

中華民國第 51 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國中組 化學科

第一名

030204

刑案現場大發現—那是血嗎？

學校名稱：臺北市私立薇閣高級中學(附設國中)

作者： 國二 林建諭 國二 張紘齊 國二 詹柏呈	指導老師： 蔡清蘭
-----------------------------------	--------------

關鍵詞：酚酞法(Kastle-Meyer Test)、亞甲藍法、
血液檢驗

得獎感言



能在全國科展比賽中獲得第一名的殊榮，我們的心情雀躍不已。回想這一年多的日子，我們遇到很多的挫折，不過由於我們的堅持及信心，秉著破釜沉舟、勢在必得的決心，克服難關，一切的努力，總算有了代價。

在實驗的過程中，我們曾遇到瓶頸，彼此勉勵、集思廣益，最後終於讓我們找出適合檢驗血跡的新試劑—亞甲藍，內心除了對老師的指導有道不盡的感激，更對這成果激盪著莫大的成就感！

這次科展的經驗讓我們了解到，做研究除了要有創意，更要有想法，知道如何應用並融會貫通課堂所學，不斷實驗，再下結論。

我們持續的努力在今天開了花結了果，而我們也不希望就此間斷這些努力。因此，我們也將繼續打拼，一個無法停止長跑的選手還正在邁向無垠未來。

作品名稱

刑案現場大發現—那是血嗎？

摘 要

目前警察機關採用酚酞法檢驗有無血跡存在的可能性，我們希望研發新的試劑取代酚酞以增加靈敏度、提高鑑識度。

研發實驗分為四個階段：

- 一、定性階段：實驗何種指示劑可取代酚酞法，檢驗有無血跡存在的可能性。
- 二、定量階段：實驗新試劑與雙氧水之最適比例以及新試劑與血液樣品之反應速率比較。
- 三、反應機構推論階段：由實驗推論可能的反應機構並由新試劑之結構探討可能的反應機構。
- 四、靈敏度比較階段：實驗亞甲藍法與酚酞法在不同濃度樣品的比較。

實驗結果顯示，我們已成功地找到新的試劑（亞甲藍）能夠取代酚酞。亞甲藍除了較容易配製、顏色不易與血液混淆，且在檢驗有無血跡時，其靈敏度亦較酚酞法高，以上優點證實此新試劑亦可用於初步血液檢驗。

壹、研究動機

透過對命案現場中血跡的分析和化驗，不僅能進行人體身份認定，還能判定兇手與被害人在現場的活動過程，確定案件性質，縮小偵查範圍，判斷作案工具，尋找殺人現場，為偵查破案提供依據。因此「血跡」常是偵破命案的重要物證。然而這些血跡常不易以肉眼判別，或受到兇手擦拭、清洗及破壞，以致無法辨識。如何使潛伏的血跡顯現出來，以完整重建現場，打擊犯罪，具有重要的意義。

於是我們便想到了在校所進行雙氧水製氧實驗，師長所提及血液在雙氧水製氧反應中所扮演催化劑之角色，而後予之搜尋。

藉由網路得知：刑案現場中常有紅色的可疑液體，目前警察機關採用酚酞法（Kastle-Meyer Test，簡稱 K-M 法）來檢驗有無血跡存在的可能性(初步血液檢驗)，我們希望研發新的試劑能取代酚酞法，以提高靈敏度、增加鑑識度。

貳、研究目的

- 一、了解各種指示劑對於檢驗血的判別性（定性）。
- 二、找尋新的試劑取代血液預備試驗酚酞法（定性、定量）。
- 三、挑選出合適的試劑取代血液預備試驗酚酞法進行比例性檢驗（定量）。
- 四、找出該試劑的最適比例與對照組比較反應速率（定量）。
- 五、證明新試劑實用性與靈敏度高於酚酞法（比較）
- 六、影響實驗結果的各種變因（比較）

參、研究設備及器材

編號	物品名稱	數量	備註
1	錶玻璃	30 個	
2	丙酮	1 公升	工業級
2	酒精	2.4 公升	試藥級
3	酚酞	10g	
5	蒸餾水	1 公升	
6	錐形瓶	3 個	
7	電子秤	2 台	
8	數位相機	1 台	
9	燒杯	5 個	
10	廣口瓶	6 個	瓶口磨砂者
11	人血樣品		
12	豬血		
13	雞血		
14	魚血		
15	檳榔汁		
16	廣用試劑	20g	
17	甲基紅試劑	20g	
18	甲基橙試劑	20g	
19	BTB 試劑	20g	
20	石蕊試劑	20g	
21	雙氧水	0.1 公升	30%
22	亞甲藍	25g	粉末態
23	酚紅	5g	粉末態
24	計時器	2 個	
25	滴管	15 支	
26	量筒	3 個	100ml
27	PIPETMAN 移液管	2 支	廠牌：GILSON
28	BARRIER TIP	400 支	廠牌：SORENSEN
29	吹風機	2 支	
30	閃爍瓶 (20cc)	200 支	
31	閃爍瓶 (100cc)	20 只	
32	氫氧化鉀 (KOH)	450g	廠牌：SPOLCHEMIE
33	鋅粒 (Zn)	50g	
34	去離子水	300ml	

肆、研究過程或方法

一、 定性階段：

(一) 使用各種試劑^{註1}滴上沾染人血之紗布並觀察其變化。

1. 將新鮮的人血沾在紗布上待其陰乾。
2. 剪下 0.5cm×0.5cm 之血液樣本，置於錶玻璃中。
3. 先滴上一滴^{註2}的各種試劑，再滴上一滴的 3%雙氧水^{註3}。並觀察其變化。

(二) 使用各種試劑滴上沾染豬血之紗布並觀察其變化。

1. 將新鮮的豬血沾在紗布上待其陰乾。
2. 剪下 0.5 cm×0.5 cm 之血液樣本，置於錶玻璃中。
3. 先滴上一滴的各種試劑，再滴上一滴的 3%雙氧水。並觀察其變化。

(三) 使用各種試劑滴上沾染魚血之紗布並觀察其變化。

1. 將新鮮的魚血沾在紗布上待其陰乾。
2. 剪下 0.5 cm×0.5 cm 之血液樣本，置於錶玻璃中。
3. 先滴上一滴的各種試劑，再滴上一滴的 3%雙氧水。並觀察其變化。

(四) 使用各種試劑滴上沾染雞血之紗布並觀察其變化。

1. 將新鮮的雞血沾在紗布上待其陰乾。
2. 剪下 0.5 cm×0.5 cm 之血液樣本，置於錶玻璃中。
3. 先滴上一滴的各種試劑，再滴上一滴的 3%雙氧水。並觀察其變化。

(五) 使用各種試劑滴上沾染檳榔汁之紗布並觀察其變化。

1. 將新鮮的檳榔汁沾在紗布上待其陰乾。
2. 剪下 0.5 cm×0.5 cm 之血液樣本，置於錶玻璃中。
3. 先滴上一滴的各種試劑，再滴上一滴的 3%雙氧水。並觀察其變化。

(六) 比對不同樣品間變化的差別，並找出適合分辨血液的試劑。

(七) 實驗結果顯示，亞甲藍滴上血液樣本（人血、獸血）後，再滴上 3%雙氧水時，褪色至近無色；由此可知，亞甲藍與酚酞一樣，皆可檢驗有無血跡存在的可能性。

註 1：各種試劑包含：酚酞、溴瑞香草藍（BTB）、甲基紅、甲基橙、石蕊試劑、廣用試劑、酚紅、亞甲藍試劑。

註 2：1 滴約等於 0.025 毫升。

註 3：3%雙氧水之配法：取 30%雙氧水 10g 加入 90g 的酒精中混合均勻。

二、 定量階段：

- (一) 配製 1%、0.1%、0.01%、0.001%、0.005%亞甲藍（定性階段所找出的新試劑）之流程：
1. 取 1g 的亞甲藍粉末，配上 99g 酒精並充分攪拌均勻，配置出 1%亞甲藍溶液。
 2. 取 10g 的 1%亞甲藍溶液，加上 90g 酒精並充分攪拌均勻，配出 0.1%亞甲藍溶液。
 3. 取 10g 的 0.1%亞甲藍溶液加上 90g 酒精並充分攪拌均勻，配出 0.01%亞甲藍溶液。
（經測試反應無法以肉眼觀察出變化）
 4. 取 10g 的 0.01%亞甲藍溶液加上 90g 酒精並充分攪拌均勻，配出 0.001%亞甲藍溶液。
 5. 取 50g 的 0.01%亞甲藍溶液加上 50g 水並充分攪拌均勻，配出 0.005%亞甲藍溶液。
- (二) 配製 9%、6%、3%雙氧水之流程：
1. 9%雙氧水之配法：取 30%雙氧水 30g 加入 70g 的水中混合均勻。
 2. 6%雙氧水之配法：取 30%雙氧水 20g 加入 80g 的水中混合均勻。
 3. 3%雙氧水之配法：取 30%雙氧水 10g 加入 90g 的水中混合均勻。
- (三) 交叉搭配使用上述所配製不同濃度的亞甲藍與雙氧水在人血上，並觀察其反應變化，找出適當的亞甲藍與雙氧水的濃度及比例：
1. 1%亞甲藍搭配不同濃度的雙氧水在人血上：
 - (1) 將 1 滴 1%亞甲藍滴上血液樣本後，再滴上 1 滴 3%雙氧水時，實驗結果顯示 1%亞甲藍太濃無法變色。（重複此步驟，分別將 3%雙氧水滴數更換為 2 滴～15 滴……等，實驗結果皆顯示 1%亞甲藍太濃無法變色。）
 - (2) 將 1 滴 1%亞甲藍滴上血液樣本後，再滴上 1 滴 6%雙氧水時，實驗結果顯示 1%亞甲藍太濃無法變色。（重複此步驟，分別將 6%雙氧水滴數更換為 2 滴～15 滴……等，實驗結果皆顯示 1%亞甲藍太濃無法變色。）
 - (3) 將 1 滴 1%亞甲藍滴上血液樣本後，再滴上 1 滴 9%雙氧水時，實驗結果顯示 1%亞甲藍太濃無法變色。（重複此步驟，分別將 9%雙氧水滴數更換為 2 滴～15 滴……等，實驗結果皆顯示 1%亞甲藍太濃無法變色。）
 2. 0.1%亞甲藍搭配不同濃度的雙氧水在人血上：
 - (1) 將 1 滴 0.1%亞甲藍滴上血液樣本後，再滴上 1 滴 3%雙氧水時，實驗結果顯示 0.1%亞甲藍太濃無法變色。（重複此步驟，分別將 3%雙氧水滴數更換為 2 滴～15 滴……等，實驗結果皆顯示 0.1%亞甲藍太濃無法變色。）
 - (2) 重複上述步驟，將 3%雙氧水更換為 6%、9%，實驗結果皆顯示 0.1%亞甲藍太濃無法變色。
 3. 0.01%亞甲藍搭配不同濃度的雙氧水在人血上：
重複上述步驟，實驗結果皆顯示 0.01%亞甲藍太濃無法變色。
 4. 0.001%亞甲藍搭配不同濃度的雙氧水在人血上：
重複上述步驟，實驗結果皆顯示 0.001%亞甲藍太稀無法觀察顏色變化。
 5. 0.005%亞甲藍搭配不同濃度的雙氧水在人血上：
 - (1) 實驗顯示，將 1 滴 0.005%亞甲藍滴上血液樣本後，再滴上 1 滴 3%雙氧水時，由藍色褪色，但變色效果欠佳。（重複此步驟，分別將 3%雙氧水滴數更換為 2 滴～10 滴……等，實驗結果顯示 0.005%亞甲藍可與 3%雙氧水搭配使用，但變色效果欠佳。）
 - (2) 重複上述步驟，將 3%雙氧水更換為 6%、9%時，褪色至近無色，且變色效果較佳，但由於 9%氣泡太多，所以採用 6%雙氧水。

(四) 由上述實驗所找出的亞甲藍濃度 0.005%與雙氧水 6%^{註4} 搭配使用在人血上，並觀察其反應變化，再找出適當的亞甲藍與雙氧水滴數比例：

1. 先滴上 1 滴的 0.005%亞甲藍在人血樣本，再滴上 1 滴的 6%雙氧水，並觀察其變化。(結果顯示亞甲藍由藍色褪色，但變色效果不夠明顯，顯示比例不為 1:1)
2. 。(結果顯示亞甲藍由藍色褪色，但變色效果不夠明顯，顯示比例不為 1:2)。
3. 先滴上 1 滴的 0.005%亞甲藍在人血樣本，再分別滴上 2 滴~8 滴的 6%雙氧水，並觀察其變化 (結果顯示 0.005%亞甲藍:6%雙氧水=1:7 時，由藍色褪色至接近透明無色，顯示此為最適比例。)

註 4 :由實驗過程中發現 9%雙氧水較濃，3%雙氧水較稀，因此選用 6%為最適濃度。

(五) 比較人血、豬血、鷄血、魚血、非血液樣品與空白之對照組，並觀察其反應速率之差異：

1. 空白之對照組：

直接加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

2. 人血組：

(1) 取 0.5cm×0.1cm×0.1cm 的人血樣品，置於錶玻璃中。

(2) 先加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

3. 豬血組：

(1) 取 0.5cm×0.1cm×0.1cm 的豬血樣品，置於錶玻璃中。

(2) 先加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

4. 雞血組：

(1) 取 0.5cm×0.1cm×0.1cm 的雞血樣品，置於錶玻璃中。

(2) 先加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

5. 魚血組：

(1) 取 0.5cm×0.1cm 的魚血樣品，置於錶玻璃中。

(2) 先加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

6. 檳榔汁組：

(1) 取 0.5cm×0.1cm 的檳榔汁樣品，置於錶玻璃中。

(2) 先加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

7. 番茄汁對照組 (非血液部份)：

(1) 取 0.5cm×0.1cm 的番茄汁樣品，置於錶玻璃中。

(2) 先加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

8. 蔓越莓汁對照組 (非血液部份)：

(1) 取 0.5cm×0.1cm 的蔓越莓汁樣品，置於錶玻璃中。

(2) 先加入 1 滴 0.005%亞甲藍，再加入 7 滴 6%雙氧水，觀察並紀錄其反應時間。

三、推論反應機構階段：

- (一) 0.005%亞甲藍 1 滴加在人血上，觀察其變化，實驗結果不變色（亞甲藍呈藍色）。
（重複此步驟，更換 0.005%亞甲藍滴數為 2 滴~10 滴……等，實驗結果皆不變色（亞甲藍呈藍色））。
- (二) 6%雙氧水 1 滴加在人血上，觀察其變化，實驗結果血液變色不易辨識。
（重複此步驟，更換 6%雙氧水滴數為 2 滴~10 滴……等，實驗結果血液變色不易辨識）。

四、靈敏度比較階段：

- (一) 分別取尚未凝固之純血血液樣品（人血與雞血）1ml 加各式稀釋水（生理食鹽水、蒸餾水、自來水）1ml，以稀釋成 1/2 之血液各式稀釋樣本。
- (二) 分別取 1/2 之血液各式稀釋樣本 400 μ l 加各式稀釋水（生理食鹽水、蒸餾水、自來水）1600 μ l，以稀釋成 10^{-1} 之血液各式稀釋樣本。
- (三) 分別取 10^{-1} 之血液各式稀釋樣本 150 μ l 加各式稀釋水（生理食鹽水、蒸餾水、自來水）1350 μ l，以稀釋成 10^{-2} 之血液各式稀釋樣本。
- (四) 分別取 10^{-2} 之血液各式稀釋樣本 150 μ l 加各式稀釋水（生理食鹽水、蒸餾水、自來水）1350 μ l，以稀釋成 10^{-3} 之血液各式稀釋樣本。
- (五) 重複上述步驟，分別調配出 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 、 10^{-13} 、 10^{-14} 的血液（人血與雞血）各式稀釋樣本（生理食鹽水、蒸餾水、自來水）。
- (六) 將稀釋出的各式樣品（不同濃度的人血與雞血）分別以酚酞法^{註5}和亞甲藍法進行測試，觀察並紀錄其反應時間，比較其靈敏度。
 - 1. 分別取 100 μ l 各種不同濃度人血樣本置入錶玻璃中。
 - 2. 分別加入 100 μ l 亞甲藍（0.005%）液於各種不同濃度人血樣本上。
 - 3. 再分別加入 700 μ l 雙氧水（6%），觀察並紀錄其反應時間。
 - 4. 重覆上述三步驟於各種不同濃度的雞血樣本中實驗，觀察並紀錄其反應時間。
 - 5. 利用酚酞法，重覆上述四步驟於各種不同濃度的雞血樣本中實驗，觀察並紀錄其反應時間。





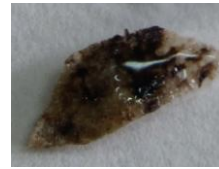


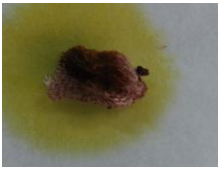
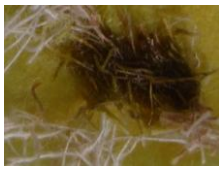

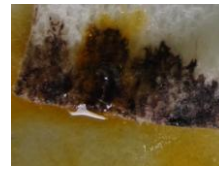
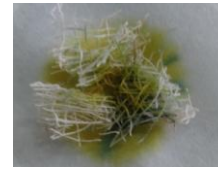

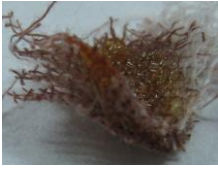



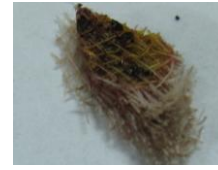
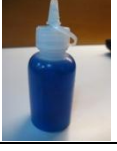

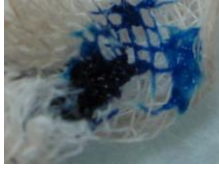
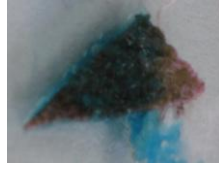
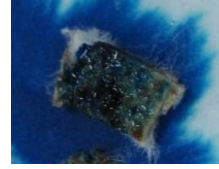
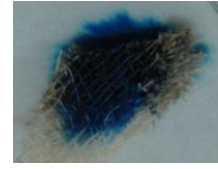
註 5: 酚酞配製法：

- (1) 2g 氧化態的酚酞（Phenol phthalein）+ 20gKOH + 100c.c. 去離子水 stir，煮沸 2-4hrs（冷凝管），冷卻，加 Zn 粒使之穩定。取 20c.c.，再加 80c.c. 酒精，即可使用。（此法較危險）。
- (2) 2g 還原態的酚酞（Phenol phthalin）+ 20gKOH + 100c.c. 去離子水 stir，等完全溶解後，放入棕形瓶，再加 Zn 粒（5~10 顆）。取 20c.c.，再加 80c.c. 酒精，即可使用。（此法藥品較貴）。

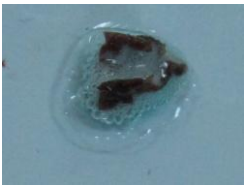
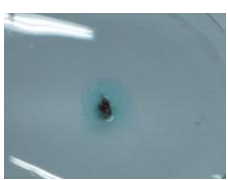

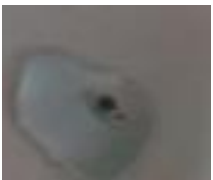
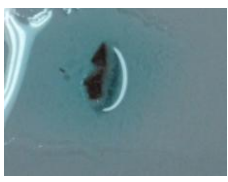
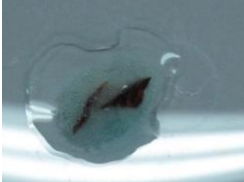
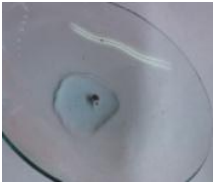







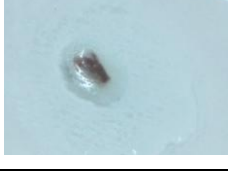

伍、研究結果

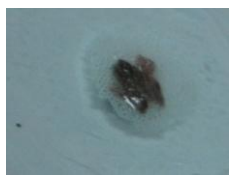

表一、定性階段——各種指示劑對於檢驗人血的判別性結果

種類 指示劑	人血	豬血	魚血	雞血	檳榔汁
對照組					
描述：對照組無添加試劑。					
酚酞 					
描述：在這一次實驗當中我們發現警察機關現今採用的酚酞檢驗法是可行的，你可以從圖中清楚的看到加上酚酞與雙氧水的人血與豬血皆有變色為淺粉紅，魚血與雞血稍微不明顯，而檳榔汁則完全沒有變色。					
BTB 					
描述：以上照片是 BTB 對於各個樣品的反應，對於辨認是否為血液而言並不顯著。					
甲基紅 					
描述：以上照片是甲基紅對於各個樣品的反應，對於辨認是否為血液而言效果不佳。					
甲基橙 					
描述：以上照片是甲基橙對於各個樣品的反應，幾乎無法辨認是否為血液。					

	人血	豬血	魚血	雞血	檳榔汁
石蕊試劑 					
描述：以上照片是石蕊試劑對於各個樣品的反應，效果不佳。					
廣用 					
描述：以上照片是廣用試劑對於各個樣品的反應，效果不佳。					
酚紅 					
描述：以上照片是酚紅對於各個樣品的反應照片，效果並不佳。					
亞甲藍 					
描述：在這一次實驗當中我們發現除了警察機關現今採用的酚酞檢驗法是可行的之外，我們觀察到亞甲藍對於是否為血液的辨識度也很高，你可以從圖中清楚的看到加上亞甲藍與雙氧水的人血與豬血皆有變色為淺藍甚至接近無色，魚血與豬血亦同，而檳榔汁則呈現出亞甲藍原本的深藍色。					

表二、定量階段——亞甲藍與雙氧水在不同滴數下其樣品的反應

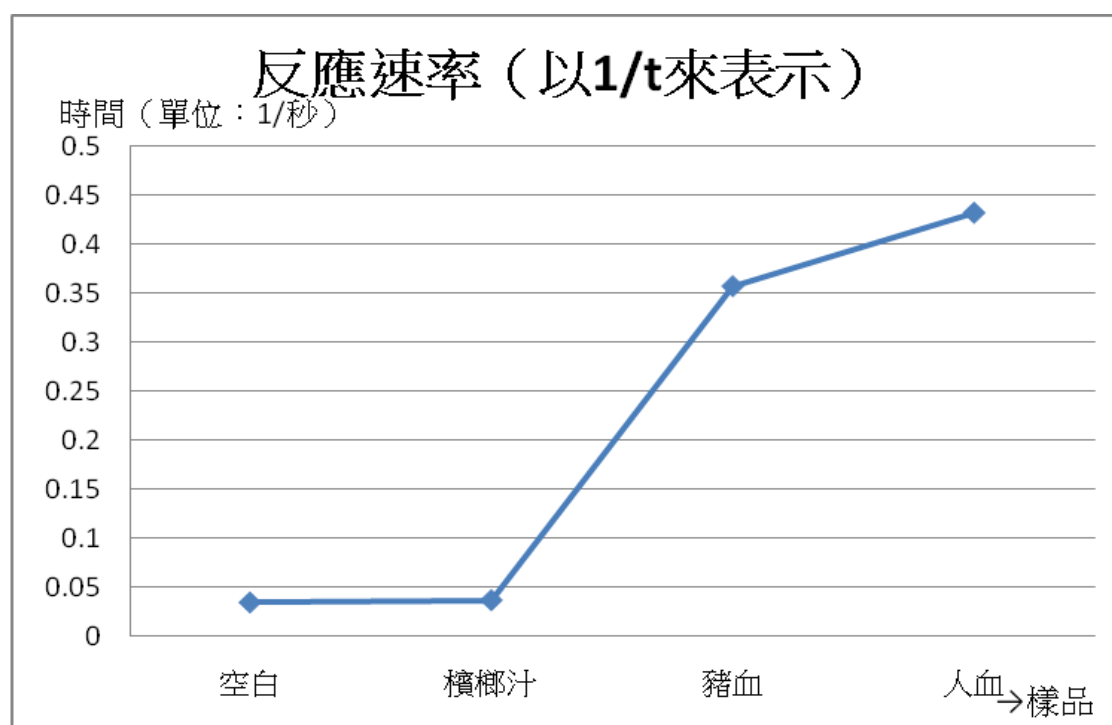
亞甲藍 0.005%				
註 6：經全組討論後，以下空白處為非必要且可省略之實驗，故加以省略。				
雙氧水 比例	6% (加人血)	6% (加豬血)	9% (加人血)	9% (加豬血)
亞甲藍 (滴) : 雙氧水 (滴)				
1:1				
1:2				
1:3				
1:4				
1:5				
1:6				
1:7				

1:8				
註解：上表之圖片為不同比例雙氧水之於亞甲藍所會使樣品進行的變化，目的在於找出血液辨識度最大又浪費最少試劑之雙氧水與亞甲藍比例。我們發現到 0.005% 之亞甲藍：6% 之雙氧水以 1：7 最適。(經全組討論後，以上空白處為可省略之實驗)				

表三、亞甲藍試劑 (0.005%) 與雙氧水 (6%) (1：7) 與樣品的反應時間 (單位：秒)

	空白	檳榔汁	豬血	人血
第一次實驗	32.79	26.93	2.41	2.20
第二次實驗	29.22	35.25	3.47	1.47
第三次實驗	26.00	20.32	2.53	3.28
平均值	29.33667	27.5	2.803333	2.316667

圖一、





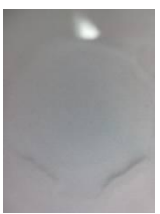



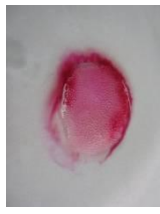


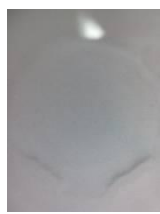


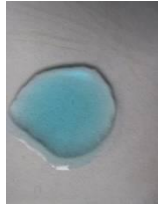

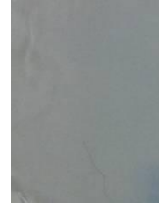

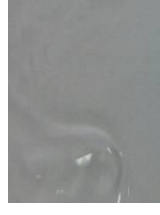

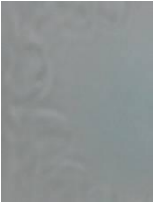
















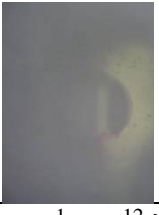






註 7：在沒有血液的情況下，從滴下指示劑到完全變色耗費約莫 26.00s 到 35.25s 的時間，而在有血液的情況下，則耗費約莫 1.47~3.47s 的時間。






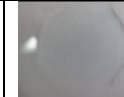



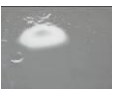


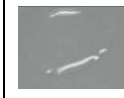

表四、亞甲藍法與酚酞法（K-M 法）對各式不同濃度人血樣本的靈敏度比較

（註 8：因為圖片眾多，故僅取 10 的偶次方之濃度作為展示）






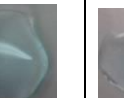

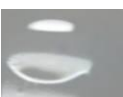

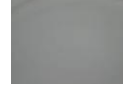




以下實驗皆以亞甲藍法與酚酞法（K-M 法）檢驗比較

濃度 種類	對照組	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-8}	10^{-10}	10^{-12}
人血 （生理 食鹽 水）亞 甲藍法							
人血 （生理 食鹽 水）酚 酞法							
<p>描述：亞甲藍法與對照組比較下，各組皆有明顯褪色。 但 K-M 法僅有 10^{-1} 到 10^{-3} 有變色，10^{-4} 與更稀的，以肉眼則無法辨識出差別。</p>							
人血 （蒸餾 水）亞 甲藍							
人血 （蒸餾 水）酚 酞法							
<p>描述：亞甲藍法與對照組比較下，各組皆有明顯褪色。 且 K-M 法僅有 10^{-1} 到 10^{-4} 有變色，10^{-5} 與更稀的幾近沒有變色。</p>							
人血 （自來 水）亞 甲藍							
人血 （自來 水）酚 酞法							
<p>描述：亞甲藍法與對照組比較下，10^{-1}~10^{-12} 皆有明顯褪色。 且 K-M 法僅有 10^{-1} 到 10^{-3} 有變色，10^{-4} 與更稀的皆呈現原色（透明）。</p>							











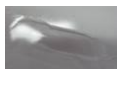



表五、亞甲藍法與酚酞法（K-M 法）對生理食鹽水稀釋之不同濃度雞血樣本的靈敏度比較

濃度 (V%) \ 種類	對照組	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-8}	10^{-10}	10^{-12}
雞血 亞甲藍 (生理食鹽水)							
雞血 酚酞 (生理食鹽水)							
描述：酚酞的實驗結果顯示，解析度並沒有比亞甲藍好。							

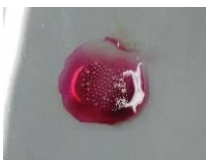

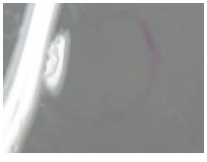

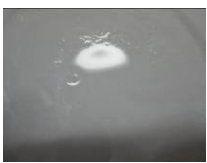



表六、亞甲藍法與酚酞法（K-M 法）對蒸餾水稀釋之不同濃度雞血樣本的靈敏度比較

濃度 (V%) \ 種類	對照組	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-8}	10^{-10}	10^{-12}
雞血 (蒸餾水) 亞甲藍							
雞血 (蒸餾水) 酚酞							
描述：對照組與他組相較下，酚酞到 10^{-4} 已無變色，但亞甲藍直到 10^{-12} 仍可辨別。							

表七、亞甲藍法與酚酞法（K-M 法）對自來水稀釋之不同濃度雞血樣本的靈敏度比較






濃度 (V%) \ 種類	對照組	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-8}	10^{-10}	10^{-12}
雞血 (自來水) 亞甲藍							
雞血 (自來水) 酚酞							
描述：對照組與他組相較下，酚酞 10^{-4} 以外並無法確認是否有反應，而亞甲藍卻成功的表現出更高的靈敏度。							

表八、酚酞法與亞甲藍法之靈敏度極限比較

種類	酚酞	亞甲藍	
方法 雞血(生理食鹽水) 10^{-2}			雞血(生理食鹽水) 10^{-11}
雞血(生理食鹽水) 10^{-3}			雞血(生理食鹽水) 10^{-12}
雞血(生理食鹽水) 10^{-4}			雞血(生理食鹽水) 10^{-13}
雞血(生理食鹽水) 10^{-5}			雞血(生理食鹽水) 10^{-14}

我們由以上幾圖得知：對於蒸餾水所配置出的血液，不論亞甲藍法或者酚酞法，都具有較好的靈敏度。另外，我們將位於臨界點的濃度之成果做一個比較，發現酚酞大致位於 10^3 ppm，而亞甲藍則位於 10^{-12}

表九、亞甲藍法之靈敏度極限

	10^{-10}	10^{-11}	10^{-12}	10^{-13}	10^{-14}
雞血(生理食鹽水)亞甲藍法					

描述：

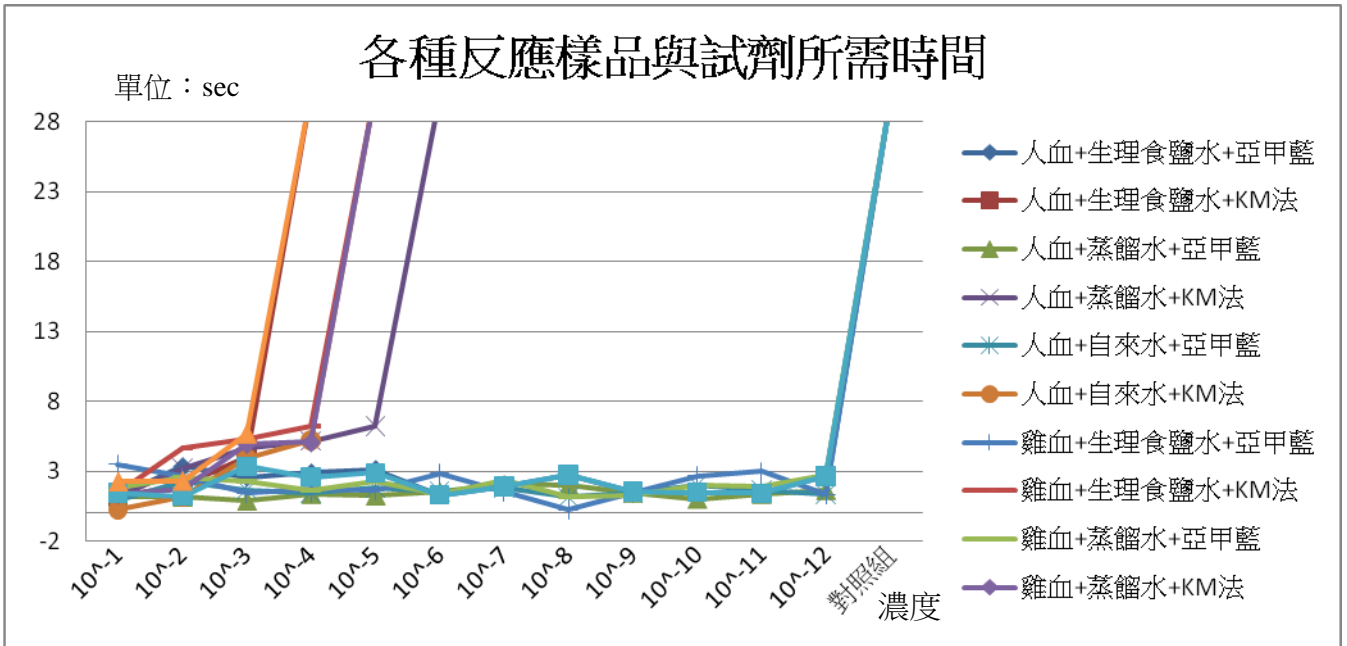
以上為亞甲藍加上用生理食鹽水稀釋的雞血為樣品，而後加上雙氧水所反應出的實驗結果。從圖中我們可以發現到對於 10^{-14} 濃度的褪色程度極少，甚至無法辨識，而這個現象是從 10^{-12} 開始的，因此我們可以說 10^{-12} 已是亞甲藍試劑的精準極限。

表十、亞甲藍法與酚酞法的靈敏度測定（反應時間關係數據）

單位：秒	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹²	對照組
人血（生理食鹽水）+亞甲藍	1.21	3.34	2.59	2.88	3.13	1.31	1.91	2.74	1.53	1.48	1.41	2.63	29.33
人血（生理食鹽水）+KM 法	1.21	1.97	3.98	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
人血（蒸餾水）+亞甲藍	1.16	1.16	0.88	1.39	1.26	1.52	2.06	2.02	1.48	1.02	1.38	1.66	29.33
人血（蒸餾水）+KM 法	1.2	3.21	4.67	5.16	6.24	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
人血（自來水）+亞甲藍	0.88	2.27	1.68	1.46	1.84	1.59	1.81	1.14	1.46	1.99	1.68	1.38	29.33
人血（自來水）+KM 法	0.24	1.16	3.91	5.24	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
雞血（生理食鹽水）+亞甲藍	3.5	2.6	1.42	1.72	1.6	2.85	1.56	0.22	1.49	2.66	2.98	1.33	29.33
雞血（生理食鹽水）+KM 法	1.41	4.64	5.29	6.24	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
雞血（蒸餾水）+亞甲藍	1.79	2.56	2.3	1.67	2.24	1.4	2.38	1.2	1.24	2	1.88	2.76	29.33
雞血（蒸餾水）+KM 法	1.38	1.77	4.98	5.09	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
雞血（自來水）+亞甲藍	1.46	1.21	3.34	2.59	2.88	1.31	1.91	2.74	1.53	1.48	1.41	2.63	29.33
雞血（自來水）+KM 法	2.24	2.3	5.7	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30

註 9：以上為個樣品經過酚酞法與亞甲藍法之試驗反應時間，如顯示為”>30”者，表示反應時間已大於 30 秒，故此不計。

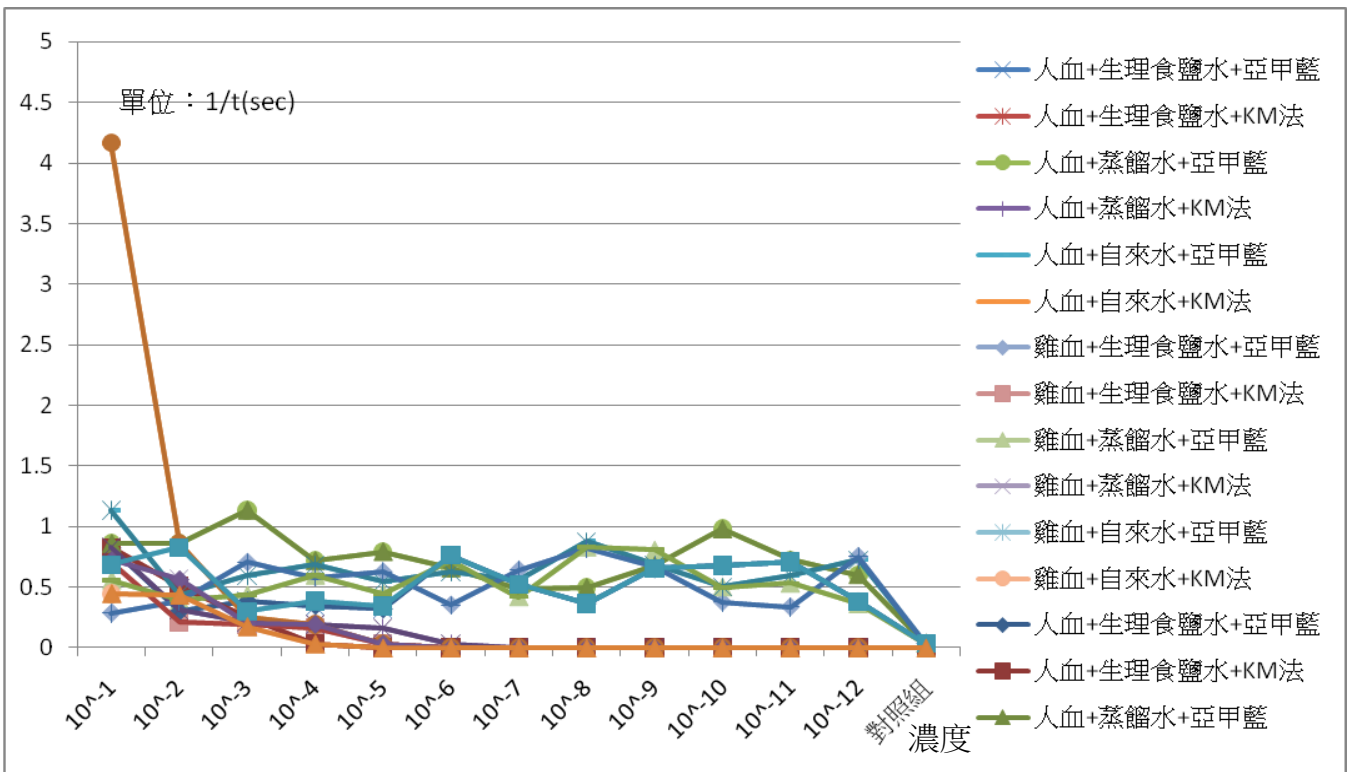
圖二、各種樣品與試劑所需時間



註 10：

從圖中可以明顯的看到 K-M 法的反應時間較久且在 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ 時便已開始失去其靈敏度。而亞甲藍法在直到 10^{-12} 時都是呈現一個有效的範圍

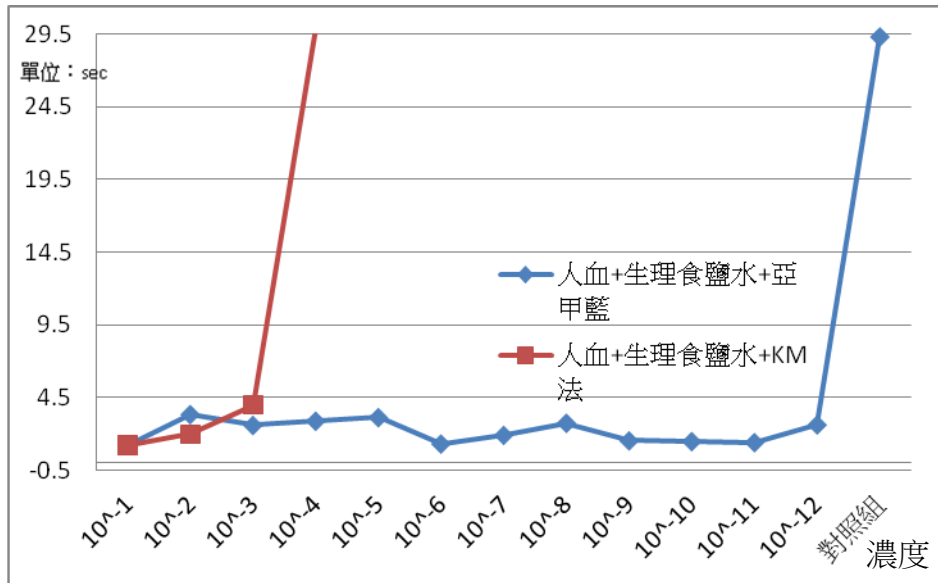
圖三、各種反應樣品與試劑反應速率



註 11：

我們從圖中觀察到酚酞法針對人血以自來水稀釋成 10^{-1} 時，效率稍快但仍不具統計上的實質意義。另一方面，K-M 法仍是在 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ 時反應速率就已接近 0。

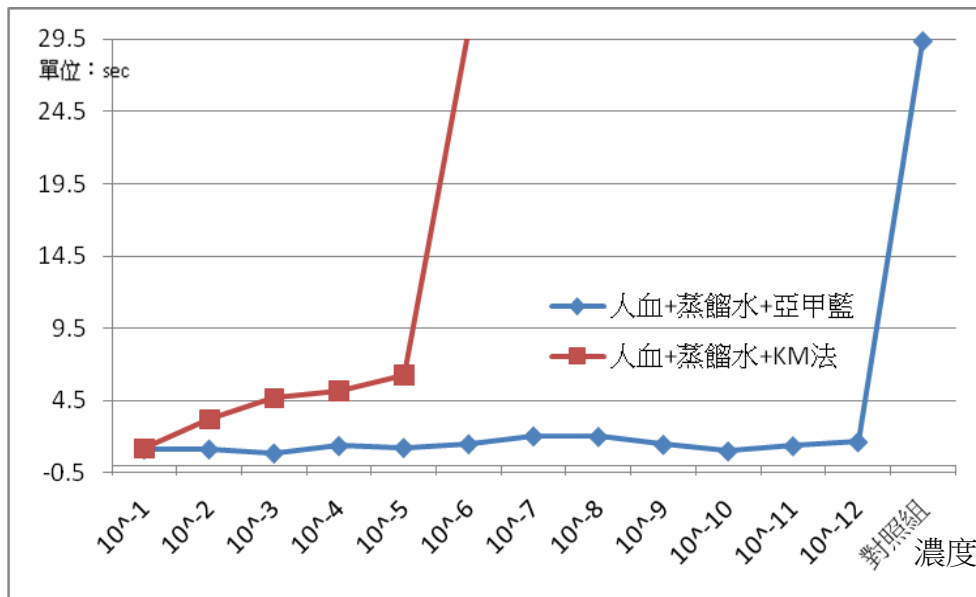
圖四、不同濃度人血樣本（以生理食鹽水稀釋）之於 K-M 法與亞甲藍試劑之反應時間比較



註 12：

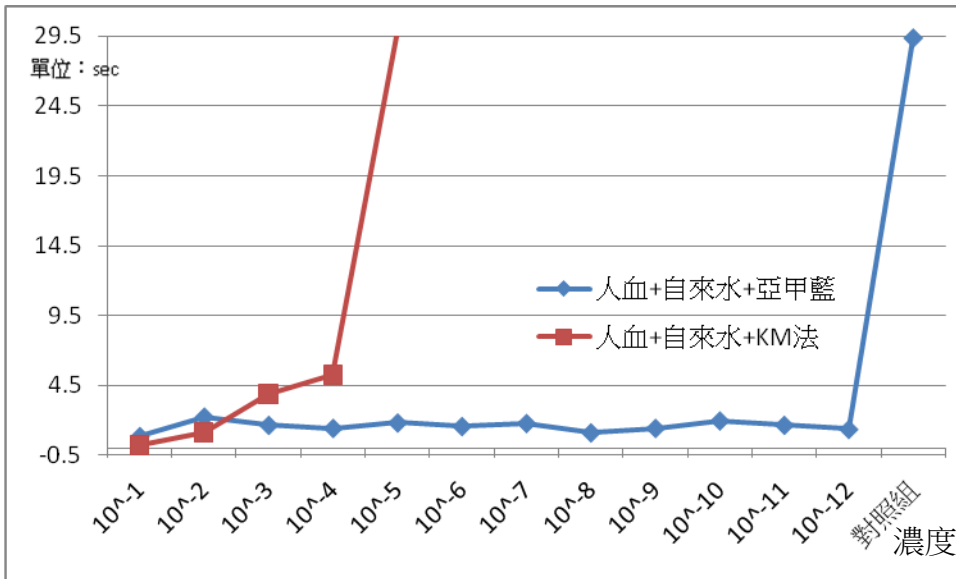
酚酞法於 10^{-4} 時失去其效力。而亞甲藍法仍然持續有效，但是對照組的亞甲藍如同預測般仍有反應，只是較久但差別性仍足以辨識。

圖五、不同濃度人血樣本（以蒸餾水稀釋）之於 K-M 法與亞甲藍試劑之反應時間比較



註 13：K-M 法在 10^{-5} 前皆有反應，反應時間漸增，而在 10^{-6} 時漸漸失去效力，而亞甲藍法則都持續有效。

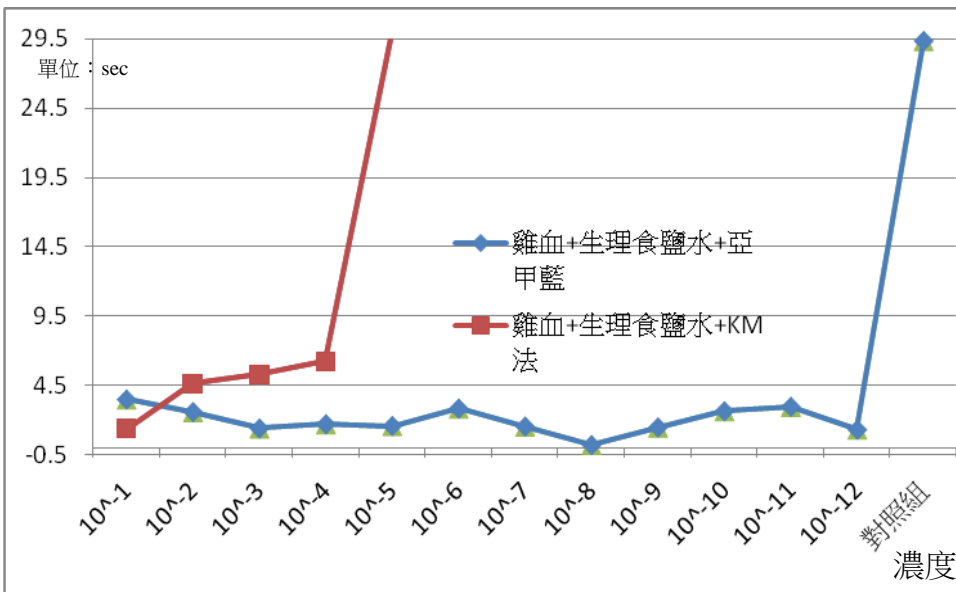
圖六、不同濃度人血樣本（以自來水稀釋）之於 K-M 法與亞甲藍試劑之反應時間比較



註 14：

K-M 法在 10^{-4} 前皆有反應，而在 10^{-5} 時漸漸失去效力，而亞甲藍法則都持續有效。因此我們得知不同的樣品配置出的血液稀釋樣本並不影響過程本身。

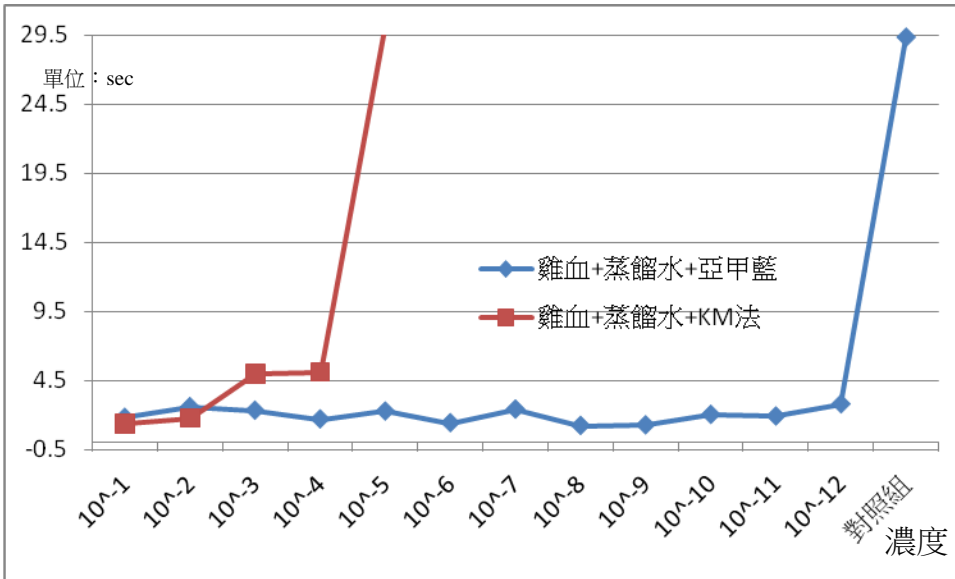
圖七、不同濃度雞血樣本（以生理食鹽水稀釋）之於 K-M 法與亞甲藍試劑之反應時間比較



註 15：

K-M 法於 10^{-4} 時失去其效力。而亞甲藍法仍然持續有效。故此，我們得知以上試劑對人血與雞血皆有反應且無太大差異。

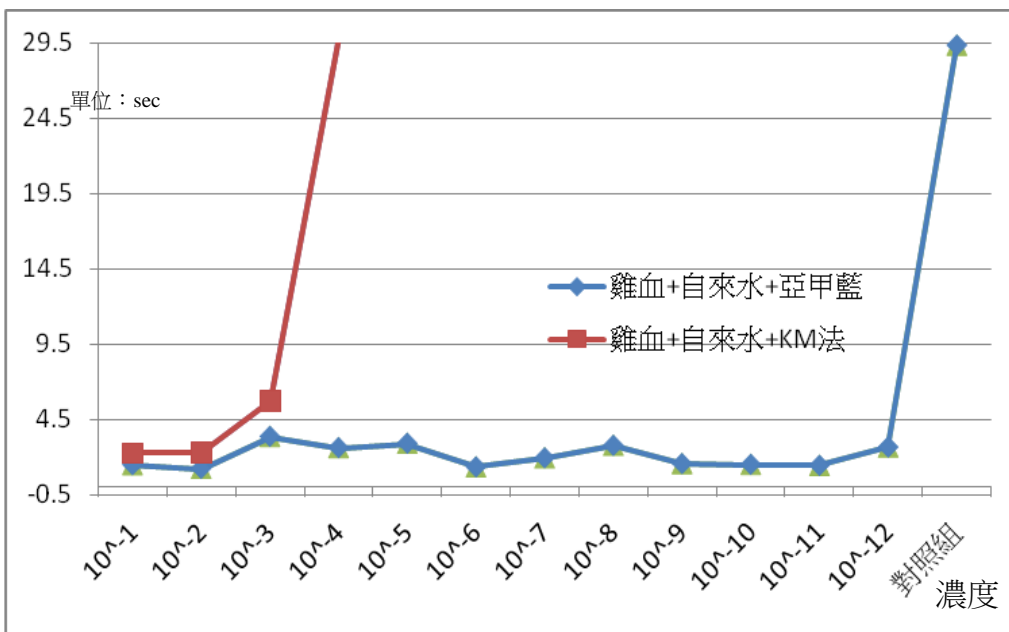
圖八、不同濃度雞血樣本（以蒸餾水稀釋）之於 K-M 法與亞甲藍試劑之反應時間比較



註 16：

K-M 法的反應較久且 10^{-5} 時便已失去其準確性，而亞甲藍法在直到 10^{-12} 時都是呈現一個有效的範圍。

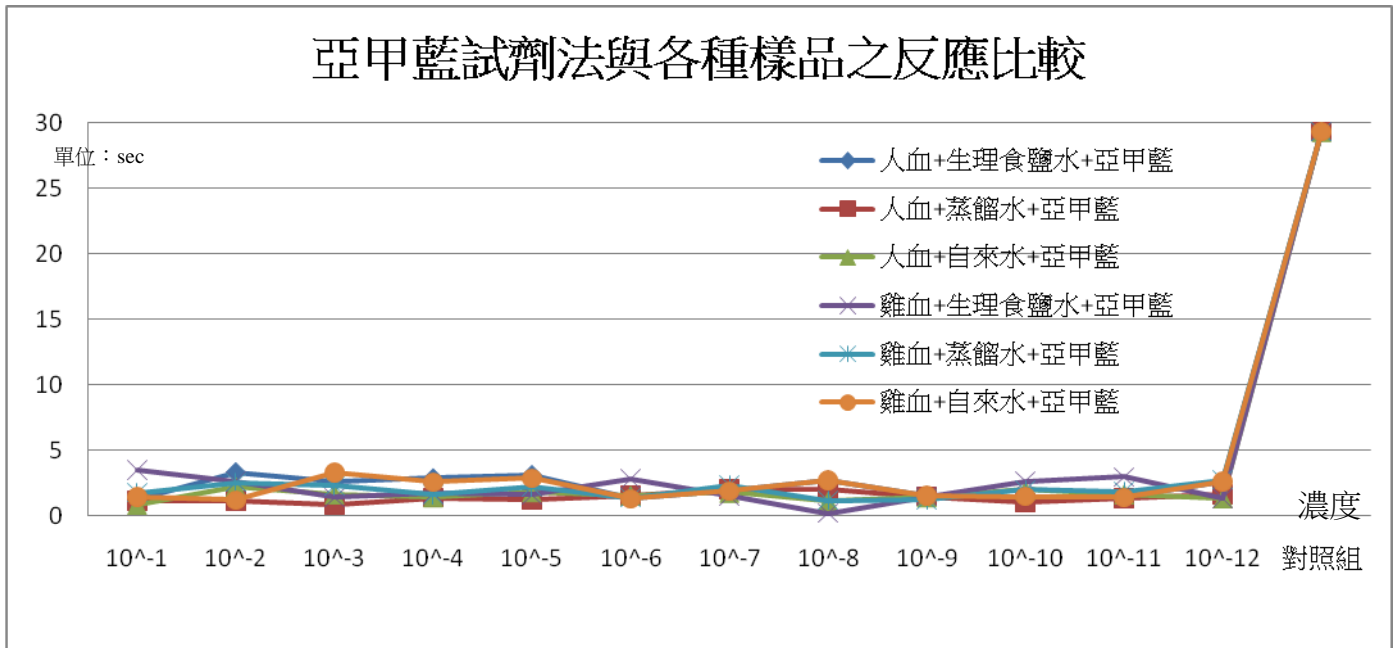
圖九、不同濃度雞血樣本（以自來水稀釋）之於 K-M 法與亞甲藍試劑之反應時間比較



註 17：

酚酞在 10^{-3} 時達到準確度極限，而亞甲藍直至 10^{-12} 仍可有效檢測。

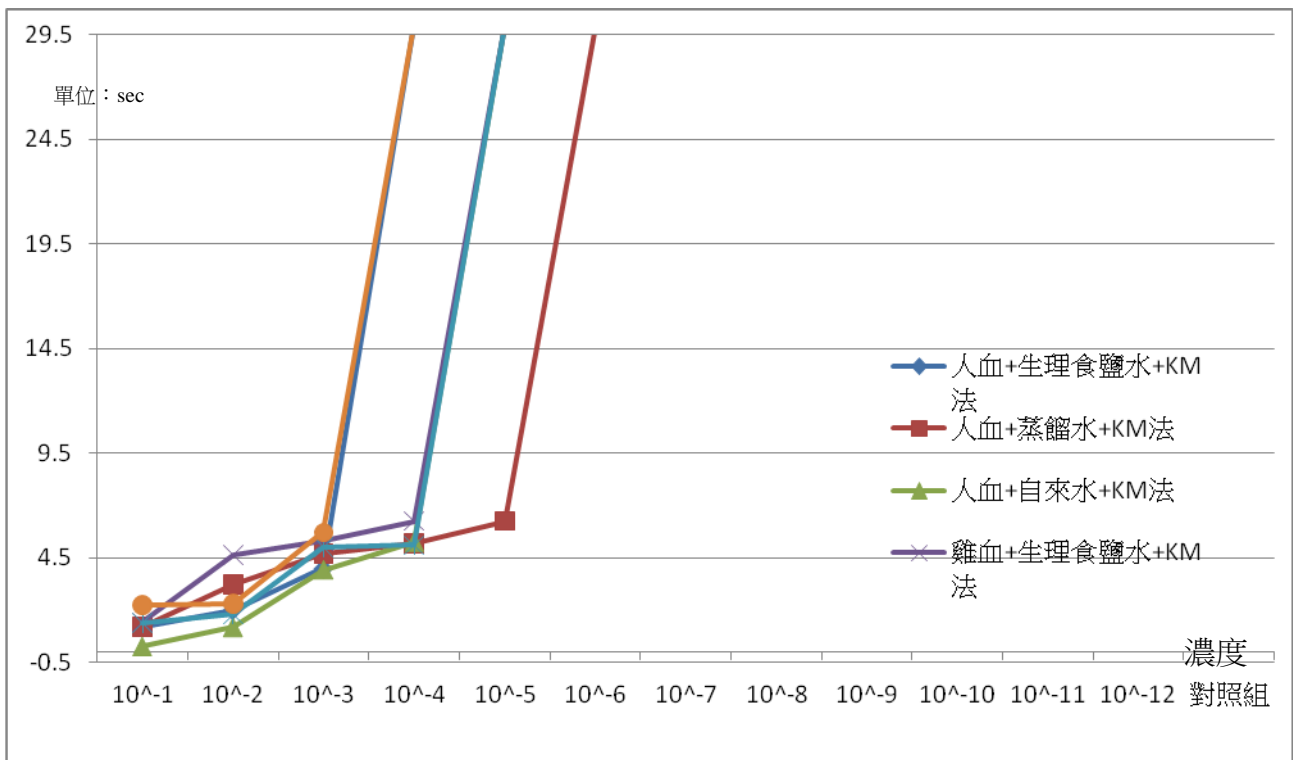
圖十、亞甲藍試劑法與各種樣品之反應比較



註 18：

我們從上圖中可以得知亞甲藍對於各種樣品含血與否的辨識度非常明顯，而不同的樣本對其結果並沒有太大的影響。

圖十一、酚酞法（Kastle-Meyer 法）與各種樣品之反應比較



註 19：

我們從上圖中可得知酚酞法的精確極限約在 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ ，而在稀於 10^{-5} 後皆無法辨識。

陸、討論

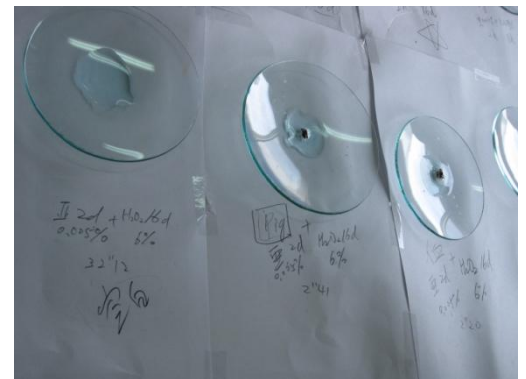
最初實驗目的為研發新的試劑替代酚酞法作為血跡預備試驗，由實驗的結果我們做了以下歸納：

一、除了警察機關現今使用的酚酞法以外，亞甲藍亦可分辨是否為血液

我們在定性階段時發現了亞甲藍是個可行且是尚未被發現的新試劑，因此定量階段針對亞甲藍進行實驗。我們發現到在適當的比例（0.005%亞甲藍：6% H_2O_2 = 1:7 最適）下亞甲藍分辨是否為血液的成效甚至比警察機關提供之酚酞比例效果更趨顯著（紅色易與原血混淆），且亞甲藍較為便宜，因此可以取代酚酞法。

二、血液是有助於指示劑變色的催化功能，因此假若沒有血仍會緩慢變色

在實驗過程以及與空白對照組比對發現各種血液僅僅是作為催化劑的功能，我們的實驗結果顯示在沒有血液的情況下，從滴下指示劑到完全變色耗費約莫 24.25s 到 42s 的時間，而在有血液的情況下，則耗費約莫 2~8s 的時間。其中差別度甚大，可做為判斷依據，而參考刑事局所定下酚酞變色之時間標準，我們把亞甲藍變色時間定為 15sec 以下為含有血液；15sec 含以上為不含血液。



三、此類指示劑僅能分辨含有物質是否為血液，並不能分辨是否為人血

依據我們的實驗結果顯示，不論是亞甲藍亦或酚酞都只能分辨內含血液與否，並不能分辨出內含的到底有無人血的成份。我們之後經過查證酚酞的部份也的確是如此，而我們推論亞甲藍的部份是因為不論是人血或動物血皆有血紅蛋白（另一推論指出可能是兩者皆有過氧化氫酶，有待進一步實驗確證），而我們未來也展望可以找出可分辨內含是否為人血的指示劑。

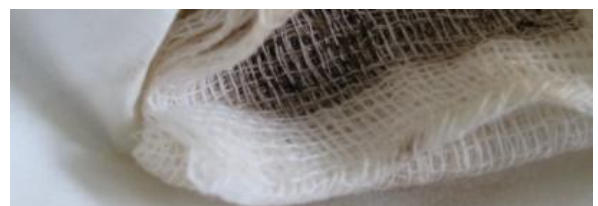


↑ 人血+酚酞（變色）



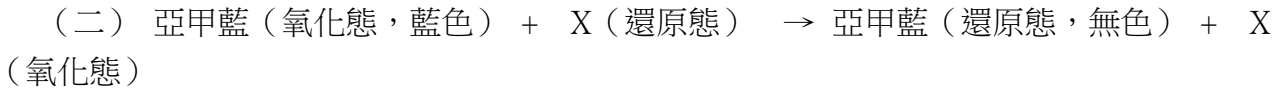
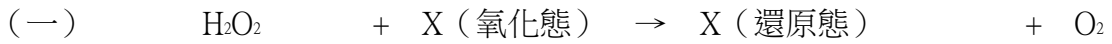
← 猪血+酚酞（變色）

↓ 檳榔汁（無變色）



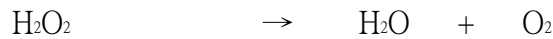
四、反應機構之推論：

一、根據第二、三階段實驗結果，我們推論可能的反應機構如下：

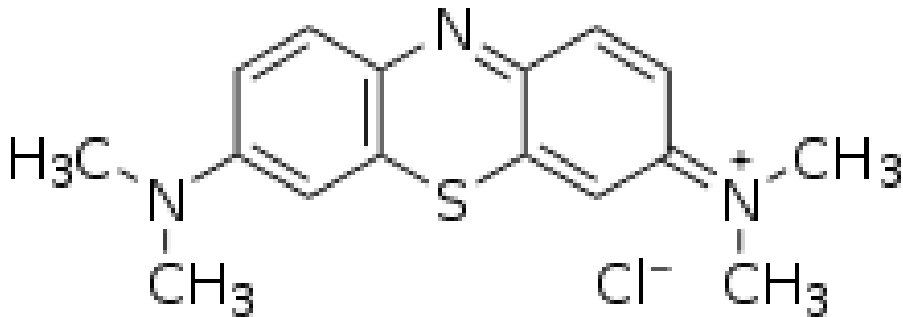


但是，血中只加亞甲藍，不會變色，所以 H_2O_2 的加入會導致 $X(\text{還原態})$ 的產生。並且，上述反應機構中的 $X(\text{氧化態})$ 就如同當催化劑，所以反應前的血液中可能有 $X(\text{氧化態})$ 。另外，上述反應發生的同時尚有一個反應也會進行，其反應如下：

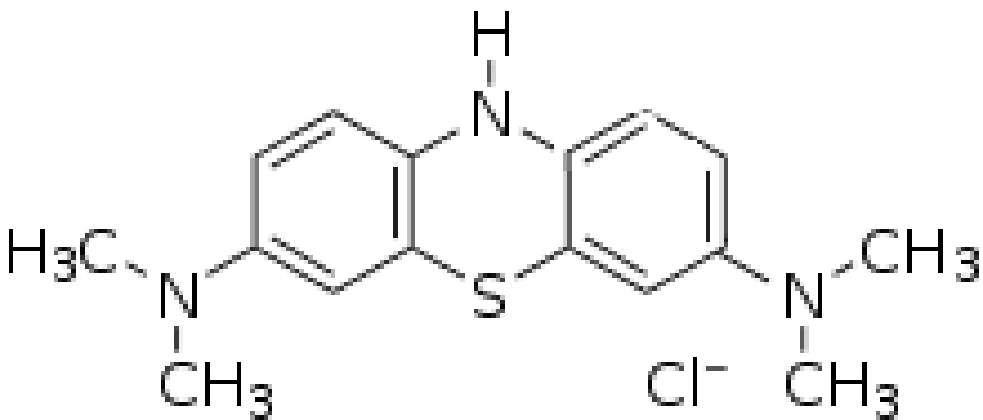
過氧化氫酶



二、由亞甲藍結構來探討反應機構：

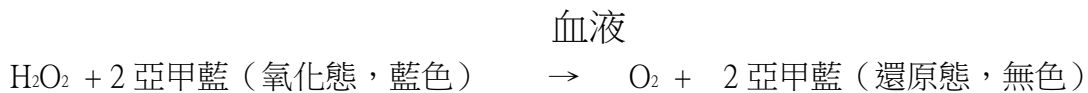


亞甲藍（氧化態，藍色）



亞甲藍（還原態，無色）

H_2O_2 使亞甲藍（氧化態，藍色）得到 H 生成亞甲藍（還原態，無色），血液扮演催化劑的角色。可能的反應方式如下：



五、靈敏度之比較

- (一) 由靈敏度之比較實驗中我們得知亞甲藍的靈敏度相較於酚酞法高，約為 $1:10^{12}$ 的靈確度，而酚酞法僅有到 $1:10^3\sim 10^5$ 的靈敏度，因此亞甲藍的靈敏度在比較下略勝一籌。
- (二) 由以上實驗中我們亦知道各式稀釋水（生理食鹽水、蒸餾水、自來水）下的稀釋結果皆不會讓亞甲藍或酚酞的辨識度產生不同的反應，因此用於混合溶液下的辨識度是非常具有實用性的。
- (三) 由以上結果更可論證血中之 X 物質應為催化劑。

六、實驗誤差之可能來源

實驗之誤差可能為：血液樣本之取得可能已部分凝固，雖已儘早稀釋，但可能仍有誤差值。不過稀釋濃度為 10 倍關係，因此實驗結果並未受到影響，仍具有可信度且效果顯著。

柒、結論

- 一、 由人血在不同試劑下滴入雙氧水的反應，我們得知：
 - (一) 在有血液的情況下，加上適量雙氧水的適量亞甲藍會呈現接近無色，而若沒有血液的情況則呈現接近無色的時間加長。
 - (二) 實驗中的其餘指示劑（廣用試劑、甲基紅試劑、甲基橙試劑、BTB 試劑、石蕊試劑）與血液未有顯著的變色反應。

- 二、 由實驗中找出的亞甲藍與雙氧水之最適比例，我們得知：
 - (一) 假若雙氧水太多則會產生太多氣泡造成觀測不易
 - (二) 假若亞甲藍太多則會造成變色不完全而無法變色
 - (三) 我們發現最適合的比例為 0.005%亞甲藍：6% H_2O_2 =1:7

- 三、 由靈敏度之比較實驗，我們得知：
 - (一) 亞甲藍的靈敏度極限約為 10^{-12} ，而酚酞的靈敏度極限則約為 10^{-4} 。
 - (二) 不論所對水稀釋之水的種類為何，皆不會影響非對照組成陽性反應。
 - (三) 亞甲藍的靈敏度較高。

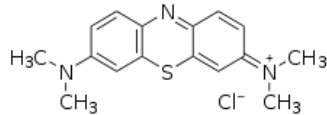
- 四、 研發實驗結果顯示，我們已成功地找到新的試劑（亞甲藍）法能夠取代酚酞法作為血跡檢驗之預備試驗。亞甲藍較容易配製、檢驗有無血跡時靈敏度亦較酚酞高，且亞甲藍顏色不易與原血混淆，此三大優點顯示，新試劑亦可用於初步血液檢驗。因此，本研發實驗成果除了發表於科展之外，我們將申請專利，使新試劑得以推廣應用。

捌、參考資料及其他

一、**血跡檢驗的方法**。 <http://tieba.baidu.com/f?kz=940402706>

二、**Methylene blue (亞甲藍)**。取自：http://en.wikipedia.org/wiki/Methylene_blue

亞甲藍



亞甲藍 (Methylene blue)，又稱亞甲基藍、次甲基藍、次甲藍、美藍、品藍，是一種芳香雜環化合物。被用作化學指示劑、染料、生物染色劑和藥物使用。分析化學中用亞甲藍作為氧化還原反應滴定的指示劑。

三、Susan Budavari (1989) *The MERCK INDEX: Phenol phthalein (氧化態的酚酞) & Phenol phthalin (還原態的酚酞)* (p. 1150~1151)

四、程曉桂、林正倫 (2007)。這真的是人血嗎? 「人血檢測卡」係利用抗原、抗體反應的專一性，來分辨該血跡是否為人血或其他動物血，**CIB雙月刊**，38~39， July-August。

五、寧永成 (1998)。 **有機化合物結構鑑定與有機波譜學**，〈434~452頁〉。

六、游瑞成 (1998)。 **有機光譜學** 〈300頁〉。台北市。

七、詢價：

(一) 景明化工提供

1. 亞甲藍：915元/25g，Acros。
2. 還原態的酚酞 (Phenol phthalin)：3805元/25g，M.P.。
氧化態的酚酞 (Phenol phthalein)：2320元/1g，Acros。

(二) 友和股份有限公司提供

- 還原態的酚酞 (Phenol phthalin)：1715元/5g，Sigma。

【評語】 030204

本實驗應用亞甲藍與 H_2O_2 等檢驗血液的含量，其靈敏度比較傳統的酚酞法高出 10 的 5 次方以上，方法有創意，且突出，值得推廣，唯將來須進一步解決的有亞甲藍如何與血液反應？另外即是該方法是否具有選擇性，還是很容易受環境干擾，造成誤判？