

2024年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

普高組 成果報告表單

題目名稱：「藥」不「藥」檢一檢？—

Develop an easy method of quantitative photometry for acetaminophen

一、摘要

乙醯胺酚是一般常用止痛藥的主要成分，具有鎮痛和退燒功效。各種包裝、造型藥錠雖然標示相同乙醯胺酚劑量卻難免讓民眾有藥效不一的錯覺，為了讓大眾相信藥物成分有效且避免去攝取過量，設計了此簡易版測量乙醯胺酚劑量的方法代替工業型機器的測量，提供大眾更加容易且貼近生活化的方式來測量乙醯胺酚。

實驗方法是透過乙醯胺酚與鐵離子的螯合反應，形成酚鐵錯合物，並透自製光度計觀察其顏色變化，以此來將藥物劑量數據化。結果顯示，酚鐵錯合物可以使綠光透光度下降，並且隨著乙醯胺酚的濃度提高，透光量的下降具有一定的趨勢性。為了使比色更加準確，實驗嘗試在其中測試多種緩衝液，但都因為其會與鐵離子有交互作用而困難重重。於是本研究決定改變實驗方法，是在乙醯胺酚可完全溶解的條件下，本研究先測出鐵離子與乙醯胺酚最適合的比例，可以確保乙醯胺酚完全反應，並固定其成分比例藉此鎖住比色試劑的pH。最後進行設計測量乙醯胺酚劑量的光度標準方法SOP，並利用此SOP進行不同廠牌的乙醯胺酚劑量測試，成功證明不同廠牌造型的止痛藥(中化、瑞安、衛肯)確實含有相同含量的乙醯胺酚。

整體而言，本研究提供了一個創新改良的乙醯胺酚檢測方法，並且發現當樣本含有檸檬酸、磷酸、草酸等可能使檢測出現偽陰性現象，希望未來可以更進一步研究，使比色試劑更完善，而普及於快篩試紙的推廣。

二、探究題目與動機

乙醯胺酚是止痛藥的主成分，在日常生活中具有廣泛的應用，因為它常用於緩解頭痛、發燒和其他輕度到中度疼痛。尤其是新冠肺炎盛行之際，許多家庭都會儲備這種藥物以備不時之需。而本研究有時會聽到身旁的長輩在爭論各廠家的止痛藥何者較有效，可是明明各家止痛藥所含的乙醯胺酚劑量都被標示為500 mg，為何會存在長輩口中的差別？

因此實驗好奇能否建立一個簡單又普遍的方法，可以利用手邊的實驗器材，去測量乙醯胺酚的劑量。利用乙醯胺酚原本就會與鐵離子發生螯合反應(圖一)，並且產生靛紫色的酚鐵錯合物，透過酚鐵錯合以增強顯色的特性，來試著分析不同廠家的乙醯胺酚劑量，來解答本研究的疑惑。



【圖一】乙醯胺酚與硝酸鐵的變色反應

三、探究目的與假設

(一)目的:

- 1.建立自製光度計作為鑑別色深工具
- 2.建立以鐵離子作為比色增顯劑來定量乙醯胺酚
- 3.探討比色試劑中 Fe^{3+} 的最佳添加量
- 4.探討乙醯胺酚濃度系列在比色試劑中的色深趨勢
- 5.以本研究建立之比色試劑探討不同品牌止痛藥的乙醯胺酚的比色曲線

(二)假設:

- 1.利用與酚鐵錯合物互補色的光進行照射, 當酚鐵錯合物濃度越高, 吸收光的效果越好
- 2.鐵化合物與酚反應後, 皆能發生螯合反應, 並導致明顯顏色增強, 從無色溶液變為深紫色溶液
- 3.在相同濃度的乙醯胺酚中, 當鐵離子過量時, 酚鐵錯合物的透光量會趨於平緩
- 4.定量定濃度的鐵離子中, 隨著乙醯胺酚濃度增加, 透光量會降低, 相對色深呈現增加的趨勢
- 5.根據法規, 各廠牌止痛藥所含的乙醯胺酚劑量應相同, 故三者的比色曲線應相似

四、探究方法與驗證步驟

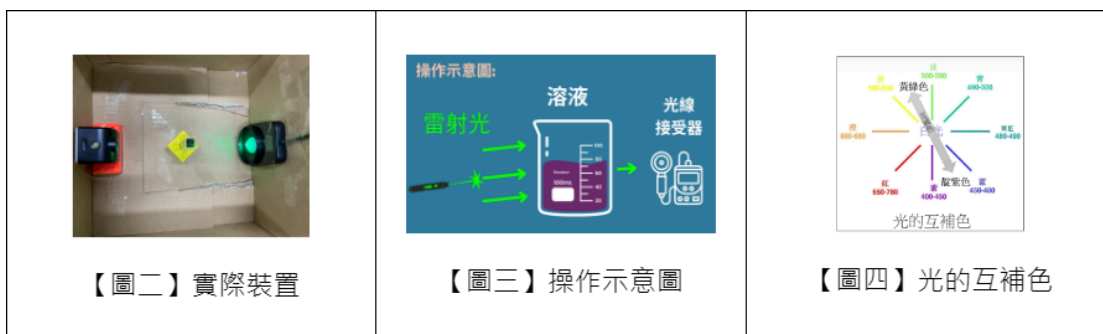
實驗原理:

1. 螯合反應:硝酸鐵會與乙醯胺酚發生螯合反應, 產生紫色的酚鐵錯合物。
2. 光的互補色:若用紫色的互補色(綠色)照射, 紫色的酚鐵化合物將會吸收綠光。所以當在飽和乙醯胺酚水溶液裡, 增加硝酸鐵克數(鐵離子數量), 會增加酚鐵錯合物的形成, 進而使穿射出溶液的透光量減少。
3. 比爾定律:一束單色光照射於一吸收介質表面, 在通過一定厚度的介質後, 由於介質吸收了一部分光能, 透射光的強度會減弱。吸收介質的濃度愈大、介質的厚度愈大, 則光強度的減弱愈顯著。

裝置設計(圖二)及操作示意圖(圖三):

本研究使用雷射光(660元)及照度計(1290元)來自製光度計, 以此作為鑑別色身工具, 屬平價又簡單的操作儀器。在光源選擇方面, 本研究嘗試過紅光(660 nm)與綠光(532 nm), 實驗結果發現若以紅光照射紫色酚鐵錯合物, 透光量會上升, 而作為紫色的互補光-綠光卻能使透光量下降, 由此本研究以綠光作為光源。

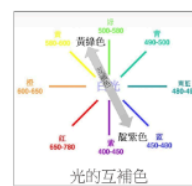
* 在接下來的實驗中, 本研究進行透光實驗時, 會確保在無照射任何物體下, 透光量皆位於12000~13000 Lux



【圖二】實際裝置



【圖三】操作示意圖



【圖四】光的互補色

實驗(一):不同乙醯胺酚濃度的酚鐵錯合物呈色反應

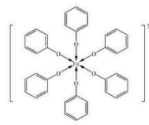
- 1.調製三杯濃度不一的乙醯胺酚水溶液
- 2.在每杯水溶液裡, 滴入固定劑量的硝酸鐵

實驗結果:如圖四, 當乙醯胺酚水溶液的濃度提高, 顏色會更深, 越接近靛色甚至紫色。



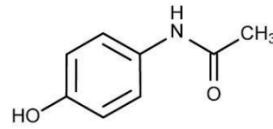
【圖五】

不同乙醯胺酚濃度的呈色效果



【圖六】

酚鐵錯合物之路易士電子點式



【圖七】

乙醯胺酚具有phenol官能基

由上述呈色結果，本研究發現乙醯胺酚水溶液的濃度為影響溶液顏色的主要因素。故決定由呈色結果去設計能得知乙醯胺酚劑量的方法。因此本研究利用照度計來客觀表達各濃度的呈色效果，並從透光量方面，探討濃度與顏色的關係。

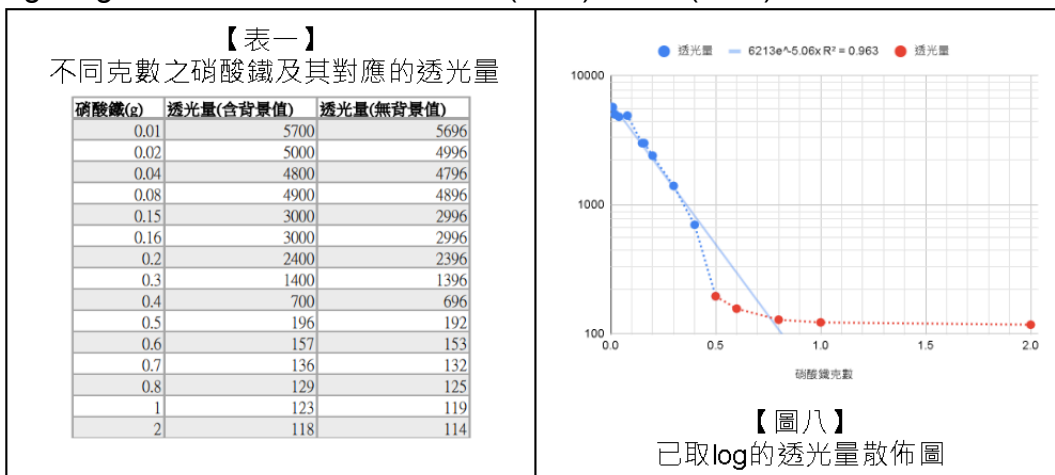
實驗(二):找出本研究自製比色試劑中最佳鐵離子劑量 Part 1

將調製出的乙醯胺酚水溶液，加入不同克數的硝酸鐵(鐵離子)，觀察其透光量的變化趨勢，嘗試推測乙醯胺酚在能完全被鐵離子反應的情況下，至少需要使用到的硝酸鐵(鐵離子)克數。

實驗步驟：

1. 配5000 mg乙醯胺酚 / 600 mL水，並將其過濾，每次實驗取20 mL作為A溶液
2. 取不同克數(0 g~2 g)硝酸鐵溶於20 mL的水中，作為B溶液
3. 將A及B溶液混合
4. 裝入分光槽進行透光測試

實驗結果:將 0g ~ 2g 硝酸鐵的透光量繪製成表格(表一)及圖表(圖八)



從【圖八】推測乙醯胺酚與硝酸鐵恰好反應的比例範圍在0.5/3 g乙醯胺酚:0.4g~0.5 g 的硝酸鐵從此實驗，本研究發現會有酸鹼的問題。由於調製的乙醯胺酚水溶液，其乙醯胺酚濃度極高，需要大量的硝酸鐵與其反應。因此在該次實驗裡，隨著硝酸鐵的增加，溶液的pH值會大幅度下降。故實驗除了有硝酸鐵劑量問題，還會多出新的酸鹼變因。因此，本研究嘗試控制酸鹼問題，設計新的實驗。

實驗(三):替本研究自製比色試劑尋找合適的共軛酸鹼作為緩衝成分以維持pH2恆定

實驗目的：

由於在實驗三隨著鐵離子增加，會導致溶液過酸。所以本研究期望加入緩衝液，讓酚鐵水溶液的酸鹼值都可處於在某範圍，有著可控酸鹼變因。

實驗前置作業：

1. 緩衝溶液:檸檬酸與氫氧化鈉混和，分別調製出pH2、3、4的緩衝液。(如圖九)

硝酸鐵水溶液:180 mL的水，放入10.8 g的硝酸鐵，進行混和。

2. 乙醯胺酚水溶液:參考藥典指示(口服藥在37度的人體中，30分鐘內需要大致溶解)。本研究為確保實驗的藥物能完全溶解，決定在高於37度的150 mL水中，放入3 g的乙醯胺酚後，使用超音波震盪器30分鐘如(如圖十)，完成後將溶液過濾(如圖十一)。



【圖九】

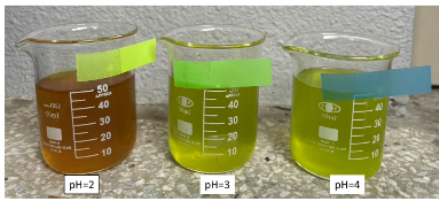
【圖十】 【圖十一】

第一次緩衝實驗內容：

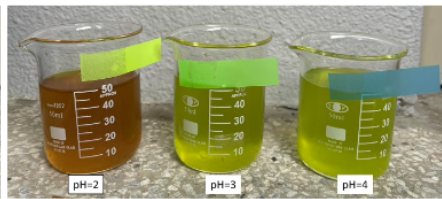
用弱酸的檸檬酸及強鹼的氫氧化鈉混合出pH值分別為2、3、4的緩衝溶液，觀察乙醯胺酚與鐵離子在個別緩衝溶液下的混和狀態。依照緩衝溶液10 mL、硝酸鐵水溶液20 mL及乙醯胺酚水溶液20 mL的比例進行調配，並分別嘗試鐵與酚加入的先後順序。

第一次實驗結果：

實驗後發現加入緩衝液的酚鐵錯合物水溶液均嚴重偏離紫色，並且與加入鐵及酚的順序無關(圖十二、圖十三)。最後還發現影響該結果的原因，與檸檬酸根搶鐵離子有關。



【圖十二】先加入鐵



【圖十三】先加入酚

第二次緩衝實驗內容：

對於第一次緩衝失敗的結果，本研究想嘗試透過其他酸根調配出來的緩衝溶液是否會與酚搶鐵離子，所以決定以磷酸、草酸再做嘗試。

第二次實驗結果：

緩衝失敗，本研究發現此次嘗試的所有酸根均會發生偏離紫色之情況，因而無法進行後續的透光量測試。在實驗四發現緩衝方法不可行，於是此研究打算重設計新方法，來重新找尋SOP裡需要使用的硝酸鐵劑量。



【圖十四】磷酸緩衝溶液



【圖十五】草酸緩衝溶液

(左:原酚鐵 右:酚鐵在緩衝溶液中褪色)

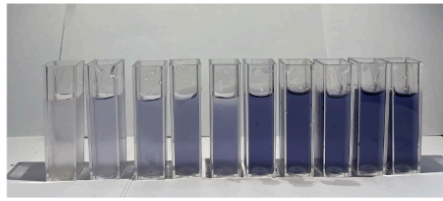
實驗(四):找出本研究自製比色試劑中最佳鐵離子劑量 Part 2

根據人體服用藥物的日常狀況，本研究將乙醯胺酚水溶液的比例設置為1 g/100 mL。並且調製0.05 M 的硝酸鐵水溶液，在定 量及定濃度的乙醯胺酚水溶液裡，滴入不同的鐵離子量，觀察當酚鐵錯合物相對色深趨於平緩時，所需使用的鐵離子劑量。

實驗操作：

1. 將十個分光槽皆先倒入3 mL的乙醯胺酚水溶液
2. 將0.05 M 的硝酸鐵水溶液從0.1 mL開始，以0.1 mL作為公差，依序加入十個分光槽，使其與乙醯胺酚水溶液反應
3. 加入水補至同體積
4. 將十個分光槽分別拿去照光，紀錄並觀察其透光量

實驗結果：



【圖十六】
各個鐵離子溶液呈色情形

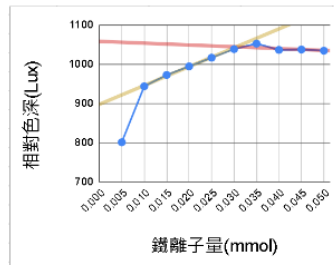
【表二】

不同鐵離子濃度的相對色深比較

*相對色深= 純水透光量 - 酚鐵水溶液透光量

硝酸鐵量耳取	純水透光量(x10 Lux)	酚鐵溶液透光量(x10 Lux)	相對色深(x10 Lux)
0.005	1078	277	801
0.01	1078	134	944
0.015	1078	105	973
0.02	1078	83	995
0.025	1078	61	1017
0.03	1078	39	1039
0.035	1078	25	1053
0.04	1078	41	1037
0.045	1078	40	1038
0.05	1078	43	1035

- 1.如圖十七，黃色趨勢線可看出隨著鐵離子量的上升，相對色深也會增加，代表此時鐵離子量尚未充裕，還須持續補充。而紅色趨勢線呈現的相對色深則趨於同個數值，近乎沒變，代表此時的鐵離子已過量，故儘管增加鐵離子量，也較不會對相對色深有影響。
- 2.從線段交點可以估略，1 mL的硝酸鐵水溶液(濃度為0.03 M)，可以與3 mL的乙醯胺酚水溶液(濃度為0.066 M)恰反應



【圖十七】不同鐵離子量的相對色深趨勢線圖

實驗結論:本研究以0.03 mmol的鐵離子量，套用在後續測量乙醯胺酚的SOP，將其設為需使用的最佳比例。

實驗(五):SOP的實際應用-不同廠牌的乙醯胺酚劑量測試:

使用中化、瑞安、衛肯三家廠牌的止痛藥，作為本次SOP應用的實驗對象。將三家止痛藥廠牌的乙醯胺酚調配為0、0.03、0.06、0.09、0.12、0.15、0.18 mmol的七種固定比例與定量定濃度的硝酸鐵混和進行透光量測試。

實驗步驟:

- 1.配置 0.06 M的乙醯胺酚水溶液(1 g/ 100 mL)
- 2.配置 0.03 M的硝酸鐵水溶液
- 3.配出七組在3 mL下不同濃度的乙醯胺酚水溶液(表三)，與1 mL的硝酸鐵進行反應

【表三】七種不同濃度的乙醯胺酚水溶液

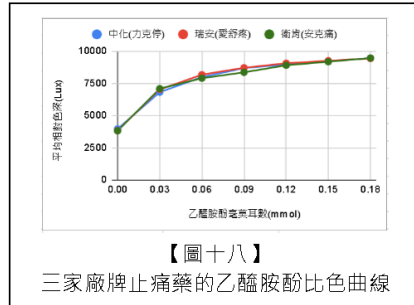
乙醯胺酚 mL	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
水 mL	3	2.5	2	1.5	1	0.5	0
乙醯胺酚 mmol	0	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18

- 4.每廠牌的七組濃度皆取五次透光量，再將其平均，作為該濃度的代表數值(表四)

實驗結果:將三家廠牌不同濃度的平均相對色深繪製成折線圖(圖十八)後，發現曲線幾乎可重疊

【表四】三家廠牌在不同濃度下的平均相對色深

乙醯胺酚 mmol	中化 平均相對色深(Lux)	瑞安 平均相對色深(Lux)	衛尚 平均相對色深(Lux)
0	3966	3842	3814
0.03	6822	7028	7094
0.06	7991	8180	7908
0.09	8695	8719	8363
0.12	8968	9073	8911
0.15	9235	9267	9185
0.18	9469	9440	9475



實驗結論:平均相對色深曲線的重疊情形,符合三家廠牌乙醯胺酚劑量應相同的事實,因而代表檢測乙醯胺酚SOP與自製光度計是可行的。且雖然各家廠牌的乙醯胺酚類止痛藥,有不同的顏色或是添加劑,但均不影響本研究建立之方法比色結果。

五、結論與生活應用

本次實驗以乙醯胺酚與硝酸鐵混合後,發生的螯合反應做為動機,選用鐵離子作為比色增顯劑來定量乙醯胺酚。首先自製的光度計可作為鑑別色深工具,其使用的是紫色的互補光(綠光)照射,因紫色的酚鐵錯合物將會吸收綠光,故酚鐵錯合物的形成時,穿透出溶液的透光量會減少。再來探討比色試劑中 Fe^{3+} 的最佳添加量,此部分是用人體服用藥物的日常狀況,將乙醯胺酚水溶液濃度比例設置為1 g/100 mL,最後得出1 mL的硝酸鐵水溶液(濃度為0.03 M),大約可以與3 mL的乙醯胺酚水溶液(濃度為0.066 M)恰反應。接著又探討乙醯胺酚濃度系列在比色劑中的色深趨勢,發現隨著乙醯胺酚水溶液濃度上升,其相對色深會隨之上升。最後也探討了三家廠牌乙醯胺酚類止痛藥的比色曲線,發現利用本研究的自製光度計與設計的SOP,測量出三家廠牌的比色曲線幾乎可重疊,符合三家廠牌乙醯胺酚劑量應相同的事實,故雖然不同品牌的乙醯胺酚類止痛藥,有不同的顏色或是添加劑,但均不影響本研究建立之方法比色結果,故初步認為設計的SOP可以應用在檢測方面的需求。但由於酚鐵對於檸檬酸、磷酸、草酸有褪色的現象,因此本研究比色方法須留意這些成分所造成基質效應的影響。

本研究提供的測量方法可以幫助大眾確保使用的止痛藥中,乙醯胺酚的劑量符合安全和有效的標準。日後,若本研究可以取得乙醯胺酚標準品,即可透過此SOP進行測量,並建立出乙醯胺酚的檢量線,提升結果準確度,給予民眾僅在自身能力範圍下,就可進行測量的方法。

參考資料

- 1.葉宏軒,止痛藥與疼痛,臺灣疼痛治療資訊網,摘自www.painmanage.org.tw/normal/p69.htm
- 2.李怡儒,以二氧化錳去除水中乙醯胺酚之研究,摘自<https://hdl.handle.net/11296/2k7sz3>
- 3.林科廷,治療劑量及中毒劑量之乙醯胺酚對於人類間質幹細胞的影響,摘自<https://hdl.handle.net/11296/f6d66u>
- 4.林群翔,照度量測法研究與應用,摘自<https://hdl.handle.net/11296/v79e38>
- 5.吳翊弘,氣相層析質譜法定量分析檢量線特徵之研究—以Secobarbital為例,摘自<https://hdl.handle.net/11296/863k4w>
- 6.沈冠宇、彭裕文、楊富雄、高維鴻(2006),”自製濃度觀測工具及其在高中化學實驗的應用”,第46屆全國中小學科展化學科作品說明書。
- 7.李銘哲、陳意曉、陳佑銘、李景煊(2003),”大家一起來比色—比色法實驗器材的創新及改良”,第43屆全國中小學科展化學科作品說明書。