

中華民國第 56 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高級中等學校組 化學科

佳作

050201

微量過氧化氫之檢測

學校名稱：國立臺中女子高級中學

作者： 高二 吳宜亭 高二 蔡承臻	指導老師： 吳榮修
-------------------------	--------------

關鍵詞：紫質、過氧化氫

摘要

本研究目的在找出檢測過氧化氫含量的新方法，並以此檢測待測物所含的過氧化氫含量。我們首先找出能與雙氧水呈現明顯反應的物質——紫質，以 UV-vis 分光光度計檢測不同紫質加入定當量數之過氧化氫後的吸光度變化，結果顯示 CoOMTPP 之靈敏度最佳，且呈現線性變化，可用於定量極微量的過氧化氫。

而另一紫質 CoOETPP 被氧化後會產生明顯的顏色變化，故可嘗試用來定性分析過氧化氫溶液。我們將 CoOETPP 製成試紙，觀察其吸附效果及滴加過氧化氫後的顏色變化情形。結果顯示，此試紙可檢測濃度 3.54ppm 以上的過氧化氫溶液，優於市售碘化鉀澱粉試紙之檢測極限 25ppm。

壹、研究動機

過氧化氫俗稱雙氧水，具漂白、防腐等效果，廣泛地被食品加工業添加在豆類製品、麵類中。過氧化氫在化學與醫藥工業常作為氧化劑、消毒劑。在生物醫學上，過氧化氫在體液裡的濃度提供醫療診斷如癌症預測、疾病指標、免疫細胞活化等珍貴訊息。然而高濃度雙氧水對人體眼睛、皮膚具刺激性，影響健康。故雙氧水之偵測及定量在醫學臨床檢驗、細胞代謝與蛋白酶活性研究扮演重要角色。而日常生活中，食安部門為了替消費者嚴謹把關過氧化氫的殘留量，亦需要高效能的過氧化氫檢測物。

過氧化氫能以多種方式檢測，其中將過氧化氫加入細胞色素 P450，以分光光度計檢測吸光值變化為最常用之方式。但細胞色素 P450 取自活體動物內臟，價格高昂，且蛋白質具活性不易保存。而市售碘化鉀澱粉試紙則因依靠肉眼判別顏色變化，不能準確定量，且檢測濃度也受限。因此，我們想要建立精確、穩定、簡易、低成本的過氧化氫偵測方法。

生物學中有提到，存在於血紅素及葉綠素骨架的卟吩(Porphin)易與金屬離子配位，進而被氧化；而其含取代基的結構紫質(卟啉, Porphyrin)可於實驗室中合成。所以我們嘗試著以紫質為研究對象，探討其是否可被過氧化氫氧化，及其被氧化後吸光度、顏色等方面的變化，進而研發出定性與定量過氧化氫的方法。

貳、研究目的

本實驗目的為開發以紫質檢測微量過氧化氫的機制，實驗包含以下幾個部分：

一、利用分光光度計檢測不同紫質對過氧化氫的吸光值變化

- (一)探討含不同取代基的紫質對過氧化氫之反應變化
- (二)探討含不同中心金屬的紫質對過氧化氫之反應變化
- (三)建立過氧化氫之含量檢量表

二、肉眼觀察紫質與過氧化氫反應之顏色變化

- (一)將藥品配成試劑後觀察其與過氧化氫之反應變化
- (二)使藥品吸附在紙上觀察其與過氧化氫之反應變化

參、研究設備及器材

一、研究儀器及器材

UV-vis 分光光譜儀 50 conc(圖一)，光譜儀超低溫控模組(圖二)，超音波震盪機，電子天平，玻璃針筒 (100 μ L、250 μ L、500 μ L)，容量瓶(1 mL、2 mL)。

二、實驗藥品

(一)紫質：

FeTPPCL(分子量 704.0/黑色粉末)，FeTMPCl (分子量 455.7/黑色粉末)，
FeOETPPCl (分子量 925.3/黑色粉末)，FeOMTPPCL (分子量 816.2/黑色粉末)，
CoOETPP (分子量 928.4/黑色粉末)，CoOMTPP (分子量 783.9/黑色粉末)。

(二)溶劑：

二氯甲烷(CH_2Cl_2)、丙酮(CH_3COCH_3)

(三)其他：

過氧化氫水溶液(50%)，咪唑(分子量 68.1/白色片狀結晶)，

三、試紙種類

濾紙、圖畫紙、碘化鉀澱粉試紙



(圖一)



(圖二)

肆、研究過程或方法

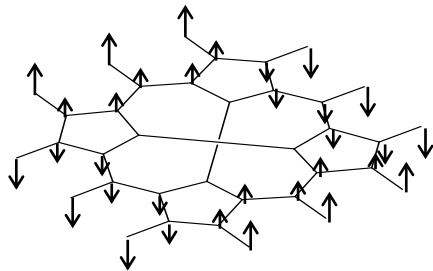
一、文獻探討

(一)紫質(porphyrin，又名卟啉)

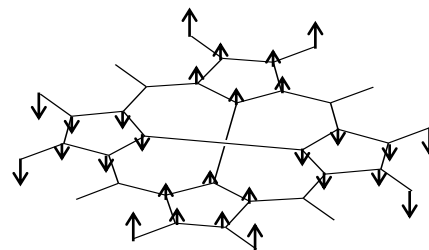
紫質是一類由吡咯類亞基的 α -碳原子通過次甲基 (=CH-) 互聯而形成的大分子雜環化合物。其母體化合物為卟吩 (porphin, $C_{20}H_{14}N_4$)，有取代基的卟吩即稱為紫質。

卟吩多以與金屬離子配位的形式存在於自然界中，如與鎂配位結構的葉綠素以及與鐵配位的血紅素，可以輕易地與氧結合。

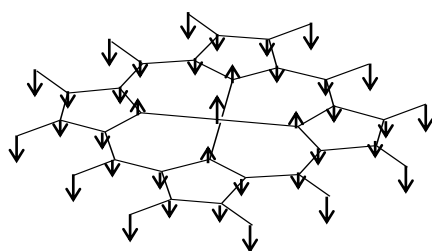
卟吩為平面分子，而紫質若搭配不同取代基及中心金屬，會產生形狀改變，產生不同構形，包含馬鞍形、波浪形、圓拱形及皺褶形。



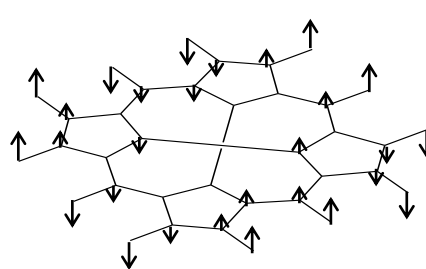
(圖三)皺褶形



(圖四)馬鞍形

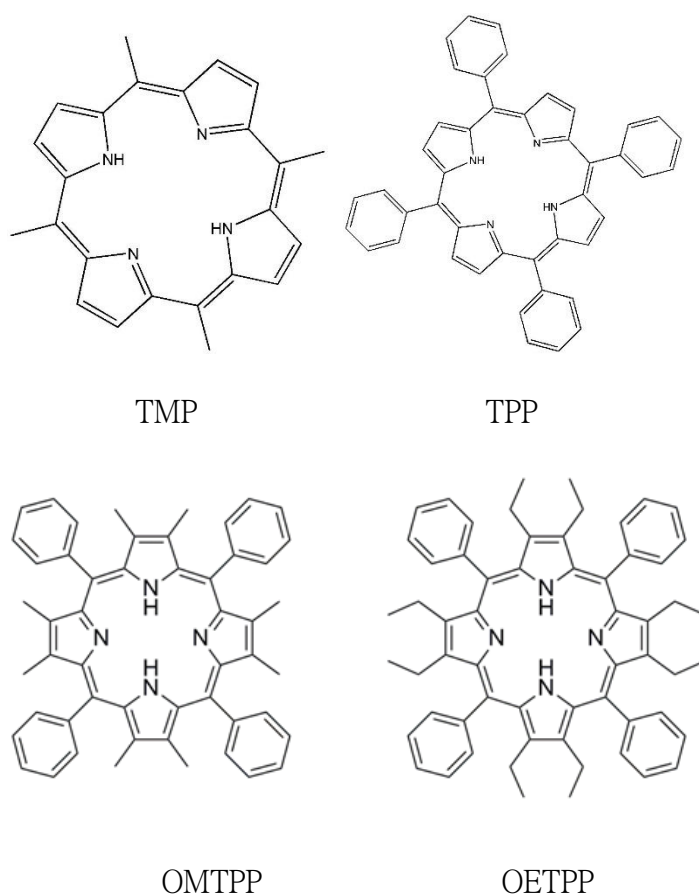


(圖五)圓拱形



(圖六)波浪形

本實驗所採用的紫質如下:

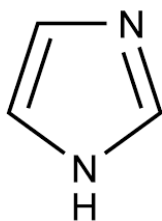


(圖七)

其中，TMP 及 TPP 為平面分子，OMTTP 及 OETPP 則為馬鞍形變形分子。

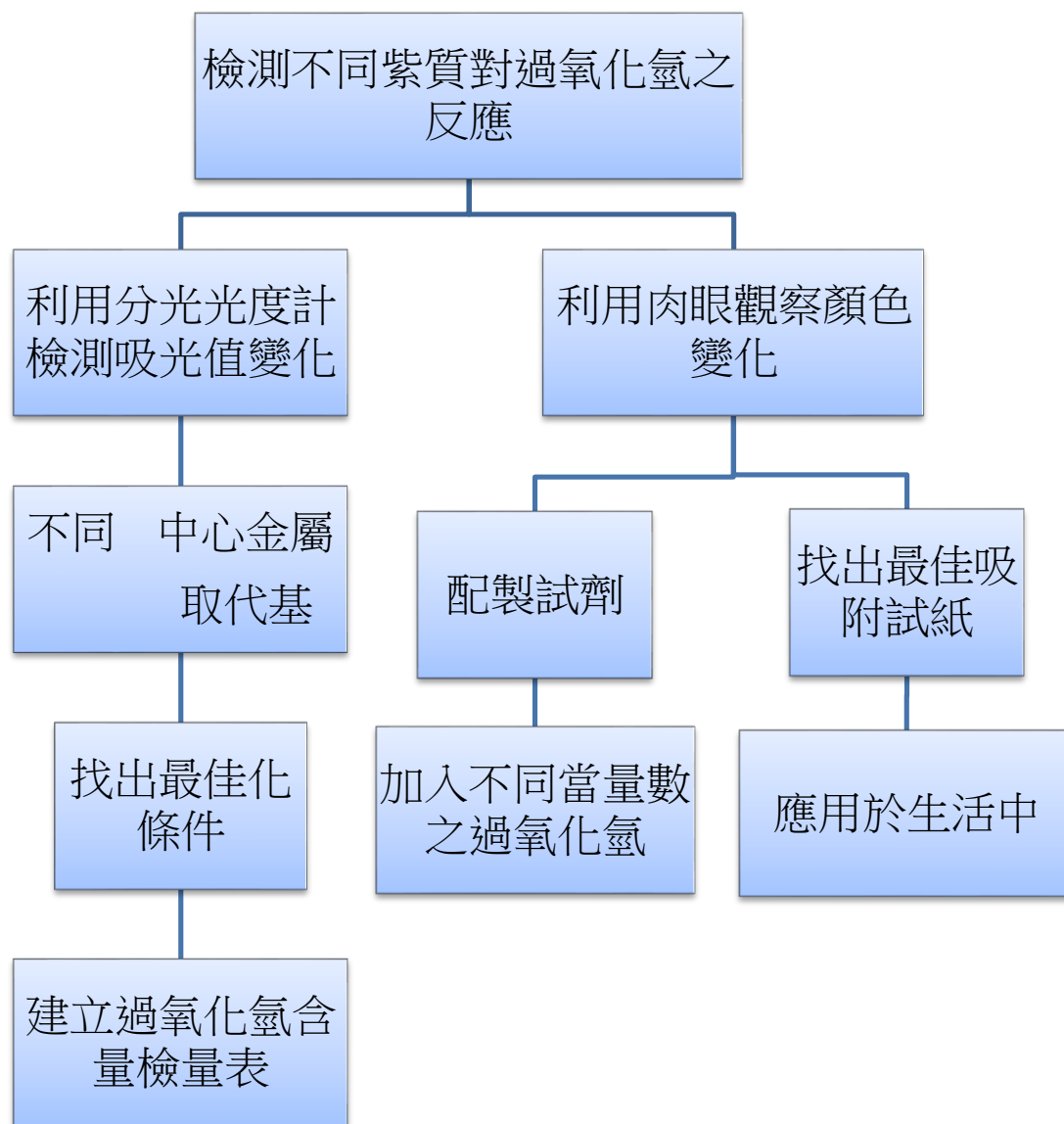
(二)咪唑(Imidazole, $C_3H_4N_2$)

咪唑是一個五元雜環芳香性有機化合物，為白色或淺黃色固體結晶。文獻¹指出，當 CoOETPP 被氧化後與咪唑結合，顏色會由紅棕色變為綠色，所以其成為我們嘗試製作過氧化氫檢量試紙的關鍵。



(圖八)咪唑

二、研究流程



三、利用分光光度計檢測各種紫質與過氧化氫的反應變化

(一)實驗一:FeTPPCL、FeTMPCl

*紫質溶液母液: $1.3 \times 10^{-4} \text{M}$
秤取 FeTPPCL 粉末 1mg 溶於 11mL 二氯甲烷
秤取 FeTMPCl 粉末 1mg 溶於 17mL 二氯甲烷
*測 UV 光譜之紫質溶液: $1.3 \times 10^{-5} \text{M}$
量取 $400 \mu\text{L}$ 之紫質母液，加入二氯甲烷至 4mL
*過氧化氫溶液:分別配製 1eq，10eq，100eq，
1000eq/ $100 \mu\text{L}$ 的過氧化氫丙酮溶液
(1eq 換算為 5.2×10^{-9} 莫耳)

- 1.分別測量 FeTPPCL、FeTMPCl $1.18 \times 10^{-5} \text{M}$ 紫質溶液的吸光度全譜圖
- 2.將 1eq 之過氧化氫($100 \mu\text{L}$)分 10 次打入紫質溶液，逐次測量吸光度變化
- 3.改變過氧化氫當量數(10eq、100eq、1000eq)，重複上述步驟

(二)實驗二:FeOETPPCL、FeOMTPPCL

*紫質溶液母液: $1.3 \times 10^{-4} \text{M}$
秤取 FeOETPPCL 粉末 1mg 溶於 8.5mL 二氯甲烷
秤取 FeOMTPPCL 粉末 1mg 溶於 9.5mL 二氯甲烷
*測 UV 光譜之紫質溶液: $1.3 \times 10^{-5} \text{M}$
量取 $400 \mu\text{L}$ 之紫質母液，加入二氯甲烷至 4mL
*過氧化氫溶液:配製 1eq/ $100 \mu\text{L}$ 的過氧化氫丙酮溶液
(1eq 換算為 5.2×10^{-9} 莫耳)

- 1.分別測量 FeOETPPCL、FeOMTPPCL $1.18 \times 10^{-5} \text{M}$ 紫質溶液的吸光度全譜圖
- 2.將 1eq 之過氧化氫($100 \mu\text{L}$)分 10 次打入紫質溶液，逐次測量吸光度變化

(三)實驗三:CoOETPP、CoOMTPP

*紫質溶液母液: $1.3 \times 10^{-4} \text{M}$
秤取 CoOETPP 粉末 1mg 溶於 8.5mL 二氯甲烷
秤取 CoOMTPP 粉末 1mg 溶於 10mL 二氯甲烷
*測 UV 光譜之紫質溶液: $1.3 \times 10^{-5} \text{M}$
量取 $400 \mu\text{L}$ 之紫質母液，加入二氯甲烷至 4mL
*過氧化氫溶液:配製 0.1eq, 1eq/100 μL 的過氧化氫丙酮溶液(1eq 換算為 5.2×10^{-9} 莫耳)

- 1.分別測量 CoOETPP、CoOMTPP $1.18 \times 10^{-5} \text{M}$ 紫質溶液的吸光度全譜圖
- 2.將 1eq 之過氧化氫($100 \mu\text{L}$)分 10 次打入紫質溶液，逐次測量吸光度變化
3. 改變過氧化氫當量數為 0.1eq，重複上述步驟
- 4.將所得吸光譜圖製成檢量表

(四)實驗四:CoOETPP+咪唑

*紫質溶液母液: $1.3 \times 10^{-4} \text{M}$
秤取 CoOETPP 粉末 1mg 溶於 8.5mL 二氯甲烷
*測 UV 光譜之紫質溶液: $1.3 \times 10^{-5} \text{M}$
量取 $400 \mu\text{L}$ 之紫質母液，加入二氯甲烷至 4mL
*咪唑溶液:1eq
秤取咪唑固體 8.2mg 溶於 10mL 二氯甲烷，稀釋至 10^6 倍後取 $100 \mu\text{L}$ 之稀釋液
*過氧化氫溶液:配製 1eq/100 μL 的過氧化氫丙酮溶液(1eq 換算為 5.2×10^{-9} 莫耳)

- 1.將 1eq 咪唑溶液加入待測之 CoOETPP $1.18 \times 10^{-5} \text{M}$ 溶液中
- 2.測量加入咪唑之 CoOETPP 紫質溶液的吸光度全譜圖
- 3.將 1eq 之過氧化氫($100 \mu\text{L}$)分 10 次打入紫質溶液，逐次測量吸光度變化

四、肉眼觀察紫質與過氧化氫反應之顏色變化

(一)將藥品配成試劑後觀察其與過氧化氫之反應變化

前置步驟:

- *秤取 CoOETPP 粉末 1mg 溶於 10mL 二氯甲烷，將其等分為 10 小瓶，抽乾溶劑，即可得 10 瓶 0.1mg 之 CoOETPP (0.1mgCoOETPP 對應之過氧化氫 1eq 為 1.08×10^{-7} 莫耳)
- *秤取咪唑固體 7.6mg 溶於 10mL 二氯甲烷，稀釋至 1000 倍後取 10mL 之稀釋液(溶液 I)
- *量取 60 μ L 之 50%過氧化氫溶液，以丙酮稀釋至 1000 倍後取 10mL 之稀釋液(溶液 II)

實驗五:

1. 取四瓶 0.1mg CoOETPP，各溶於 2mL 二氯甲烷中，分別標示①②③④
2. 於②④中各加入 100 μ L 之溶液 I (含與 CoOETPP 等莫耳數之咪唑)
3. 於③④中各加入稀釋 10 倍後之 10 μ L 溶液 II(含 1eq 之過氧化氫)
4. 觀察顏色變化

實驗六:

1. 取六瓶 0.1mg CoOETPP，各溶於 1mL 二氯甲烷中，其中五瓶標示①②③④⑥，未標示之一瓶為對照組
2. 於①②③④⑥中各加入 100 μ L 之溶液 I (含與 CoOETPP 等莫耳數之咪唑)
3. 於①中加入稀釋 10 倍後之 10 μ L 溶液 II(含 1eq 之過氧化氫)
4. 於②中加入 100 μ L 之溶液 II(含 100eq 之過氧化氫)
5. 於③中加入稀釋 100 倍後之 50 μ L 溶液 II(含 0.5eq 之過氧化氫)
6. 於④中加入 10 μ L 之溶液 II(含 10eq 之過氧化氫)
7. 於⑥中加入稀釋 100 倍後之 10 μ L 溶液 II(含 0.1eq 之過氧化氫)
8. 觀察顏色變化

(二)使藥品吸附在紙上觀察其與過氧化氫之反應變化

前置步驟:

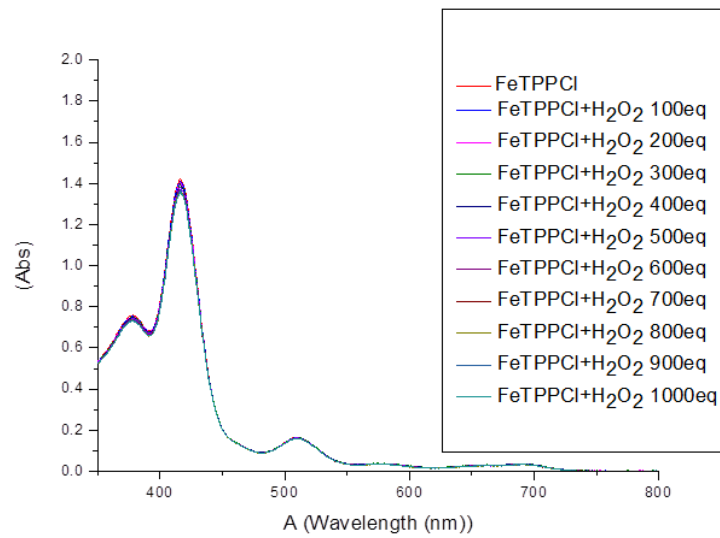
- *秤取 CoOETPP 粉末 1mg 溶於 10mL 二氯甲烷，將其等分為 10 小瓶，抽乾溶劑，即可得 10 瓶 0.1mg 之 CoOETPP
- *秤取咪唑固體 7.6mg 溶於 10mL 二氯甲烷，稀釋至 1000 倍後取 10mL 之稀釋液(溶液Ⅲ)
- *量取 50 μ L 之 50%過氧化氫，以丙酮反覆稀釋至 2×10^6 倍後取 10mL 之稀釋液(溶液Ⅳ)(濃度約 3.54ppm)
- *將碘化鉀澱粉試紙浸泡於去離子水中，每一小時更換一次水，共浸泡五小時，以過氧化氫確認其上藥品已完全去除

實驗七

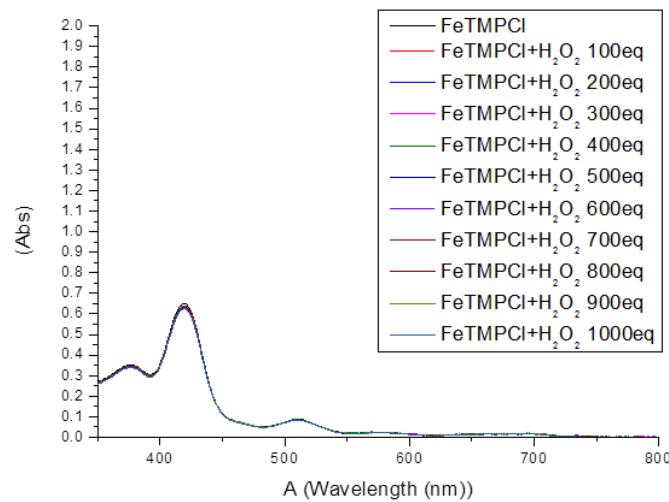
1. 取三瓶 0.1mgCoOETPP，各溶於 1mL 二氯甲烷中
2. 分別在三瓶中加入 100 μ L 之溶液Ⅲ
3. 在三瓶溶液中分別放入一張 0.5cm \times 2cm 之濾紙，圖畫紙，處理後之碘化鉀澱粉試紙
4. 利用真空幫浦抽乾二氯甲烷，使 CoOETPP 吸附於紙上
5. 將已吸附藥品之紙張分為兩半，於其中一張上滴加溶液Ⅳ，觀察其顏色變化

伍、研究結果

一、實驗一



(圖九)FeTPPCI+1000eq 過氧化氫(分 10 次加入)

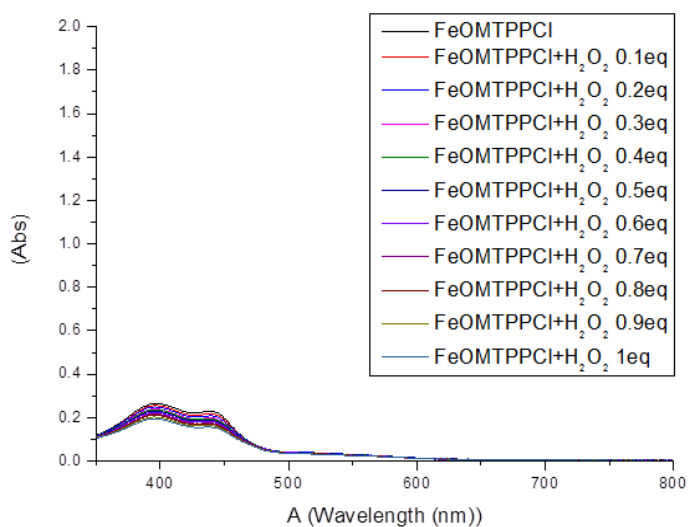


(圖十)FeTMPICI+1000eq 過氧化氫(分 10 次加入)

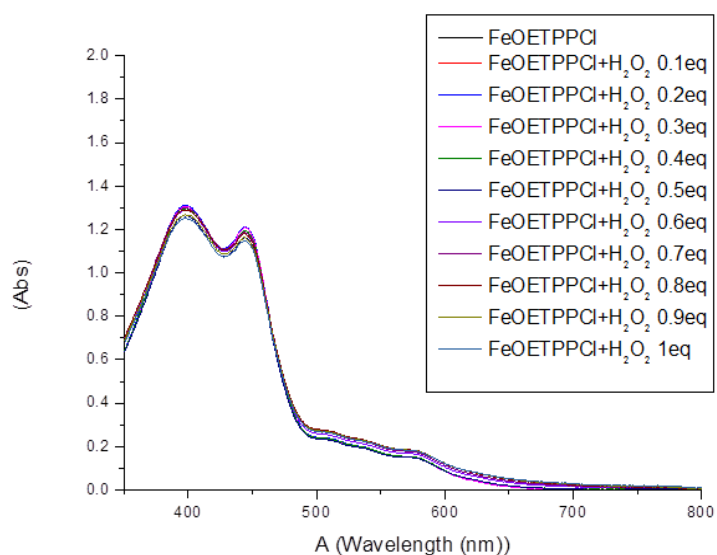
本實驗中，我們探討兩種平面分子 FeTPPCI、FeTMPICI 對過氧化氫的反應。

我們將 1eq, 10eq, 100eq, 1000eq 之過氧化氫各分十次打入紫質溶液觀察吸光度變化，但直到打入 1000eq 之過氧化氫時，光譜圖才有細微變化，故此兩種紫質對過氧化氫的靈敏度變化不佳。

二、實驗二



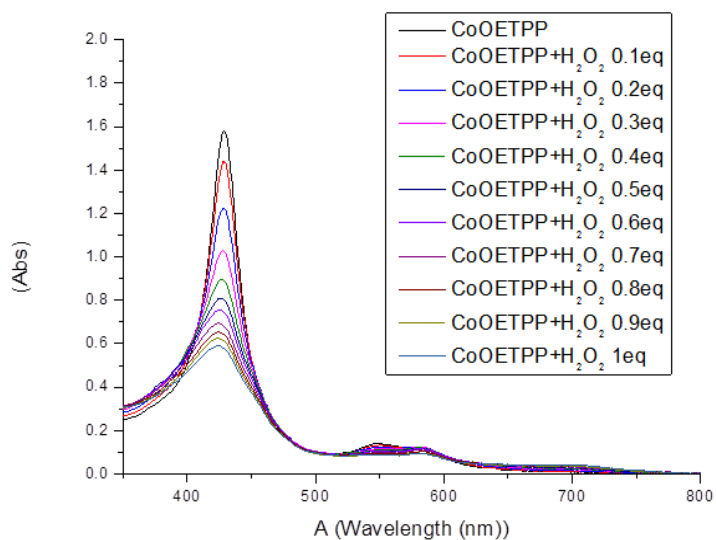
(圖十一)FeOMTPPcI+1eq 過氧化氫(分 10 次加入)



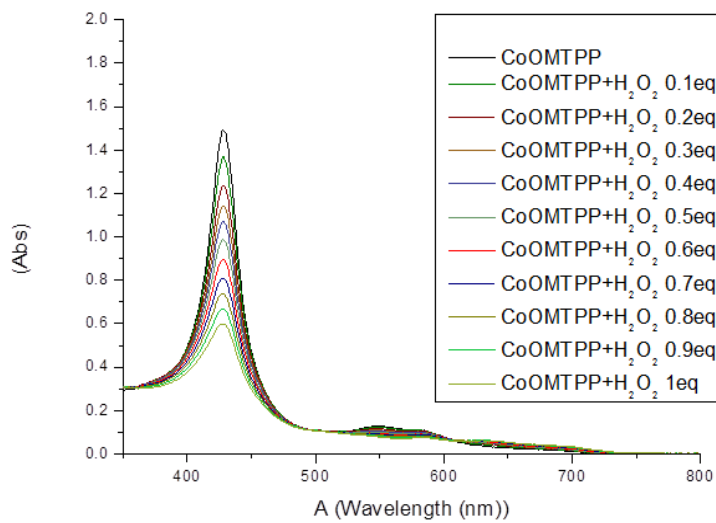
(圖十二)FeOETPPcI+1eq 過氧化氫(分 10 次加入)

本實驗中，我們改以具馬鞍形變形的 FeOETPPcI、FeOMTPPcI 作為探討對象。此次將 1eq 之過氧化氫分十次打入紫質溶液，吸光度即產生變化，但變化幅度仍不大。

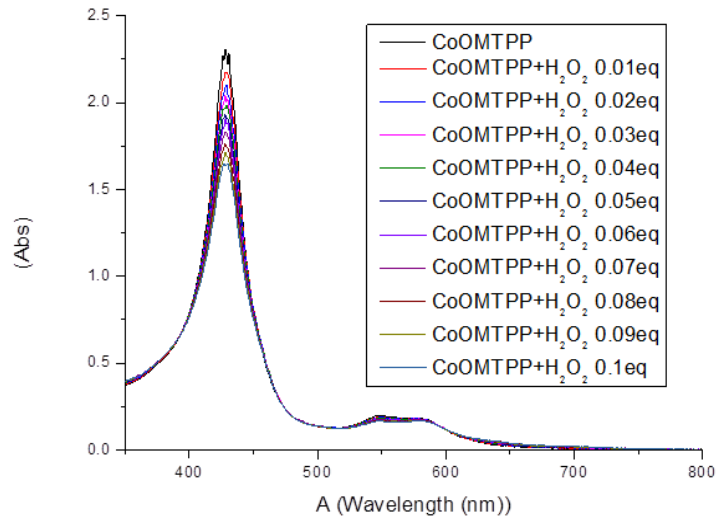
三、實驗三



(圖十三)CoOETPP+1eq 過氧化氫(分 10 次加入)

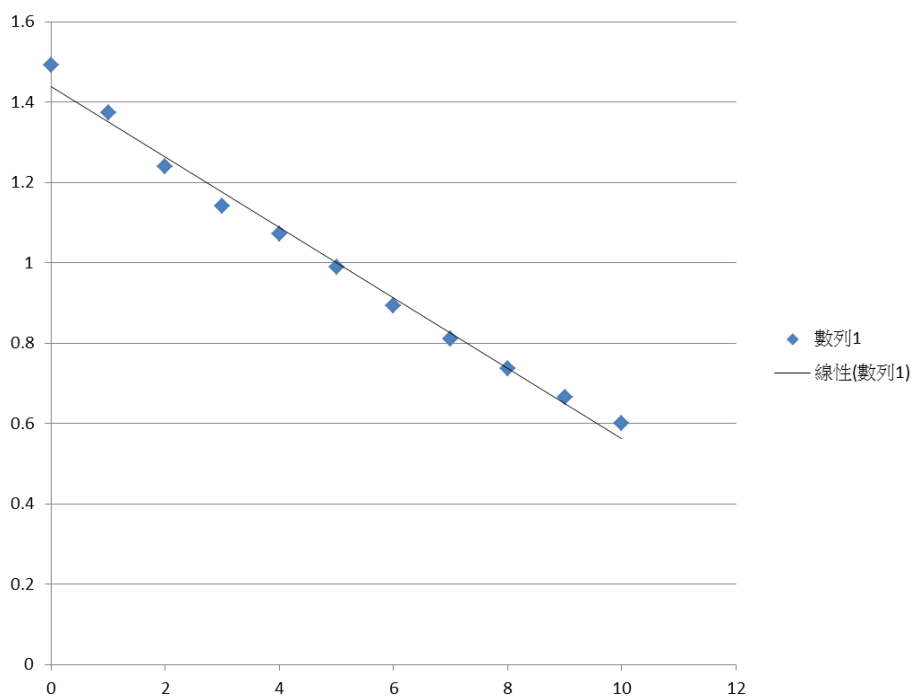


(圖十四)CoOMTPP+1eq 過氧化氫(分 10 次加入)



(圖十五)CoOMTPP+0.1eq 過氧化氫(分 10 次加入)

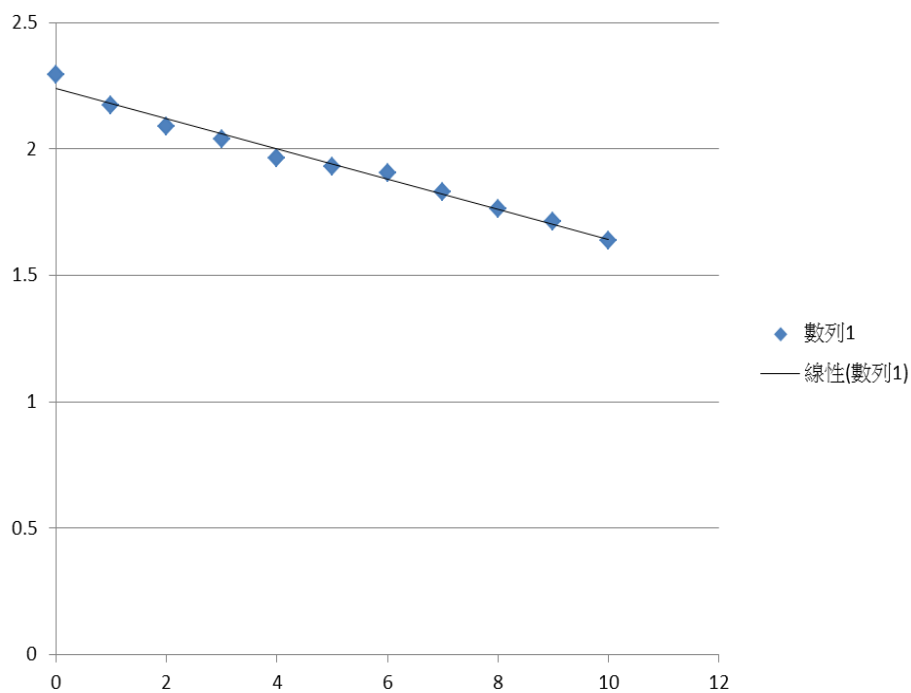
本實驗中，我們改以 Co 為中心金屬的 CoOETPP、CoOMTPP 作為探討對象，發現兩者在分十次打入 1eq 之過氧化氫時，其吸光度皆呈大幅變化。其中 CoOMTPP 在分十次打入 0.1eq 之過氧化氫時，其光譜仍具有規律的變化。因此，我們將 CoOMTPP 吸光曲線之最高點(波長約 428nm)之各點製成線形圖，結果如下:



(圖十六)CoOMTPP+1eq 過氧化氫於波長 428nm 時之各點

$$y = -0.0875x + 1.4385 \quad R^2 = 0.9909$$

(其中 X 座標每單位為 1/10 當量，Y 座標為吸光度)

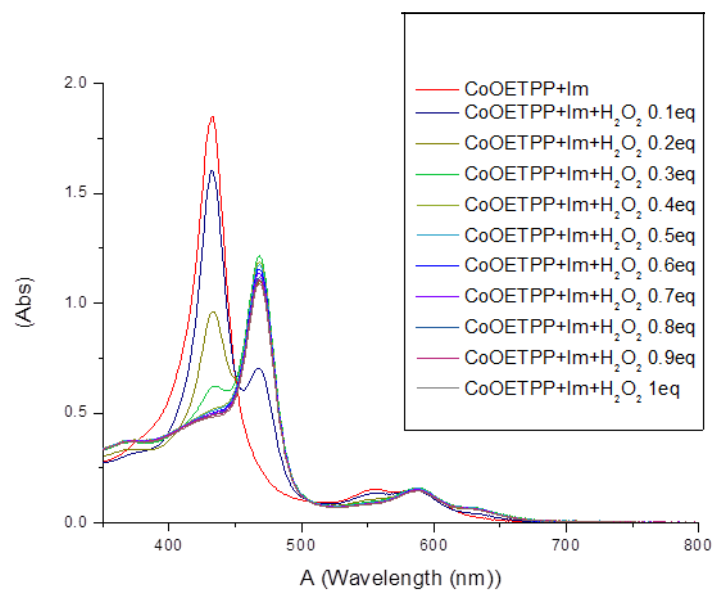


(圖十七)CoOMTPP+0.1eq 過氧化氫於波長 428nm 時之各點

$$y = -0.0597x + 2.2389 \quad R^2 = 0.9836$$

(其中 X 座標每單位為 1/100 當量，Y 座標為吸光度)

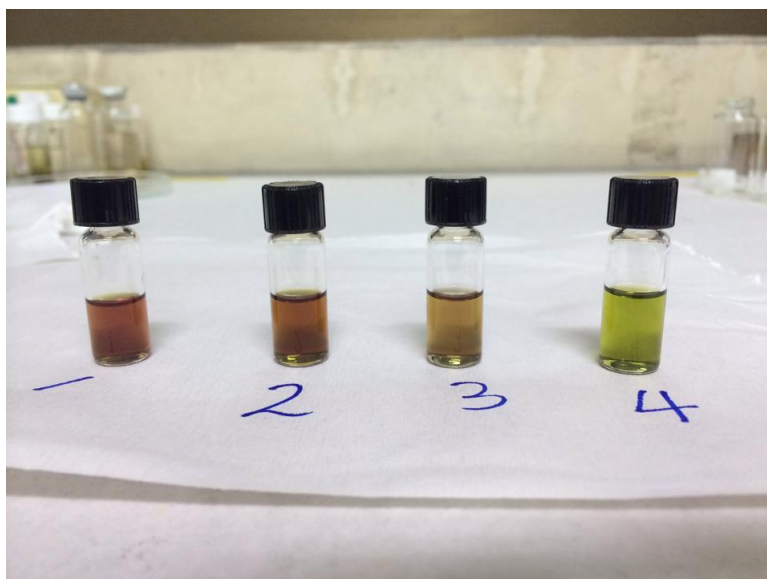
四、實驗四



(圖十八)CoOETPP+咪唑+1eq 過氧化氫(分 10 次加入)

根據文獻¹，當 CoOETPP 被氧化後與咪唑結合，顏色會產生明顯變化。因此，本實驗將 CoOETPP 與等莫耳數之咪唑混合後，再分十次打入 1eq 之過氧化氫，觀察其吸光度之變化，發現其吸光度之峰值明顯往長波長移動，且都在可見光範圍內，故預期此化合物隨著過氧化氫的量增加時，可用肉眼觀察其顏色變化。

五、實驗五



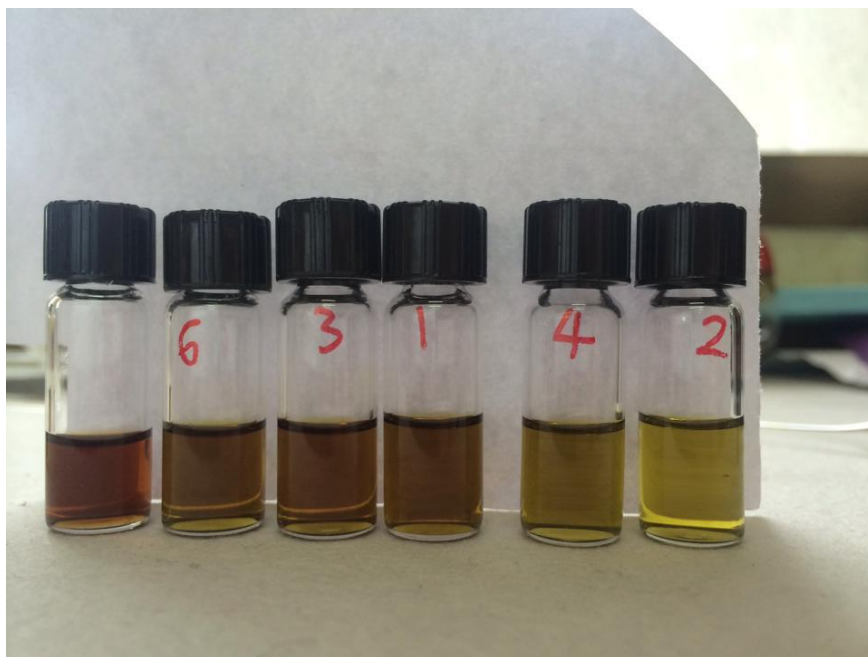
(圖十九)由左而右依次為①②③④

①CoOETPP ②CoOETPP+咪唑 ③CoOETPP+過氧化氫 ④CoOETPP+咪唑+過氧化氫

本實驗探討加入與未加入咪唑之 CoOETPP 與過氧化氫反應後之顏色變化

由圖可見加入過氧化氫後，未加入咪唑之 CoOETPP(③)未變色，而加入咪唑 CoOETPP(④)則變為綠色。由此得知，若要定性觀察是否含有過氧化氫，則需使用加入咪唑之 CoOETPP 進行檢測。

六、實驗六



(圖二十)由左而右依次為對照組、⑥③①④②

對照組: CoOETPP⑥CoOETPP+0.1eq 過氧化氫

③CoOETPP+0.5eq 過氧化氫①CoOETPP+1eq 過氧化氫

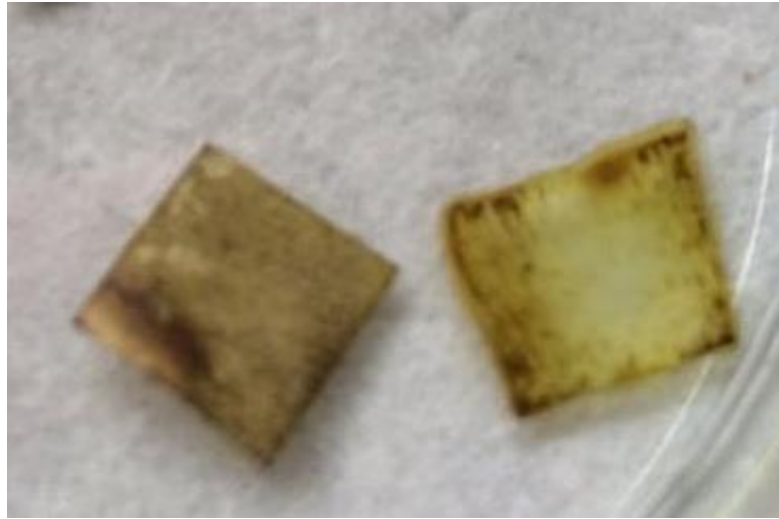
④CoOETPP+10eq 過氧化氫②CoOETPP+100eq 過氧化氫

本實驗探討 CoOETPP 溶液加入不同當量數之過氧化氫後產生的顏色變化。

由圖可見，當加入之過氧化氫當量數漸增時，CoOETPP 的顏色會由紅棕色逐漸變為黃綠色。

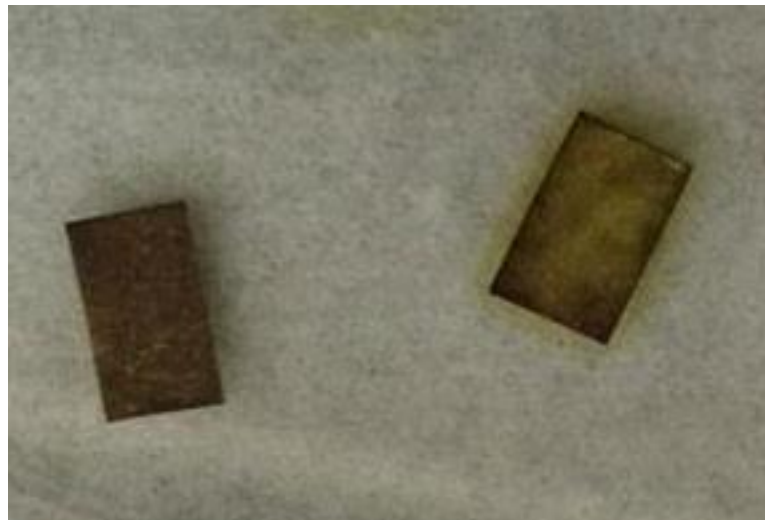
七、實驗七

本實驗將不同材質紙張吸附 CoOETPP 及咪唑後，觀察吸附效果及加入過氧化氫後之顏色變化。



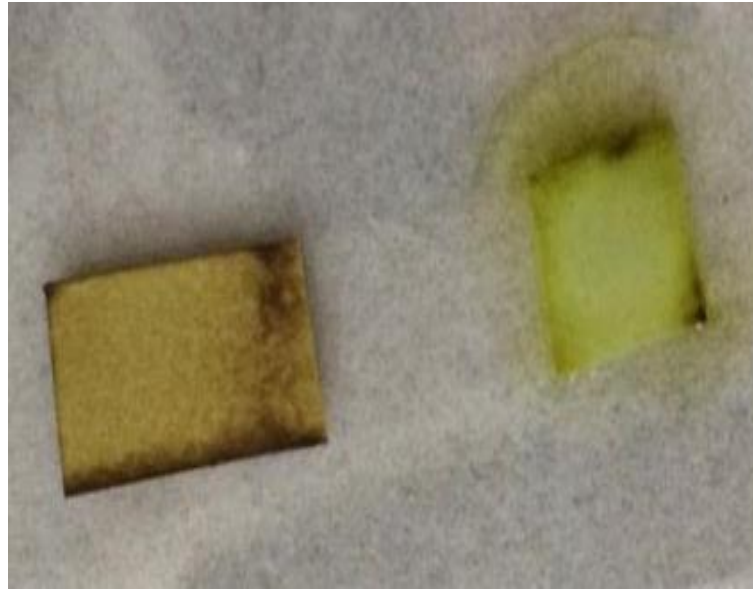
(圖二十一)濾紙

左:吸附紫質，右:吸附紫質後加入過氧化氫



(圖二十二)圖畫紙

左:吸附紫質，右:吸附紫質後加入過氧化氫



(圖二十三) 處理後之碘化鉀澱粉試紙

左:吸附紫質，右:吸附紫質後加入過氧化氫

由圖可見，使用濾紙和圖畫紙作為試紙時，因為吸附性不佳，故滴加過氧化氫前後顏色並無明顯改變。而使用處理後之碘化鉀澱粉試紙時，因吸附性好，低加過氧化氫後顏色由紅棕色變為亮綠色，適合用以作為試紙的材料。經測試，此試紙在滴加 3.54ppm 的過氧化氫後即會變色，優於市售碘化鉀澱粉試紙的 25ppm。

陸、討論

- 一、實驗一中，平面形分子 FeTPPCl、FeTMPCl 對過氧化氫的反應變化靈敏度不高，在加入 1000eq 過氧化氫後才有些微變化，故不適合用於偵測過氧化氫含量。
- 二、實驗二中，具馬鞍形變形的 FeOMTPPCl、FeOETPPCl 在加入 1eq 過氧化氫時即有變化，但變化幅度仍不大，因此我們改以不同中心金屬之紫質進行測試。
- 三、實驗三中，具馬鞍形變形的 CoOETPP、CoOMTPP 在加入 0.1~1eq 過氧化氫時，其吸光值呈現大幅變化。但 CoOETPP 的吸光度最高峰逐漸向短波長偏移，而 CoOMTPP 的吸光度最高峰維持在同波長，且在加入 0.01~0.1eq 當量過氧化氫時仍有規律變化。若將其吸光曲線之最高值製成線性圖， R^2 值達 0.99，為標準線性分布。
- 四、實驗四中，我們參考文獻，將 CoOETPP 加入咪唑後再加入過氧化氫，其吸光曲線之峰明顯往長波常移動，且皆在可見光範圍，故推測其產生能以肉眼辨識之顏色變化。
- 五、實驗五中，探討 CoOETPP 加入咪唑與否對過氧化氫之反應差異，發現未加入咪唑之 CoOETPP 與過氧化氫反應後不變色，而加入咪唑之 CoOETPP 與過氧化氫反應後則明顯由紅棕色變為綠色。
- 六、實驗六則探討加入不同當量數之過氧化氫後，CoOETPP 是否會產生不同顏色變化。我們發現當加入之過氧化氫當量數漸增時，CoOETPP 的顏色會由紅棕色至黃綠色呈漸進變化。
- 七、實驗七中，以濾紙及圖畫紙做為 CoOETPP 吸附對象時，加入過氧化氫後紙張顏色僅由深變淺。而已處理過之碘化鉀澱粉試紙測試時，其顏色則明顯由紅棕色變為亮綠色。

柒、結論

- 一、本研究所使用的紫質中，具馬鞍形變形的分子對過氧化氫的靈敏度較平面形分子佳，而以 Co 作為中心金屬的紫質分子對過氧化氫的靈敏度又較 Fe 為高。其中，CoOMTPP 分次加入過氧化氫後，經分光光度計檢測，其吸光度在分次打入等當量數之過氧化氫後呈現規律之線性變化，可望取代同樣以吸光度做為檢測過氧化氫之用的細胞色素 P450，加以應用於工業、食品、醫療等方面。
- 二、另一種紫質 CoOETPP 溶液加入咪唑後，再加入過氧化氫，顏色會由紅棕色變為綠色；且加入不同當量數之過氧化氫時，顏色會呈漸進變化。我們利用此特點將其製成試紙，以方便在生活中檢測食品是否殘留過氧化氫。
- 三、實驗顯示，碘化鉀澱粉試紙遇 25ppm 的過氧化氫才會變藍黑色，而我們利用 CoOETPP 加咪唑製成的試紙能偵測到 3.54ppm，因此除了方便測試外，此試紙的偵測極限也有明顯的優勢。

捌、參考資料及其他

- 一、陳炳宇（2000）。*金屬卟啉的對稱與鍵結*。臺中：國立中興大學化學系。
- 二、Neil A. Campbell (2015). *Biology*. Pearson Education Limited
- 三、衛生福利部（2013 年 9 月 6 日）。食品中過氧化氫之檢驗方法。取自：
<http://www.fda.gov.tw/upload/133/Content/2013091016532032261.pdf>
- 四、紫質（2015 年 7 月 27 日）。維基百科。取自：
<https://zh.wikipedia.org/wiki/%E5%8D%9F%E5%95%89>
- 五、過氧化氫（2015 年 12 月 5 日）。維基百科。取自：
<https://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%BF%87%E6%B0%A7%E5%8C%96%E6%B0%A2>

【評語】 050201

研究的目的是為過氧化氫檢測方法的開發。研究開發了 CoOMTPPUV-vis 的定量方法及 CoOETPP 之試紙定性方法。研究成果有一定的應用價值。