五分鐘。(如下圖)



(二) 計算淚水在檢體試出現藍色的刻度。(如下圖) 箭頭所指的數據即可用以代表淚水的流速。



(三) 在淚水檢體試紙上滴上 10% H_2SO_4 溶液。

(四) 再滴上等量的 20% KI 溶液。

(五) 有暗紅－棕色顏色產生，表示檢體含有 H_2O_2 。亦即可能有發炎症狀發生。

五、眼睛疲勞對淚水測試組的呈色反應

(一) 檢測對象為台北縣中和市私立南山中學國中部一年級的學生。

(二) 檢測對象為台北縣國立中和高中二年級(206)的學生。

(三) 觀察早上 7:30 分和晚上 7:30 分之淚水比較。步驟同四

六、眼睛近視度數的差異,造成眼睛疲勞對淚水測試組的呈色反應

(一) 檢測對象為台北縣國立中和高中二年級(206-210)的學生。

(二) 觀察早上 7:30 分和下午 5:30 分之淚水比較，步驟同四，再作不同濃度(A-J)的試紙顏色的比對。

七、長期使用電腦對淚水測試組的呈色反應

(一) 檢測對象為台北縣中和市私立南山中學國中部一年級的學生。

(二) 觀察連續使用電腦二小時之淚水前後比較。步驟同四

八、抽菸對淚水測試組的呈色反應

(一) 檢測對象為台大醫院第三共同研究室研究生與助理。

(二) 比較抽菸(一根黃長壽菸)前後之淚水呈色反應。步驟同四

九、喝酒對淚水測試組的呈色反應

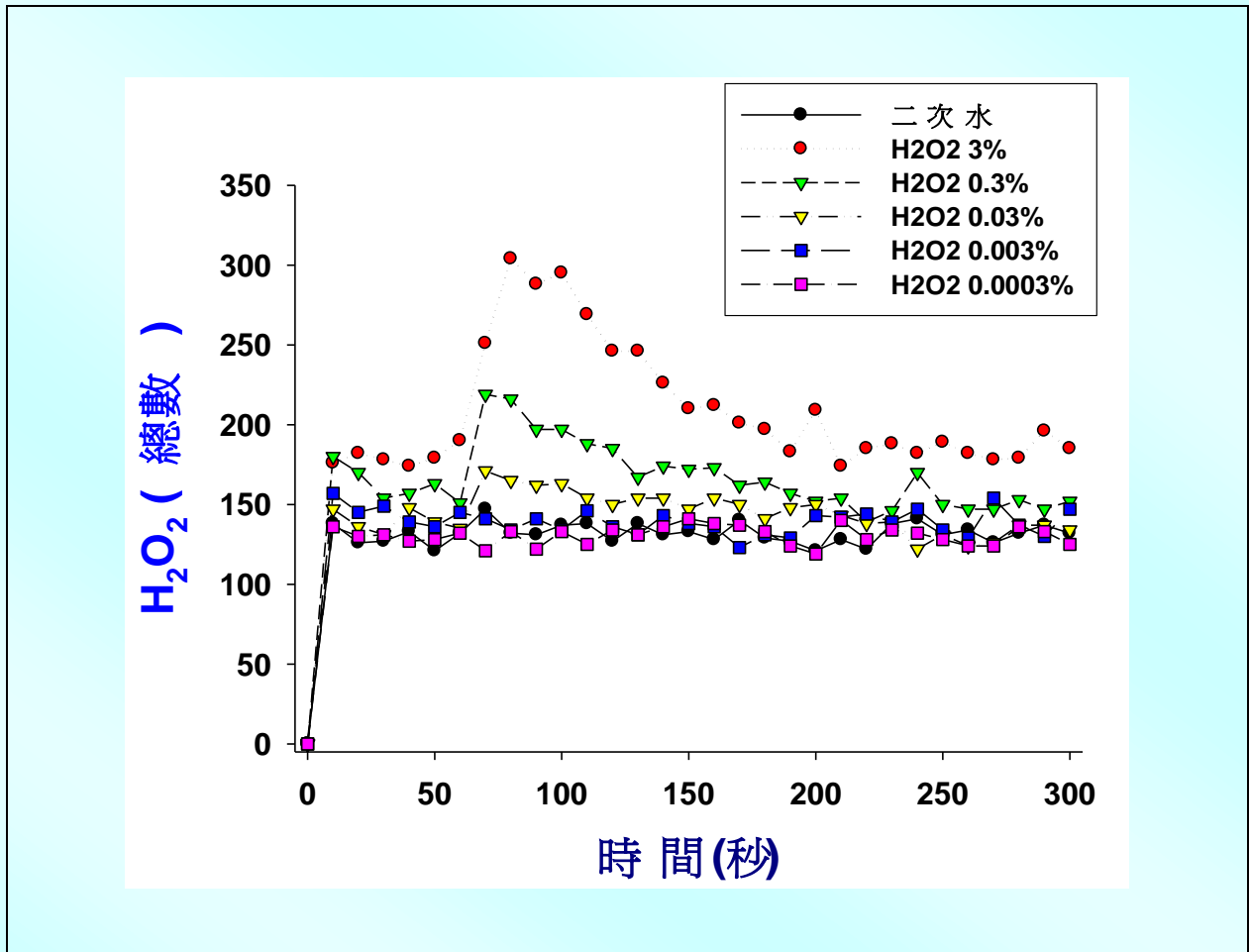
(一) 檢測對象為台北縣中和市私立南山中學國中部一年級的學生家長。

(二) 比較喝酒(一瓶台灣啤酒)前後之淚水呈色反應。步驟同四

十、完成即時檢測淚水中雙氧水的測試組合。

伍、研究結果：

一、不同濃度的雙氧水(0-3%)和化學發光的原始反應圖

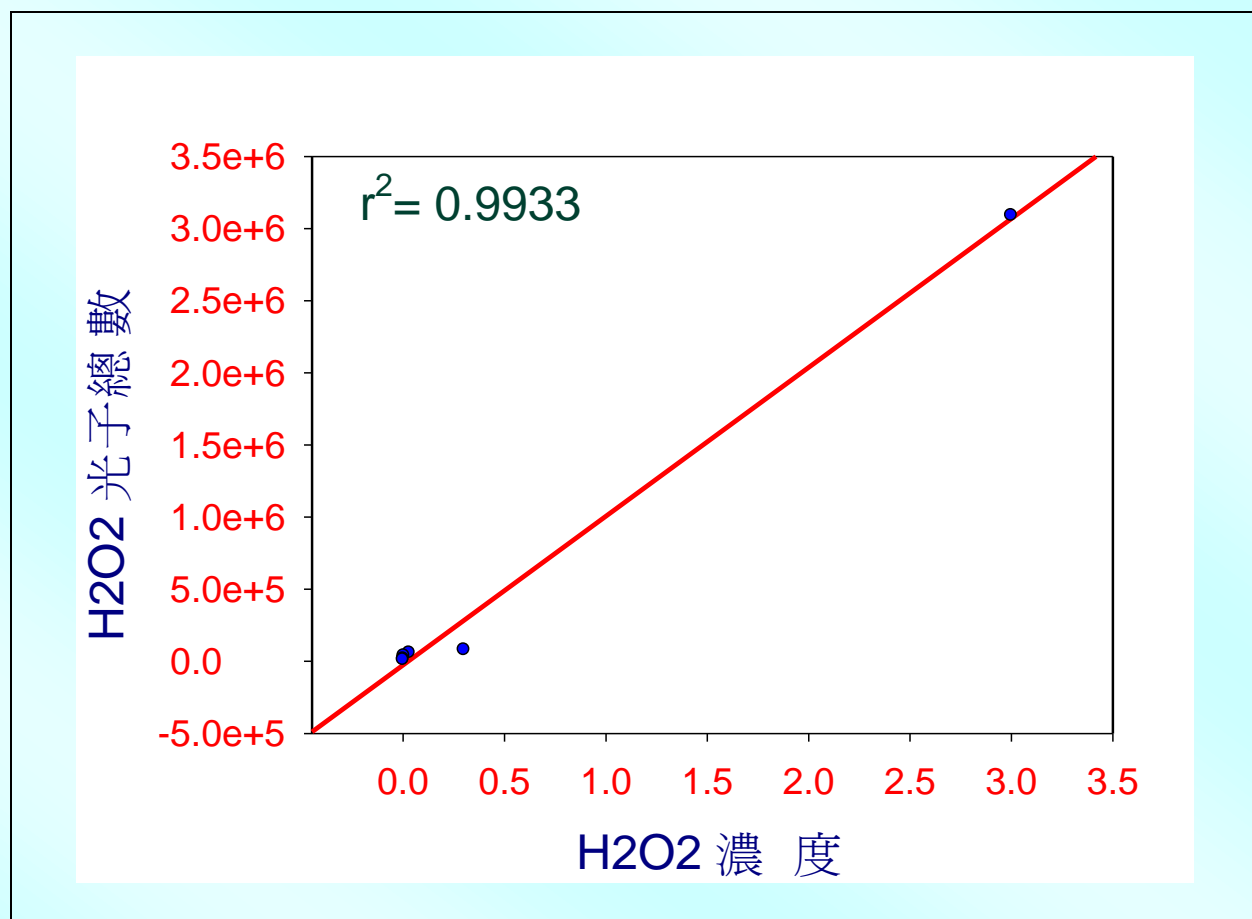


結果發現雙氧水濃度增加確實會增加 luminol 發光的總量。

二、不同濃度的雙氧水(0-3%)之化學發光總數表

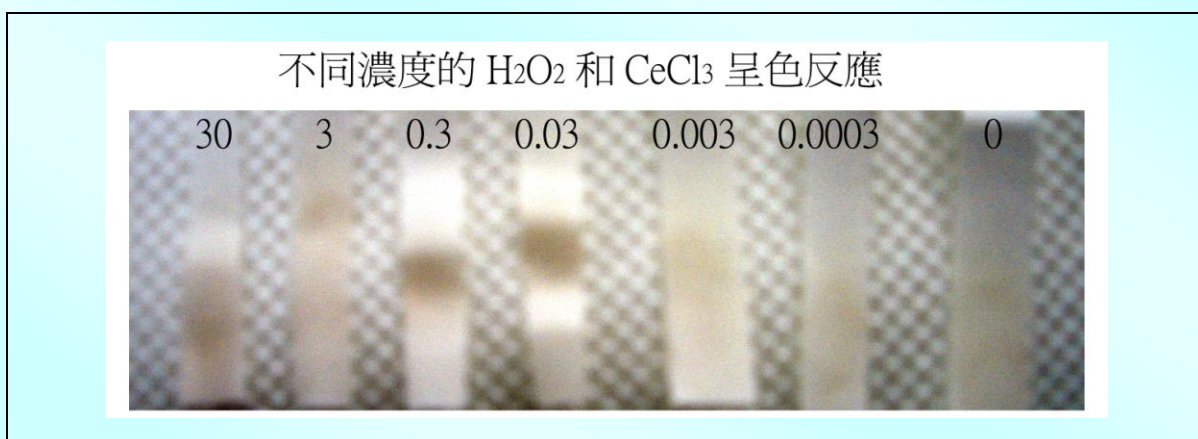
試管	a	b	c	d	e	f
H ₂ O ₂ %	3	0.3	0.03	0.003	0.0003	0.00003
發光總數	3089561	78537	58355	38317	16384	10010

三、不同濃度的雙氧水(0-3%)和化學發光的回歸線圖



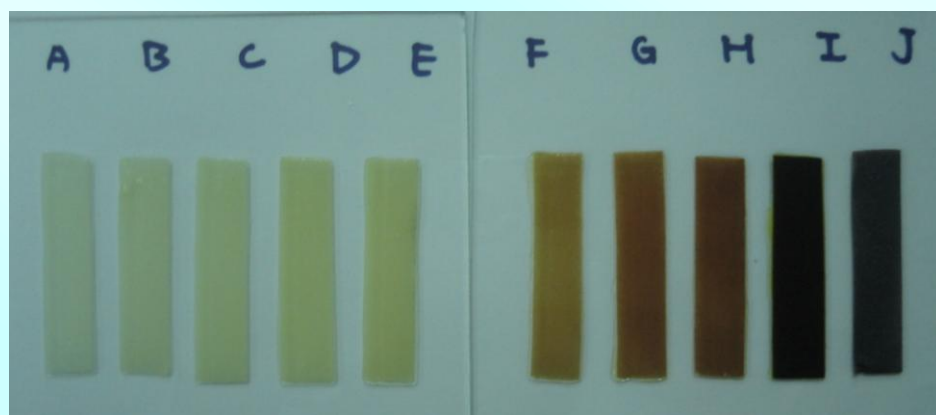
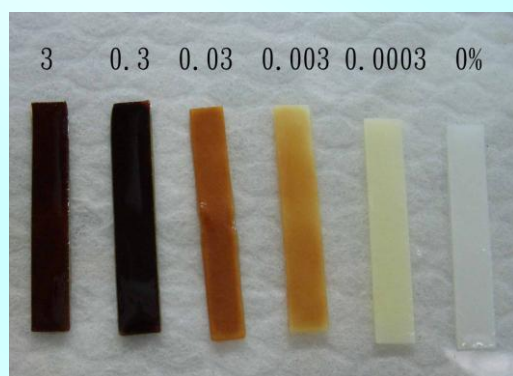
結果發現雙氧水濃度增加確實會增加 luminol 發光的總量，其相關係數為 0.9933。雖然此方法能準確和精準量測雙氧水之濃度與發光量。但偵測的儀器昂貴且不普及，因此在將來之檢測上有其限制性。

四、不同濃度的雙氧水(0-3%)和氯化銻呈色試劑的反應圖



結果發現雙氧水濃度在 > 0.0003% 確實會產生粉紅色的變化。增加雙氧水濃度，其粉紅色程度相近。此結果說明氯化銻和雙氧水的呈色反應可以有定性反應，但無法顯示出和雙氧水之劑量相關的反應。也就是說超過雙氧水的閾值濃度，越高的濃度其呈色反應相似。故不適合作為定量反應的淚水測試劑。

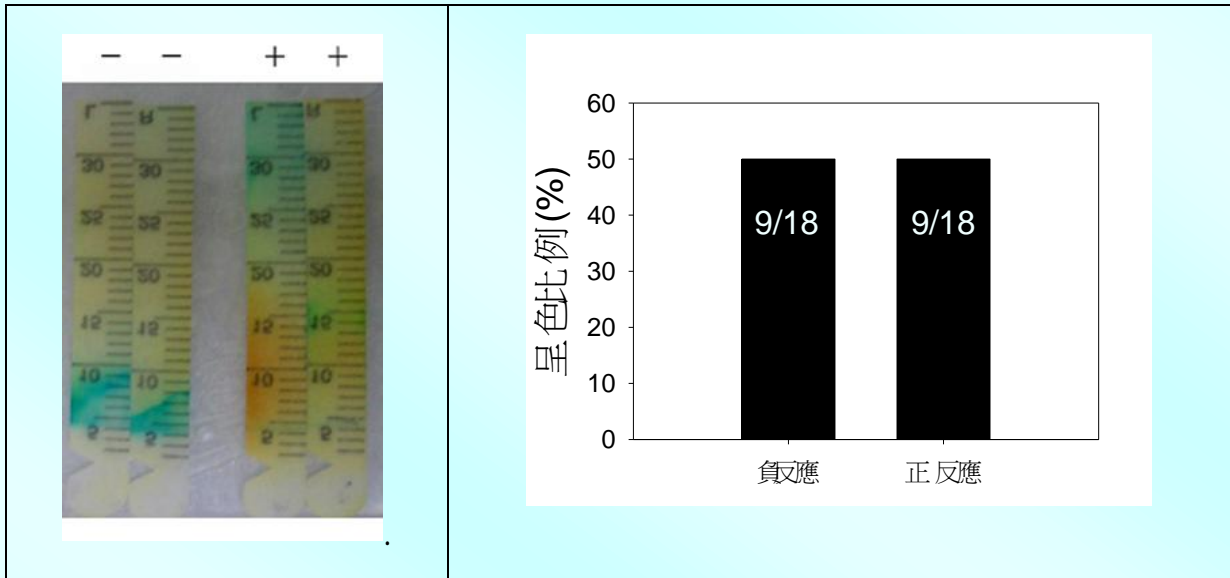
五、不同濃度的雙氧水(0-3%)和硫酸－碘化鉀呈色試劑的反應圖



註:上圖中之 A-J 代表不同的 H_2O_2 濃度 :

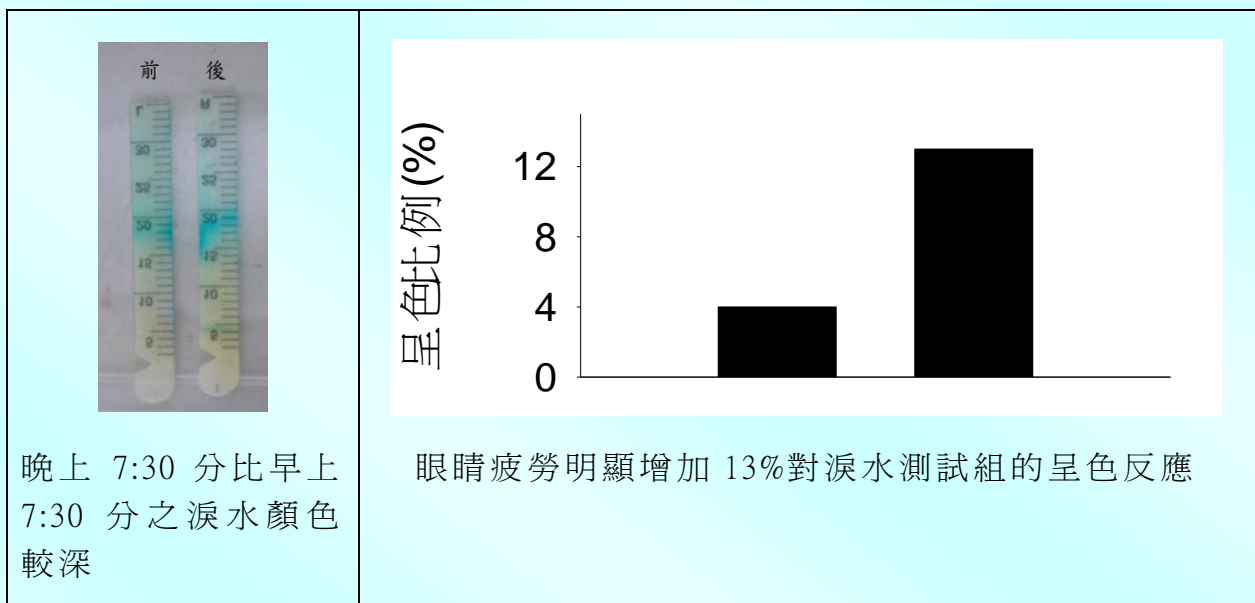
A : 0%, B : 0.0003%, C : 0.0012%, D : 0.0021%, E : 0.003%,

F : 0.012%, G : 0.021%, H : 0.03%, I : 0.3%, J : 3%



結果發現雙氧水濃度在 $> 0.0003\%$ 確實會產生淡黃色的變化。增加雙氧水濃度，其顏色加深(左圖)。以中和高中 206 班之同學淚水之正 (+) 與負 (-) 反應 (中圖)。其統計圖 (右圖)。因此此方法可以定性和定量淚水中雙氧水濃度。

六、眼睛疲勞(44 個人)對淚水測試組的呈色反應



晚上 7:30 分比早上 7:30 分之淚水顏色較深

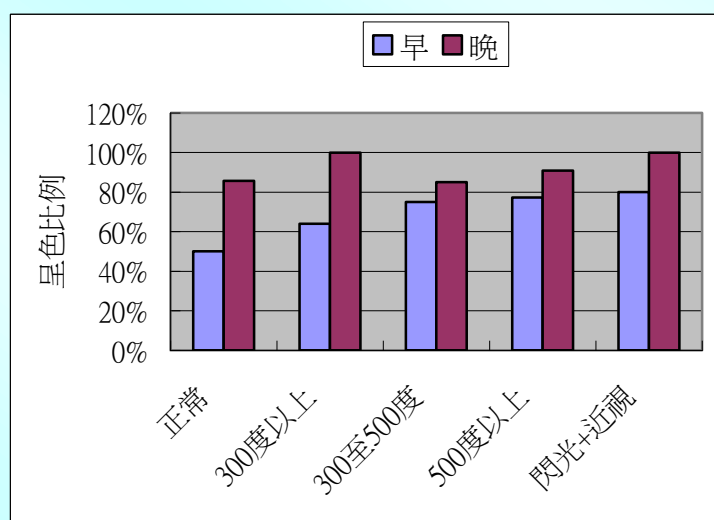
眼睛疲勞明顯增加 13%對淚水測試組的呈色反應

運用可以定性和定量淚水中雙氧水濃度之硫酸－碘化鉀呈色淚水試劑，可以明顯驗出眼睛疲勞明顯增加淚水中雙氧水濃度。

七、眼睛近視度數的差異(91 人),造成眼睛疲勞對淚水測試組的呈色反應

(一) 試紙上 H₂O₂ 濃度 > 0.0003%者，早上及下午檢測的人數百分比之分布：

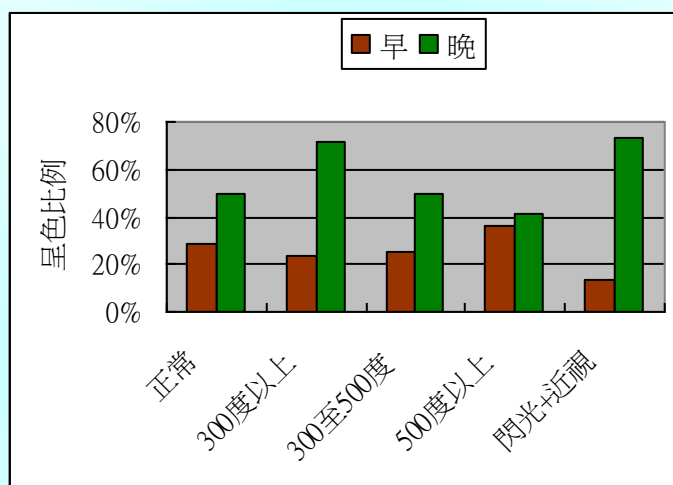
H ₂ O ₂ 濃度 > 0.0003%	早上	下午(晚)
正常	50%	85.71%
300 度以下	64%	100%
300 至 500 度	75%	85%
500 度以上	77.27%	90.91%
閃光+近視	80%	100%



不論眼睛近視度數多寡，下午眼睛疲勞的人數百分比，均比早上為多。

(二) 試紙上 H₂O₂ 濃度 > 0.0021%者，早上及下午檢測的人數百分比之分布：

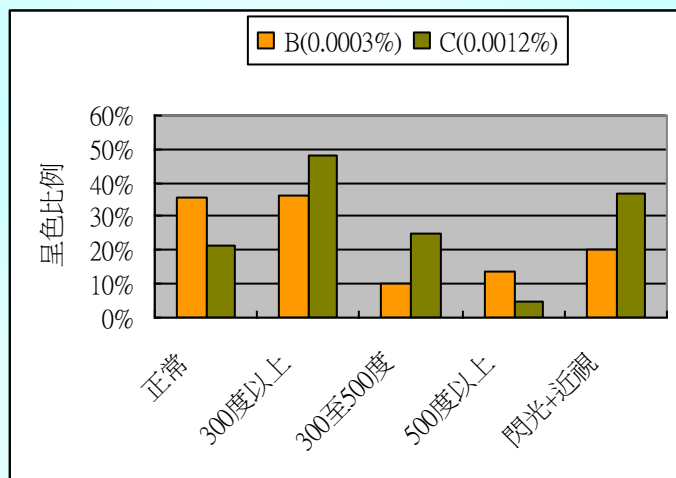
H ₂ O ₂ 濃度 > 0.0021%	早上	下午(晚)
正常	29%	50.00%
300 度以下	24%	72%
300 至 500 度	25%	50%
500 度以上	36.36%	40.91%
閃光+近視	13%	73%



不論眼睛近視度數多寡，下午眼睛疲勞的人數百分比，仍比早上為多，且人數百分比差距更大。

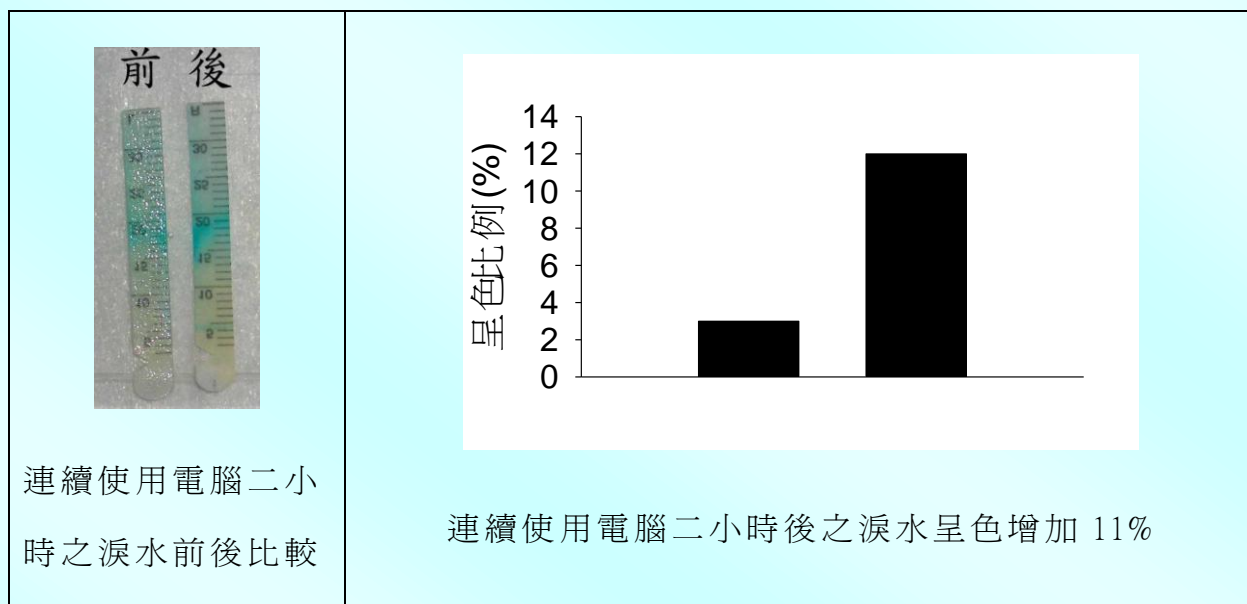
(三)試紙上 H₂O₂ 濃度 > 0.0003% 及 H₂O₂ 濃度 > 0.0021% 者，其下午及早上檢測的人數百分比之差的分布：

H ₂ O ₂ 濃度	B(0.0003%)	C(0.0012%)
正常	36%	21.43%
300 度以下	36%	48%
300 至 500 度	10%	25%
500 度以上	13.64%	4.55%
閃光+近視	20%	37%



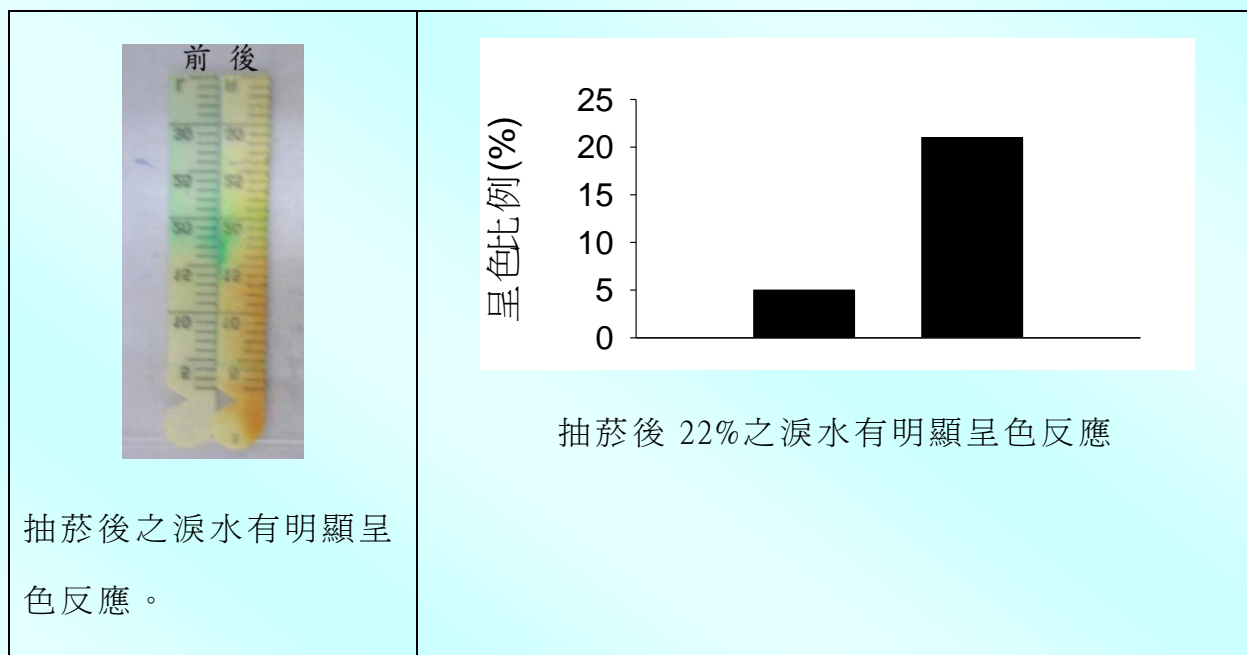
在圖中並未發現近視度數愈深者，其眼睛疲勞的人數百分比愈多，唯近視度數 300 度以下者，其相對增加率最高，是否此度數較易造成眼睛疲勞？仍有待釐清。

八、長期使用電腦(32 個人)對淚水測試組的呈色反應



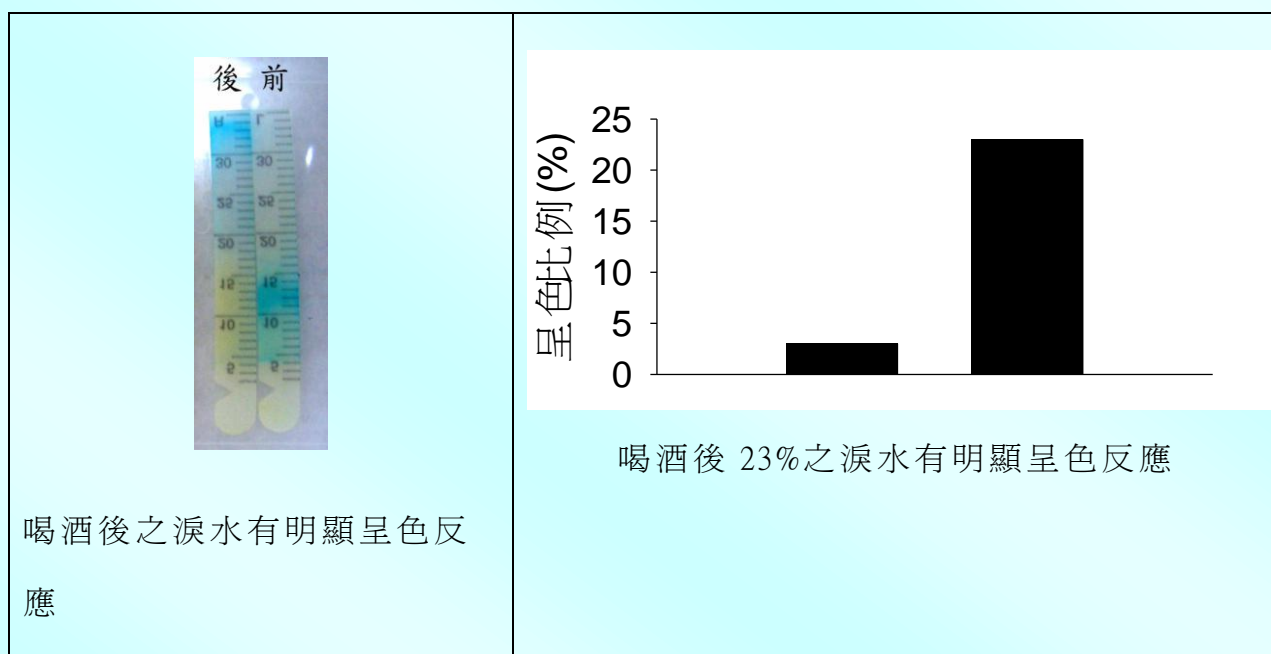
運用可以定性和定量淚水中雙氧水濃度之硫酸－碘化鉀呈色淚水試劑，可以明顯驗出連續使用電腦後二小時可明顯增加淚水中雙氧水濃度。

九、抽菸(30 個人)對淚水測試組的呈色反應



運用可以定性和定量淚水中雙氧水濃度之硫酸－碘化鉀呈色淚水試劑，可以明顯驗出抽煙會明顯增加淚水中雙氧水濃度。

十、喝酒(22 個人)對淚水測試組的呈色反應



運用可以定性和定量淚水中雙氧水濃度之硫酸－碘化鉀呈色淚水試劑，可以明顯驗出喝酒後可明顯增加淚水中雙氧水濃度。

十一、完成即時檢測淚水中雙氧水的測試組合。

根據以上的實驗，我們發明一組可以將驗完淚水分泌量之試紙加上可以定性和定量淚水中雙氧水濃度之硫酸－碘化鉀呈色淚水試劑，可以測定淚水中雙氧水濃度。

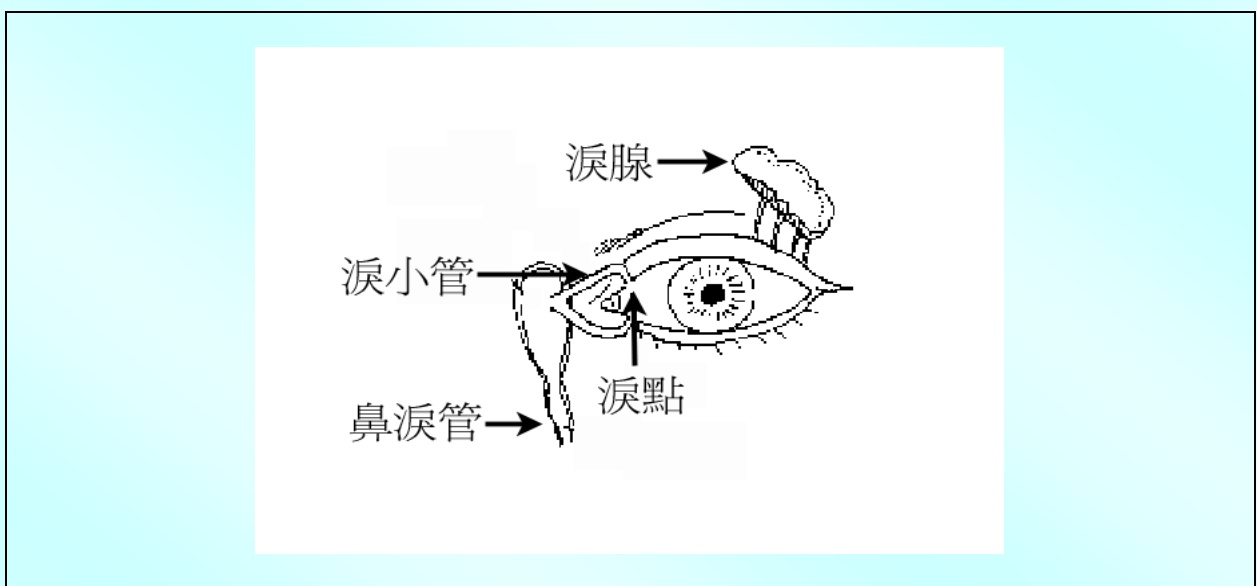


陸、研究討論：

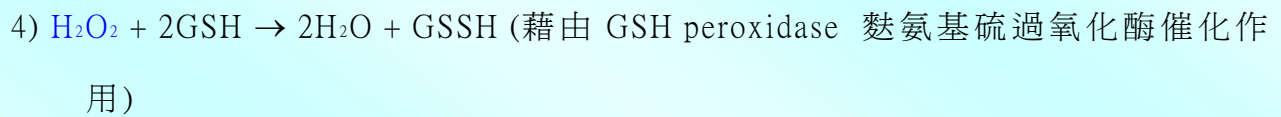
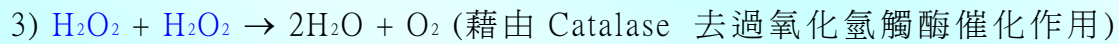
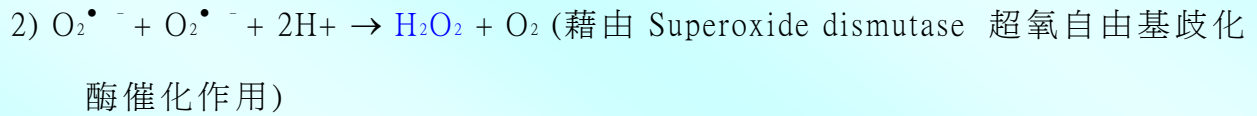
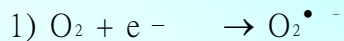
一、淚水是如何產生的呢？

淚液的組成及功用：正常的眼睛有一層很薄的淚液膜，覆蓋在角膜和結膜之前。這層膜由外而內又可細分為油脂層、水液層及黏液素層等三層。**油脂層**：由眼瞼之瞼板腺(一種皮脂腺)所分泌，主要功用是延緩水液層的蒸發及增加淚液膜的表面張力，並可潤滑眼瞼及眼球的接觸面。**水液層**：由淚腺及副淚腺分泌，佔了淚液膜的絕大部份，主要功用有提供眼睛平滑的表面，供給角膜上皮細胞氧氣，殺菌作用及清除代謝產物。**黏液素層**：由結膜杯狀細胞所分泌，主要作用是將角膜上皮細胞由親脂性變為親水性，使得水液層能均勻的分佈在眼球表面。這三層中任何一層有分泌不足或分佈不均勻的問題就會產生乾眼症。淚水產生有三種方式。一種是淚水以緩慢而穩定的速率產生，進而維持正常的

眼球濕潤。另一種則是眼睛受到刺激或情緒影響所產生的。正常健康的眼睛可持續分泌淚水濕潤眼球。過多的淚水產生則是因眼睛受異物刺激或哭泣。淚液層包含三層：油脂層・水液層・黏液層。油脂層由臉板腺產生，為淚液層最外層，它最主要的目的在於平順淚液表面並減少淚水蒸發。中間水液層組成平日我們所認為淚液的大部分。它由淚腺所分泌，可清潔眼睛並沖洗去異物或刺激物。內層由結膜所分泌的黏液所構成，黏液可使水液層均勻分布在眼球表面，使眼睛保持濕潤。沒有黏液，淚水便無法附著在眼球表面。淚器可分淚液分泌系統,及淚液排流系統。淚水由淚腺及副淚腺分泌,分佈於眼球表面,再匯流進入排流系統(下圖)。先經眼瞼鼻側的"淚點",進入"淚小管"、淚囊,再經鼻淚管流入鼻腔。眼淚水穩定的流動可使眼球濕潤,也具有殺菌及中和弱酸弱鹼之功能。淚水太多,固然會造成困擾,淚水太少也會引起乾眼症,造成眼角膜受損。一個專業的眼科醫生通常能藉著眼部檢查來診斷乾眼症，有時候可藉助淚水分泌測驗。許默氏試驗就是利用放在眼瞼內的濾紙，測出不同情況時淚水的分泌速率。



二、在我們身體雙氧水(H₂O₂)是如何產生的呢？



三、我們利用三種方法來測定雙氧水(H₂O₂)，第一種方式為純定量方法。

以 H₂O₂ 和 luminol 會產生發光 luminol 複合物而反應出雙氧水(H₂O₂)之偵測總量。此方法雖精準但儀器貴重且特殊並不適用於一般檢測用。第二種方式為氯化銻呈色試劑的反應，對雙氧水測試結果可以精確到 0.0003%之雙氧水(H₂O₂)，但濃度再高亦無法增加顏色深度，因此只適合定性用途。第三種方式為硫酸－碘化鉀呈色試劑的反應。結果為對雙氧水測試結果可以精確到 0.0003%之雙氧水(H₂O₂)，而濃度增加亦同時增加顏色深度，因此適合定性與半定量用途。所以第三種方法既可定性又可定量，是本實驗的主要檢測方法。

四、因為眼睛面對不同的刺激，所以淚水會產生不同程度的雙氧水，所以可以利用我們發明的簡易呈色法，進行比較。這是對將來進行篩選眼睛病變或預防之第一步。

五、我們發現不同濃度的雙氧水和氧化呈色劑反應後會表現由淺黃至深黑色的表現。顏色愈深代表雙氧水的濃度愈高。亦即眼睛的傷害愈大。利用顏色的表現是最簡單且最清楚的表示方法。

- 六、眼睛疲勞會增加雙氧水濃度，因此讓淚水試紙呈色，其比例高達 13%。因此我們要小心避免過度疲勞。因此適度的休息應可減低這樣的傷害。
- 七、雖然在此實驗中尚未發現近視度數愈深者，其眼睛疲勞的人數百分比差異愈多，但不論眼睛近視度數多寡，下午眼睛疲勞的人數百分比，均比早上為多。且近視度數 300 度以下者，其相對增加率最高，故視力已不良者更須注意眼睛的休息。
- 八、長期使用電腦造成的眼睛疲勞也會增加雙氧水濃度，因此讓淚水試紙呈色，其比例高達 12%。因此我們要小心避免長期使用電腦。
- 九、抽菸與喝酒對身體明顯產生傷害，而我們的研究發現抽菸或喝酒增加淚水試紙呈色的比例高達 21%與 23%。其比例較過度疲勞與長期使用電腦更為嚴重。因此抽菸或喝酒對眼力損傷極為明顯。我們也要減少進入二手菸的環境，因為它會損傷我們的視力。
- 十、我們已利用簡單的氧化還原呈色法搭配淚水試紙成功的發明測量淚水發炎雙氧水的成品。

柒、研究結論：

我們利用上課中學到的簡易生物技術，已成功地將淚水中可能含有的雙氧水檢測出來，可以有效偵測並及早發現眼睛病變。現今社會熬夜、抽菸、喝酒、流連網咖或上網多會損傷我們的眼力。對於眼睛守護神－淚水檢測試劑組的發明，我們應可大力推廣。除了我們研究所顯示的數據之外，可能可以進一步的應用在近視眼、白內障或發炎的鼻水等檢測。總結來說，淚水試劑組是我們身體健康的守護神。

捌、參考資料及其他：

- 一、李勉民，1985，家庭健康指南。讀者文摘遠東有限公司。

- 二、周文炳，1989，家庭實用醫學叢書－眼科。牛頓出版股份有限公司。
- 三、愛您眼睛健康季刊, 2005, 美國愛爾康眼藥廠台灣分公司。
- 四、台中榮總眼科 中老年人的視力危機八十九年秋季大眾科學講座
89.10.21 科學知識 53 期第 47-55 頁。
- 五、趙克然 楊毅軍 曹道俊 氧自由基與臨床 合記圖書出版社 2003。
- 六、Chien CT, Yu HJ, Lin TB, Lai MK, Hsu SM. Substance P via NK1 receptor facilitates hyperactive bladder afferent signaling via action of ROS. *Am J Physiol Renal Physiol* 284: F840-851, 2003.
- 七、Chien CT, Chang WT, Chen HW, Wang TD, Liou SY, Chen TJ, Chang YL, Lee YT, Hsu SM. Ascorbate supplement reduces oxidative stress in dyslipidemic patients undergoing apheresis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 24:1111-7.
- 八、Halliwell B and Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd edition. Oxford University Press, 1999.
- 九、Karnowsky MJ. Cytochemistry and reactive oxygen species: a retrospective. *Histochemistry* 102: 15-27, 1994.

【評語】 040704 眼睛的守護神--淚水測試組

- 1.本題目探討眼淚中含有 H_2O_2 ,其含量受抽菸、飲酒而含量上升。
- 2.本探討具創見性，結果可引用於探討抽菸會引起癌症之研究。
3. H_2O_2 ：上升是否可引起 ROS(Reactive oxygen)：關係值得繼續研究。
- 4.具高度團隊合作精神。