

成果報告書

彈「指」之間——寧海德林顯現指紋之反應速率探討

摘要

在做指紋顯現實驗時，我們常常剩餘過多的寧海德林，但溶劑揮發性高不能放置下次實驗時使用，因此我們發想如何減少寧海德林的用量並達到環保以符合綠色原則。

由於指紋分泌的胺基酸的情況各有不同，本實驗聚焦在寧海德林與絲胺酸之反應，首先我們透過實驗裝置改良（微量滴管、濾紙）及平均灰度的測量將顯色反應定量化，並計算出絲胺酸反應級數大約為 1 級，與文獻相符。

接著探討不同酸鹼環境下對寧海德林的完全反應時間中，我們發現 pH=5、高溫（50 °C）時，反應速度到達最快。最後我們添加不同的酸發現顯色反應速率：草酸=醋酸>硝酸>稀硫酸，因此，透過 pH 值、溫度、添加適當的酸，有助加速顯色反應，達到節能並節約藥品，符合綠色化學的目標。

壹、研究動機

在學校的探究與實作課程中，我們曾探討指紋顯現的明顯程度與所受力量大小的相關性，然而，每當實驗結束時，我們總會剩下過多的寧海德林溶液。一開始為了減少寧海德林的浪費，我們曾試著將實驗剩餘的寧海德林溶液放置到隔天的實驗再進行使用，但因為寧海德林中所含的有機溶劑容易揮發，一段時間後配方往往不如預期，所以每次進行實驗，我們都需要重新配置寧海德林溶液，儘管我們會嘗試控制與計算我們的使用量，實驗完後仍會剩下過多的寧海德林。而為了使指紋的特徵點更加明顯，寧海德寧試劑噴上紙張後需在約 60 °C 下烘烤一段時間，我們偶然發現烘烤後的指紋顯現，隨時間經過仍會緩慢變深。可見傳統製程（60 °C、10 分鐘）並未完全反應。

後來我們和老師討論有關選修化學 II 中的反應速率定律，從中我們了解到計算反應速率、活化能，與判斷級數的技巧，因此，我們思考著是否有辦法能藉由一些較經濟的方式降低寧海德林溶液的用量。另外尋找毒性低的催化劑，以促進反應速率，如此可降低反應溫度，也可在容易辨識的指紋深度下減少寧海德林用量。藉由上述兩點，期望達到減少廢棄物產生、避免藥品浪費、促進節能目的，以符合綠色化學原則。

貳、研究目的

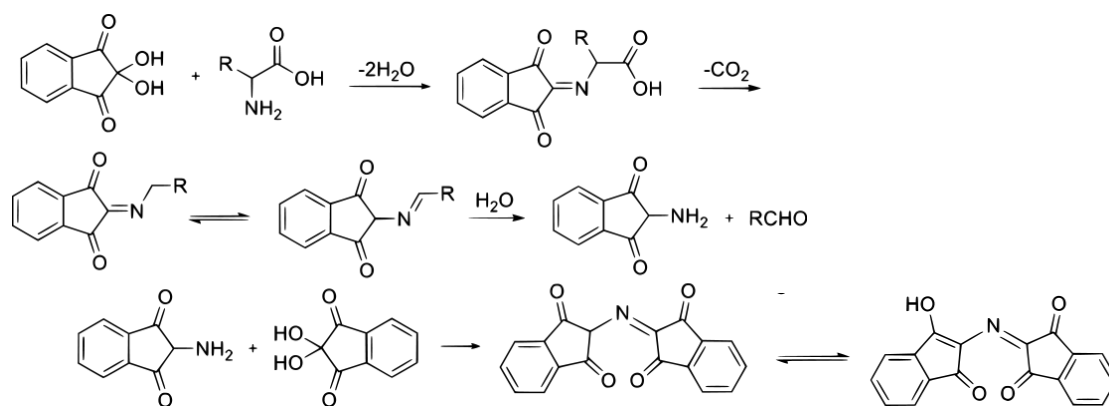
一、透過製程的調整達到減少寧海德林等藥品的過度浪費。

二、找出寧海德林適合的反應環境（環境酸鹼值）：

探討不同酸鹼環境下，寧海德林與胺基酸反應完全反應的時間——將寧海德林與不同酸鹼度的胺基酸水溶液反應，透過 RGB 值定量分析其完全反應到達的時間。

三、找出寧海德林適合的催化劑：

我們試著找出能使反應速率增加的催化劑，以達到加快反應速率，降低烘烤溫度與時間的目的，查閱文獻後得知寧海德林能與 α -胺基酸結合，經由一系列反應後產生藍紫色的物質如(圖一)。



圖一：寧海德林與胺基酸反應產生羅曼紫

(圖片來源 https://en.wikipedia.org/wiki/File:Ninhydrin_Reaction_Mechanism.svg)

我們發現反應過程中產生了醛類，因此初步探討金屬離子如：銅離子、銀離子、鋅離子……若具氧化力的金屬離子能與醛類反應，則可能加速平衡往生成物移動，藉此提升顯色之反應速率。

綜合上述幾點，根據實驗結果找出反應速率最快的系統且能夠同時達到減廢、節能、催化……等綠色原則，以達到永續發展的目的。

參、研究設備及器材

一、藥品

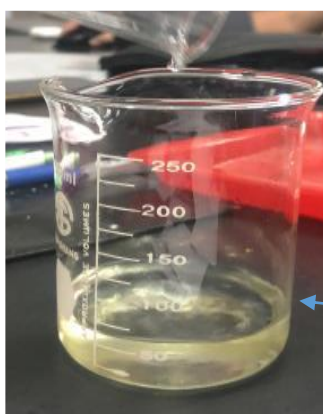
| 名稱 | 化學式或學名 | 名稱 | 化學式或學名 |
|------|-----------------|-----|--------------|
| 寧海德林 | 茚三酮 $C_9H_6O_4$ | 石油醚 | |
| 甲醇 | CH_3OH | 絲胺酸 | $C_3H_7NO_3$ |
| 硝酸 | HNO_3 | 硫酸 | H_2SO_4 |
| 氫氧化鈉 | $NaOH$ | 草酸 | $C_2H_2O_4$ |

二、器材

| | | | |
|----|------|------|----|
| 烤箱 | 微量滴管 | 噴瓶 | 滴管 |
| 燒杯 | 容量瓶 | pH 計 | 濾紙 |

三、寧海德林配方

在查找文獻之後，我們將找到有關寧德林配方的兩種方式，而後，我們決定採用 0.5 克寧海德林、2 毫升甲醇、48 毫升石油醚，待其分層後，與上層透明溶液作為實驗的寧海德林溶液。



靜置時產生分層
取出上層的透明溶液

圖二：寧海德林溶液

肆、研究過程或方法

一、根據文獻探討與研究目的，我們做出以下四個實驗：

(一) 寧海德林的過量測定

1. 分別在濾紙上噴上一、五、十、十五次的寧海德林溶液。
2. 烘烤後測量其 RGB 值，以確保之後實驗寧海德林皆為恰過量。

(二) 濃度與完全反應時間測定

1. 分別配置 0.01M、0.0175M、0.025M、0.0375M、0.05M 的絲胺酸水溶液。
2. 以過量寧海德林與不同濃度的胺基酸反應，求出反應級數。

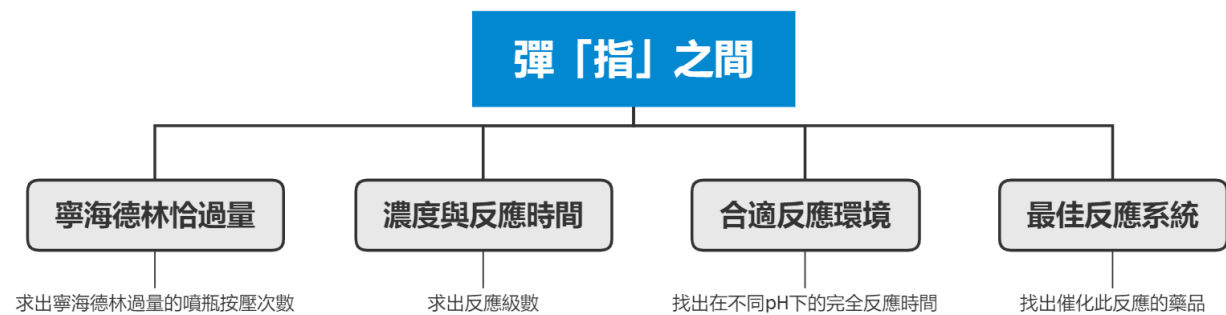
(三) 找到適合的反應環境

1. 分別將胺基酸水溶液之 pH 值改為 3、5、7、9。
2. 觀察在這些 pH 值下完全反應的時間。

(四) 找尋最佳的反應系統

1. 配置相同濃度的草酸、醋酸、硝酸，並定量加入胺基酸水溶液。
2. 測量在加入不同種類的酸之後，完全反應的時間。

二、實驗流程圖



三、分析方式

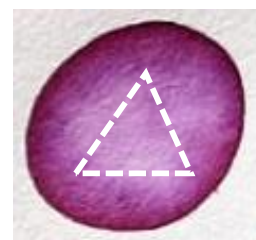
- (一) 製作樣本。
- (二) 以樣區法原理在樣本上以三角形取樣。
- (三) 透過「數位測色計」分析樣本之 RGB 值。
- (四) 以 $\text{Gray} = R \cdot 0.299 + G \cdot 0.587 + B \cdot 0.114$ 將數值轉換為灰階。



圖四：數位測色計介面



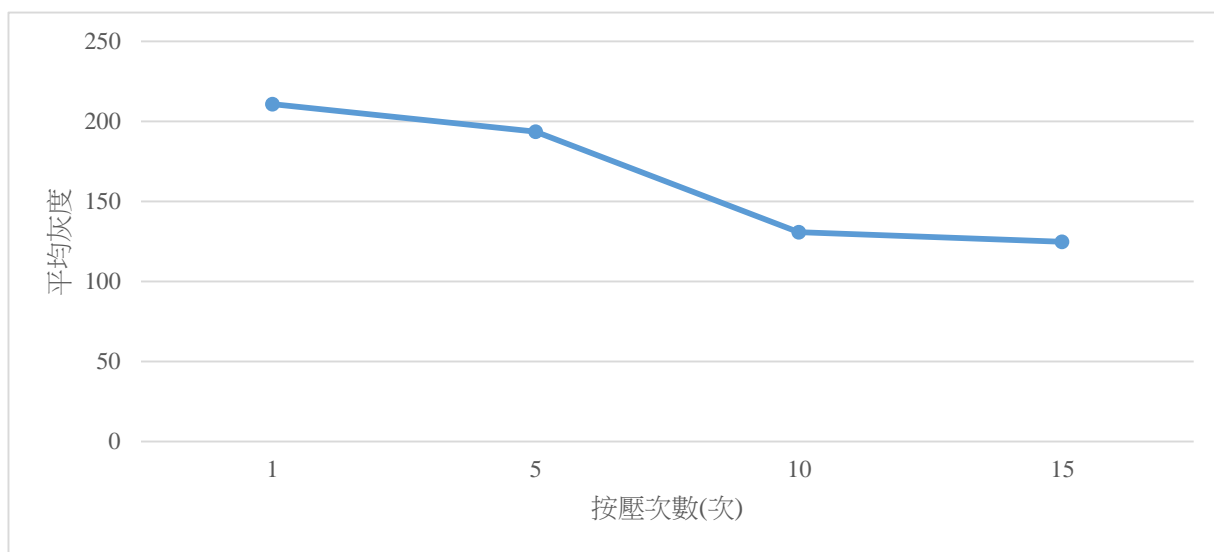
圖三：樣本範例



圖五：取樣示意圖

伍、研究結果

一、寧海德林的恰過量測定

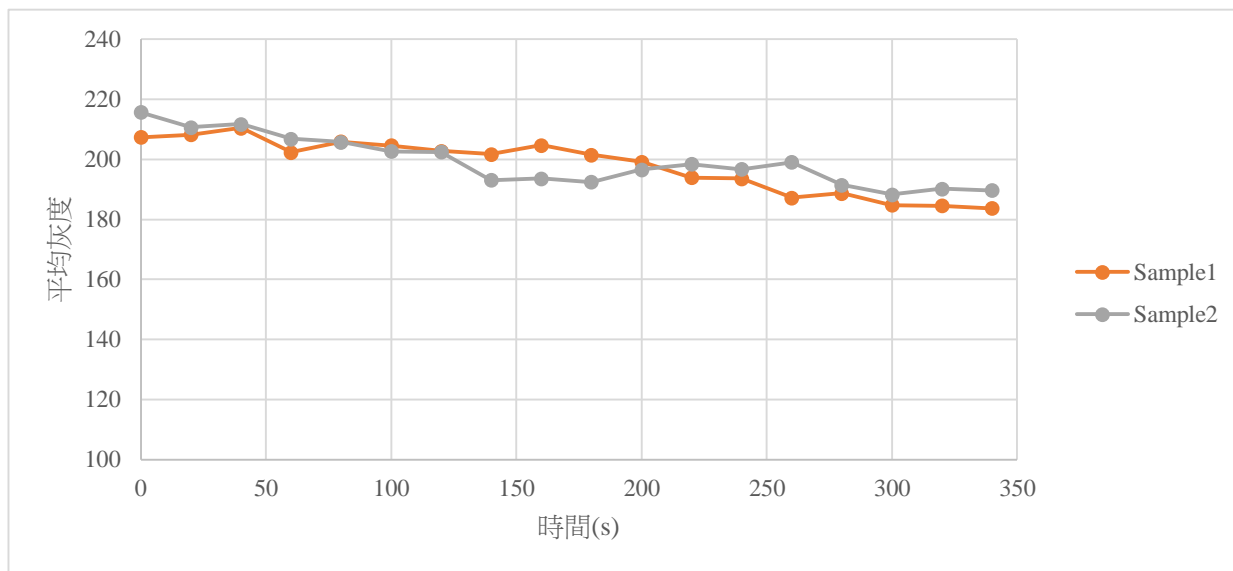


圖六：平均灰度與按壓次數關係圖

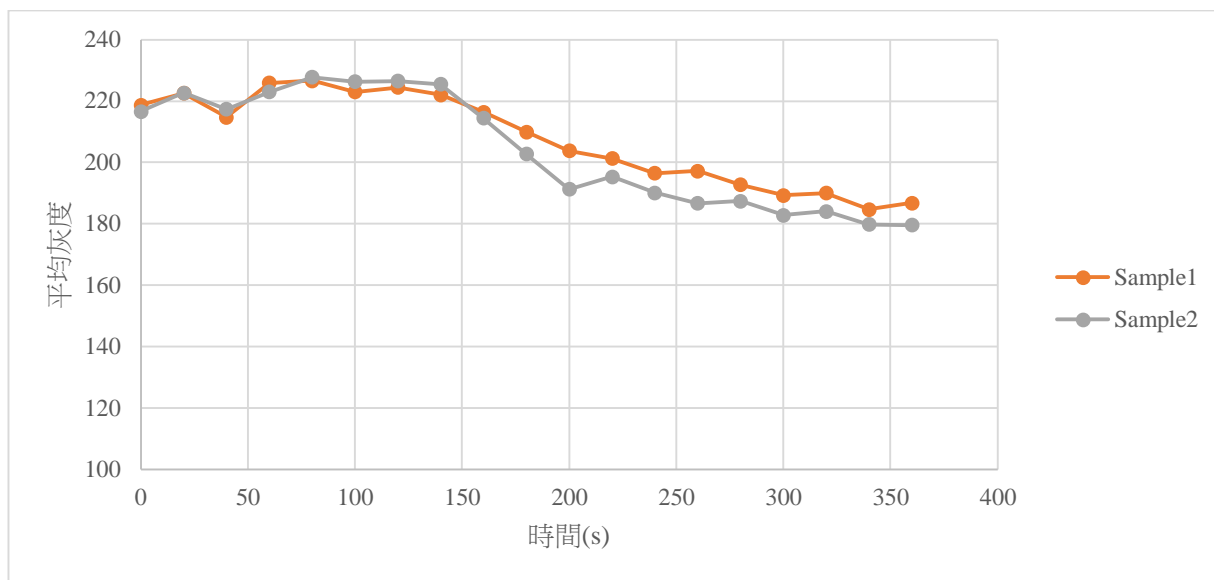
從圖中，可以發現在 0.05M 的胺基酸溶液 10m-ml 的情況下，按壓 10 下噴平便可以使寧海德林過量，也不會按壓過多次數，導致浪費。因此，在往後的實驗我們皆按壓 10 下。

二、濃度與完全反應時間測定

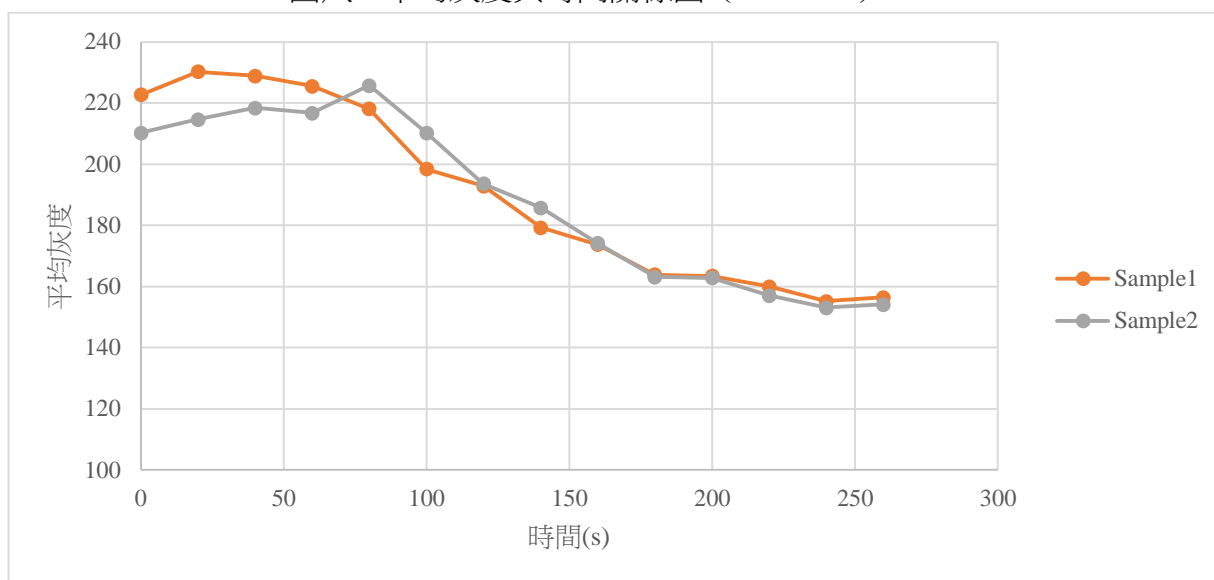
為確保再現性，相同條件下我們皆準備兩組 sample 測量各自的平均灰度，結果如下：



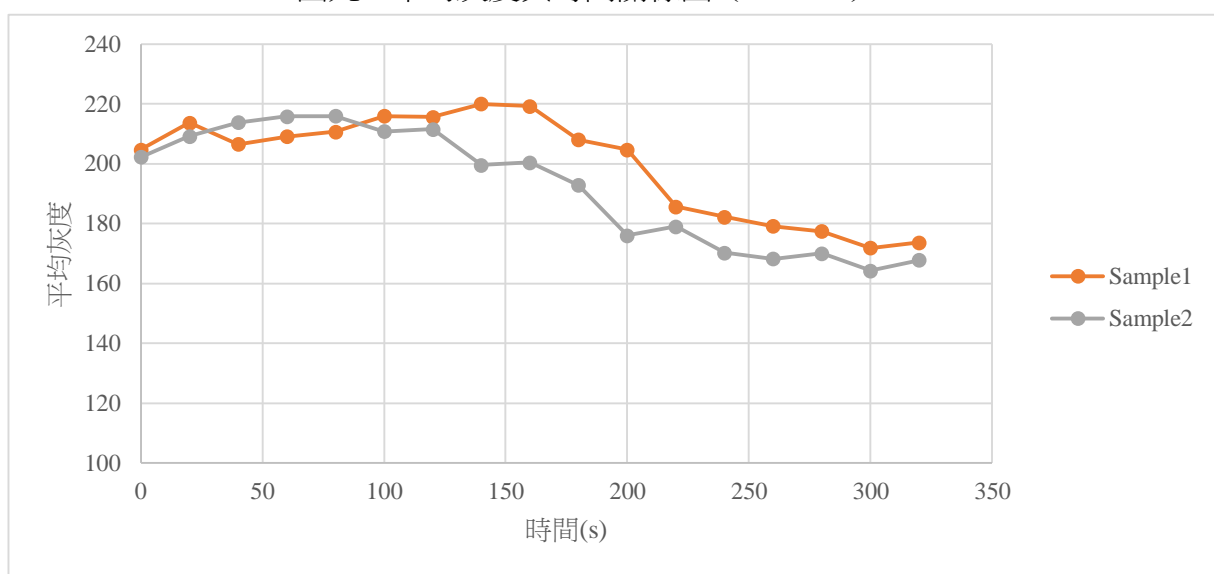
圖七：平均灰度與時間關係圖 (0.01M)



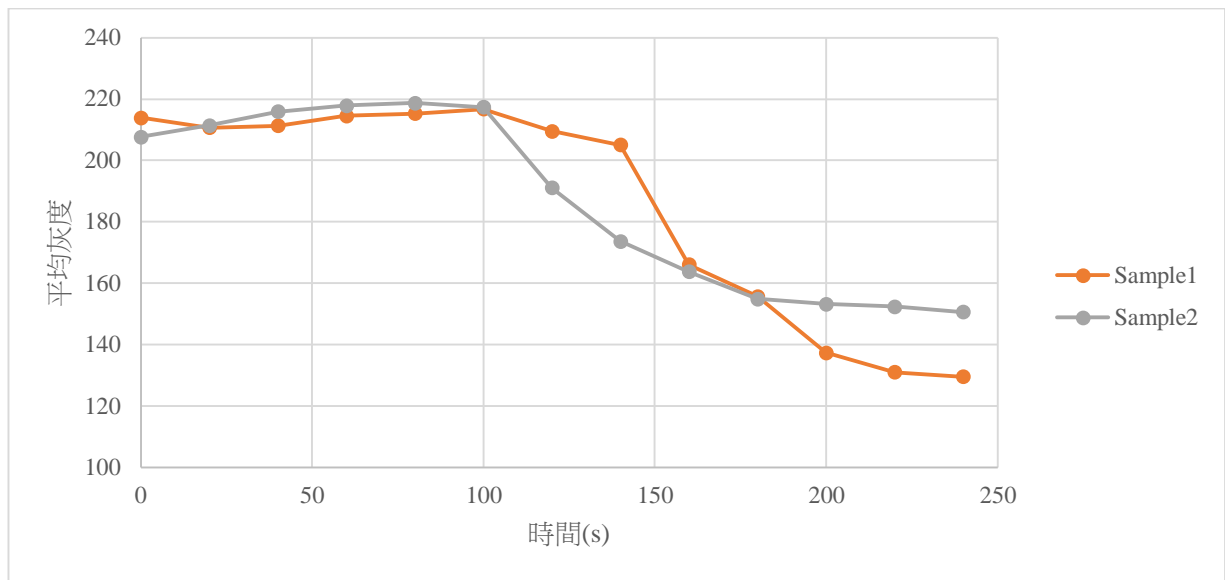
圖八：平均灰度與時間關係圖（0.0175M）



圖九：平均灰度與時間關係圖（0.025M）

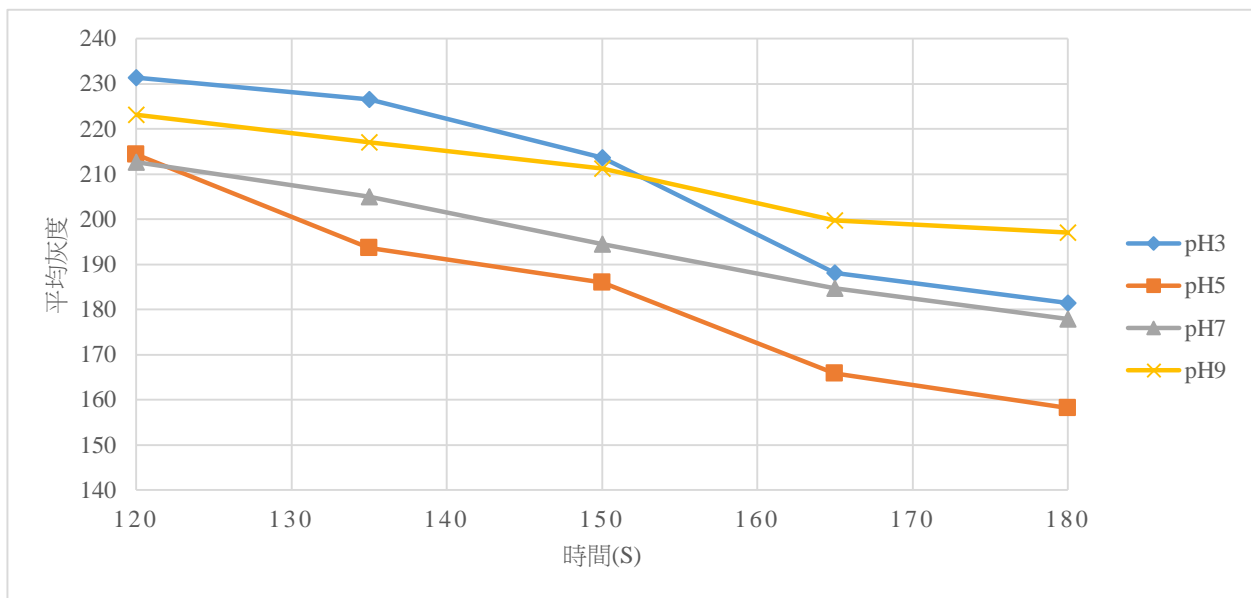


圖十：平均灰度與時間關係圖（0.0375M）



圖十一：平均灰度與時間關係圖（0.05M）

三、適合的反應環境

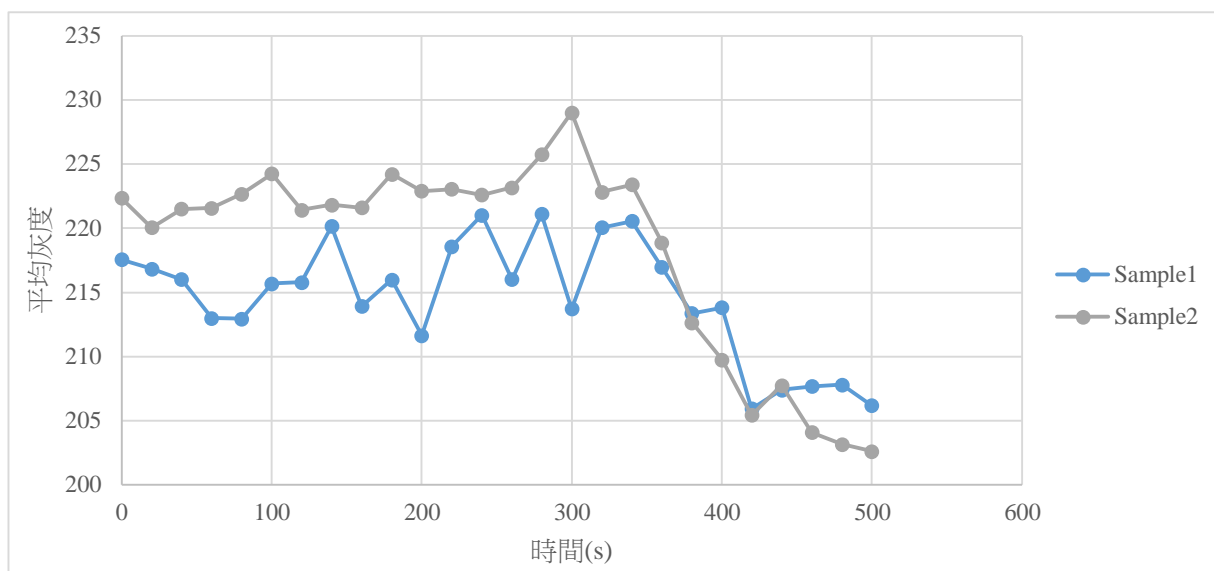


圖十二：平均灰度與時間關係圖（酸鹼度）

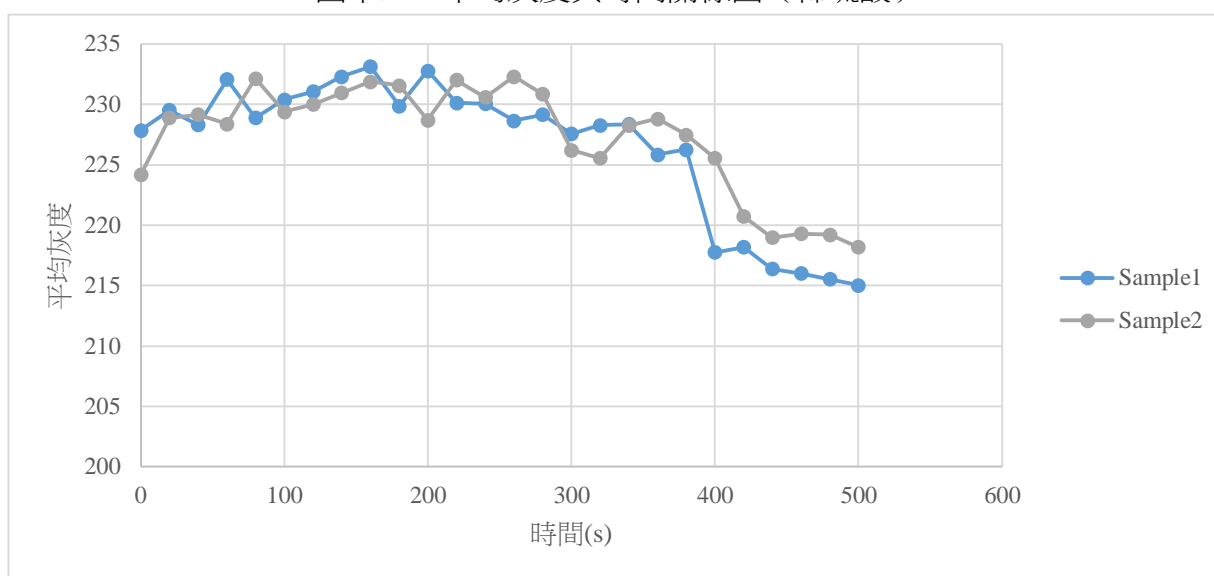
四、最佳反應系統找尋

為確保再現性，相同條件下我們皆準備兩組 sample 測量各自的平均灰度，結果如下：

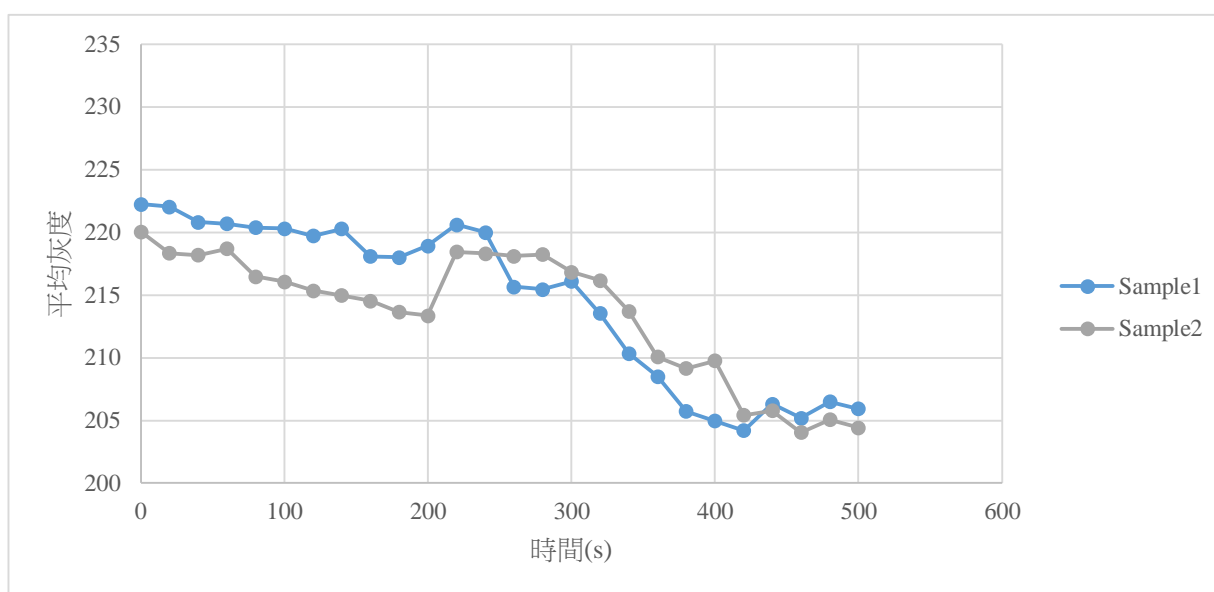
（一）35°C 加入 0.1M 的酸



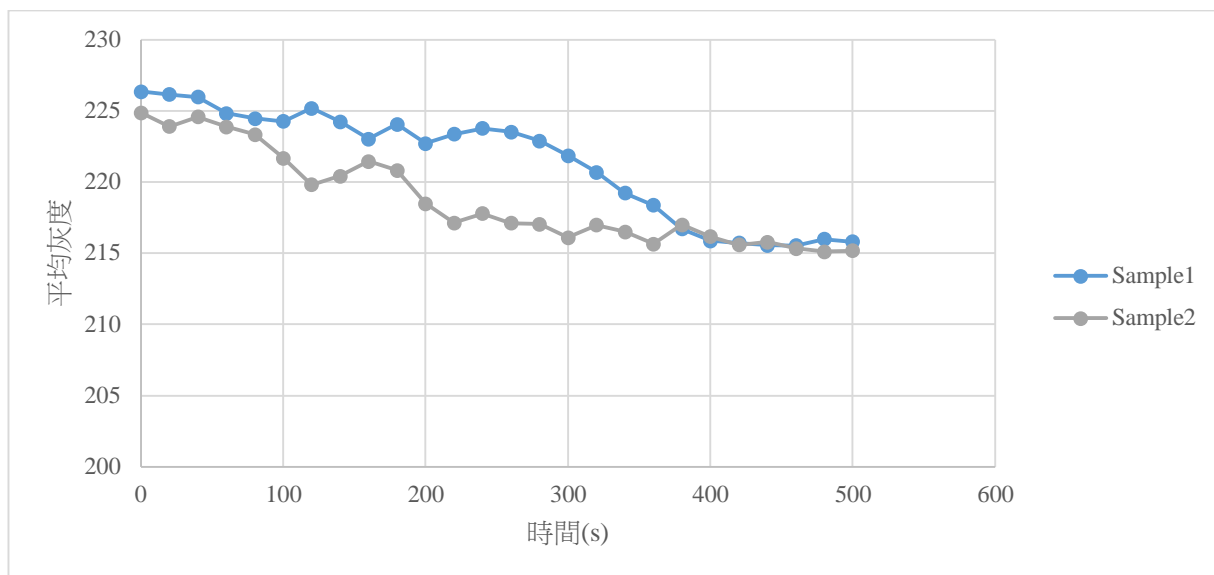
圖十三：平均灰度與時間關係圖（稀硫酸）



圖十四：平均灰度與時間關係圖（草酸）

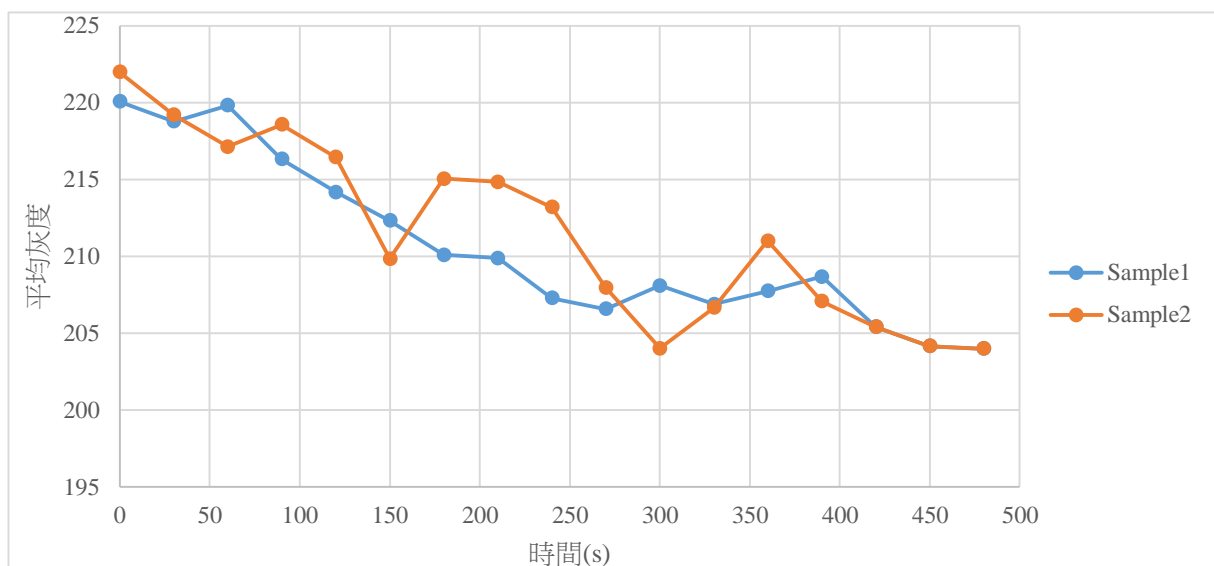


圖十五：平均灰度與時間關係圖（醋酸）

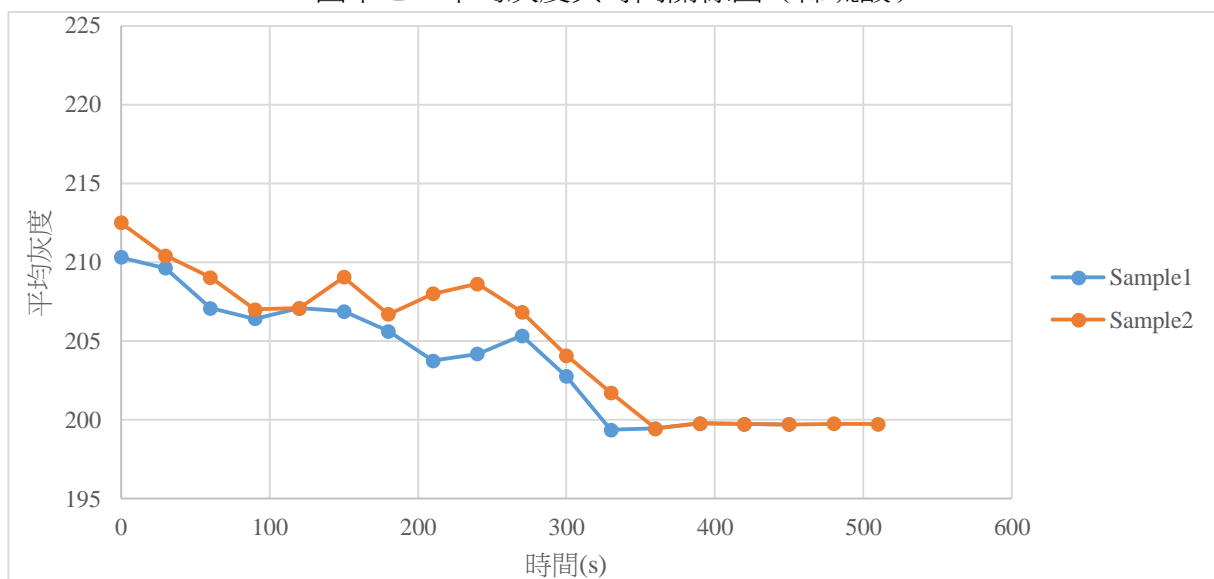


圖十六：平均灰度與時間關係圖（硝酸）

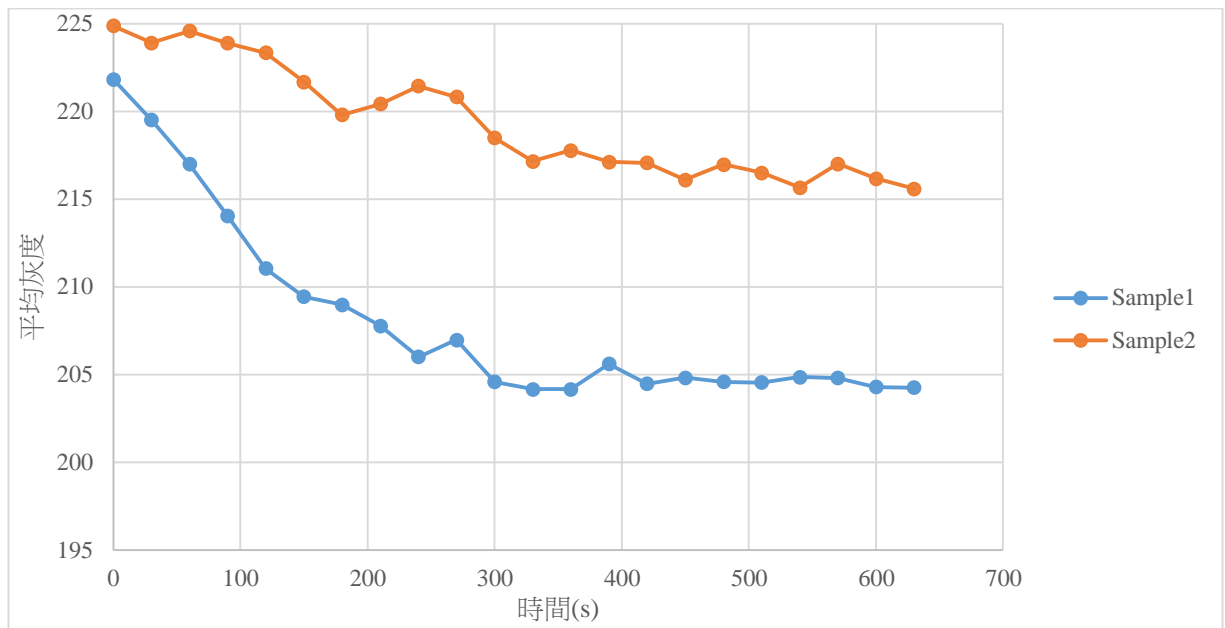
（二）50°C 加入 0.1M 的酸



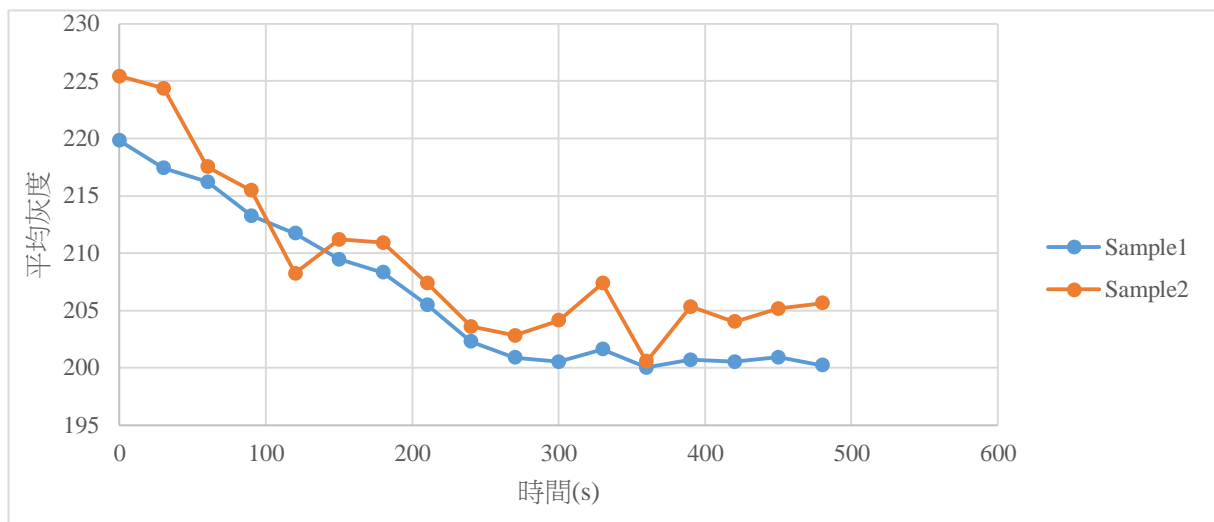
圖十七：平均灰度與時間關係圖（稀硫酸）



圖十八：平均灰度與時間關係圖（草酸）

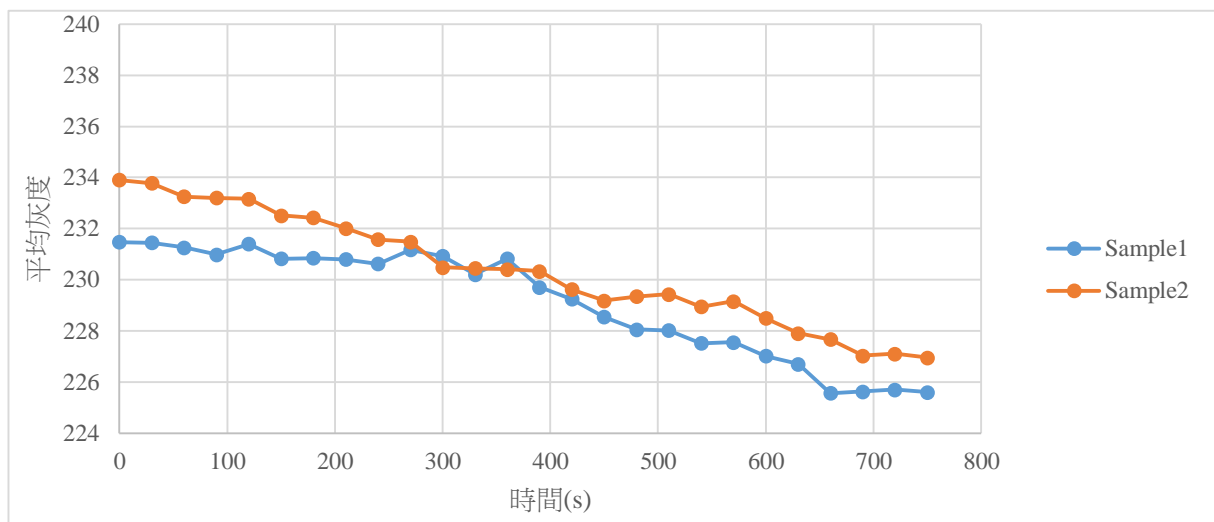


圖十九：平均灰度與時間關係圖（醋酸）

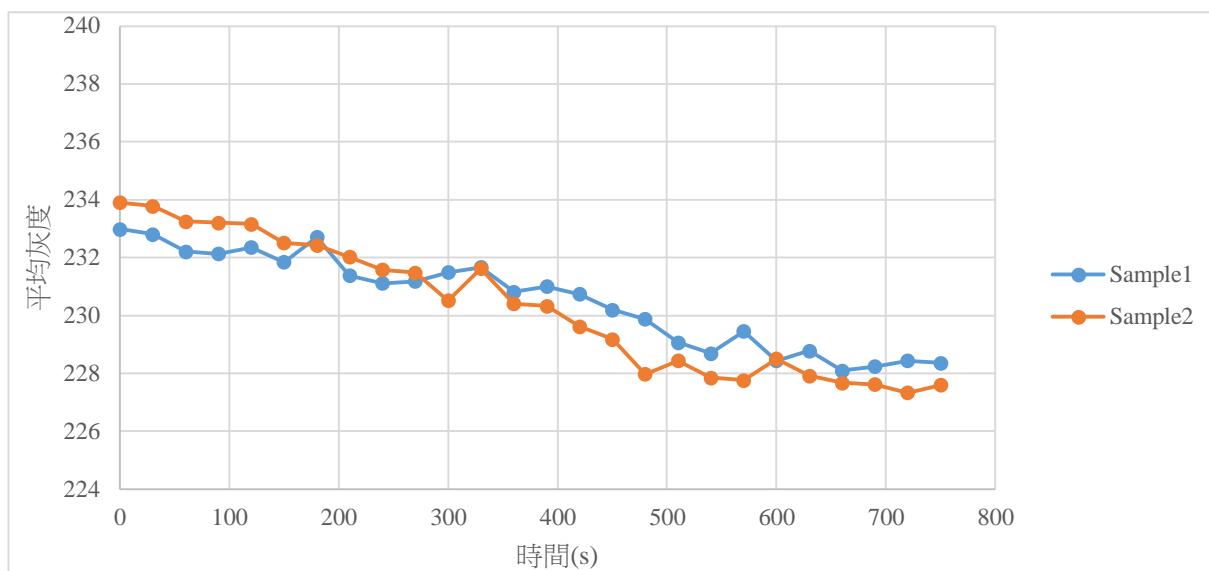


圖二十：平均灰度與時間關係圖（硝酸）

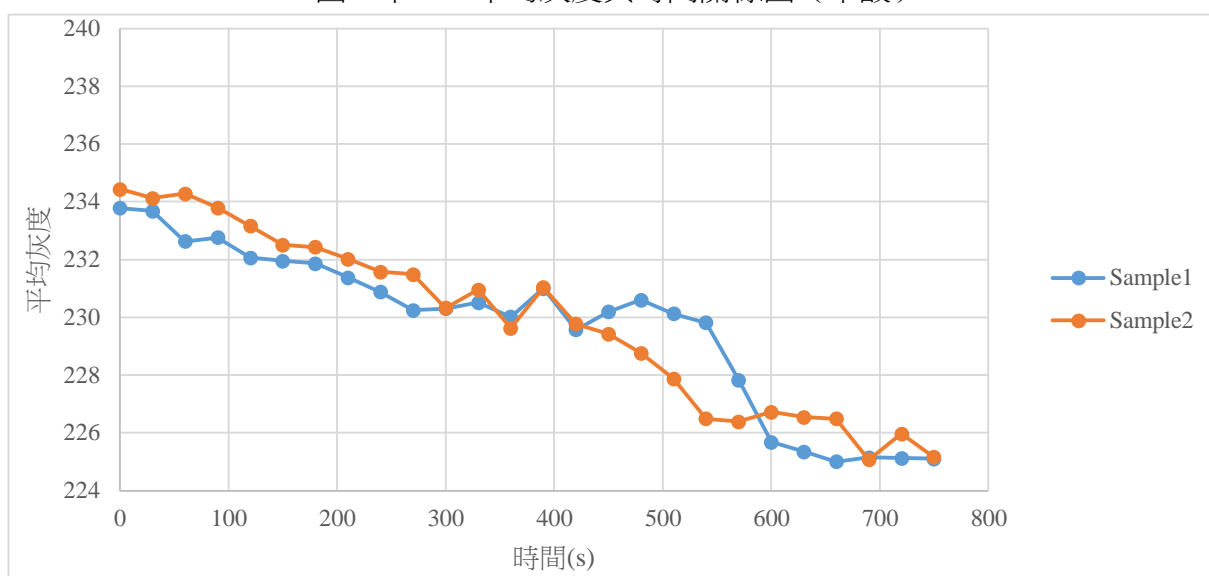
（三）35°C 加入 0.1M 的酸使 pH=5



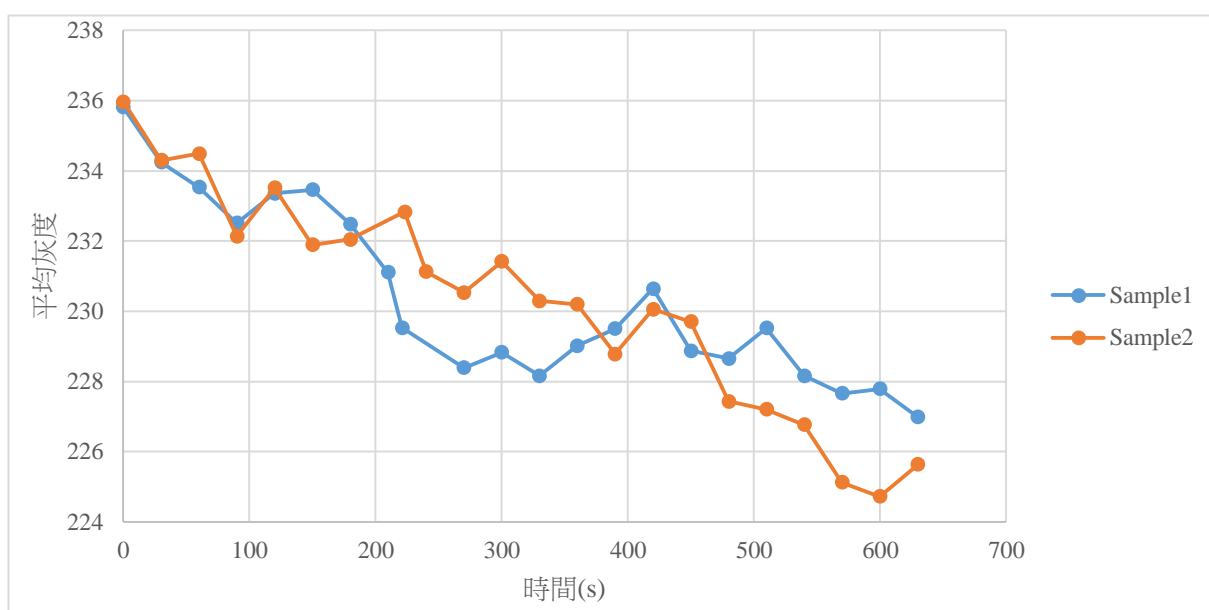
圖二十一：平均灰度與時間關係圖（稀硫酸）



圖二十二：平均灰度與時間關係圖（草酸）



圖二十三：平均灰度與時間關係圖（醋酸）



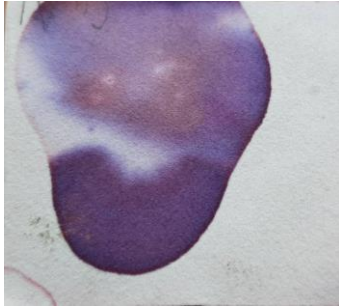
圖二十四：平均灰度與時間關係圖（硝酸）

五、 討論

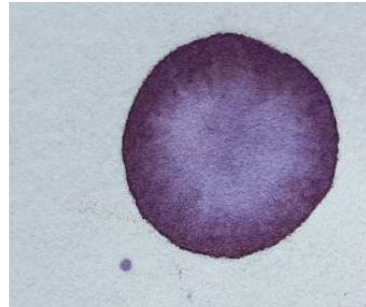
一、取樣方式探討

(一) 紙張材質選擇

一開始，我們用圖畫紙來製作樣本，然而，圖畫紙吸收水分的效果不佳，容易受到風的影響而使樣本散開，導致每個樣本反應面積相差甚遠，顏色的深淺亦受到影響。因此，在經過嘗試之後，我們決定採用濾紙。



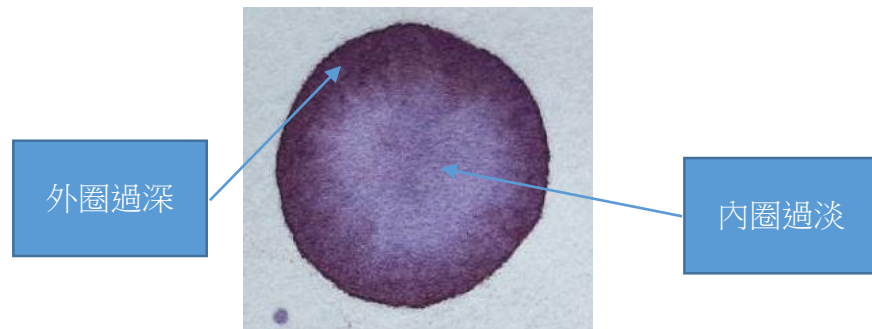
圖二十五：圖畫紙樣本



圖二十六：濾紙樣本

(二) 取樣點之選取

在觀察許多樣本之後，我們發現，樣本雖然大致均勻，但在邊緣處及圓心會因較深或較淺，因此，為求準確度（忽略極端值），我們將取樣點分布在兩個同心圓的中間（半徑約為 0.9cm 的樣本，我們取離圓心 0.5cm 處）。



圖二十七：取樣解說

二、胺基酸的定量測定

(一) 手指指紋

原先，我們只使用自己的手指作為胺基酸的來源，但，手指指紋的組成極為複雜，油脂、胺基酸、水，甚至一些髒污或灰塵的殘留都有可能影響實驗。



圖二十八：手指指紋

(二) 印章模擬

之後，我們刻製一個「王」字型的印章，想要藉此減少變因，並模擬原先指紋的樣子，經過文獻的查找，我們發現手指指紋的主要胺基酸成分為絲胺酸，因此，我們配置絲胺酸水溶液，並以印章蓋印在紙上，然而，我們卻依舊無法估計一個樣本的胺基酸用量。

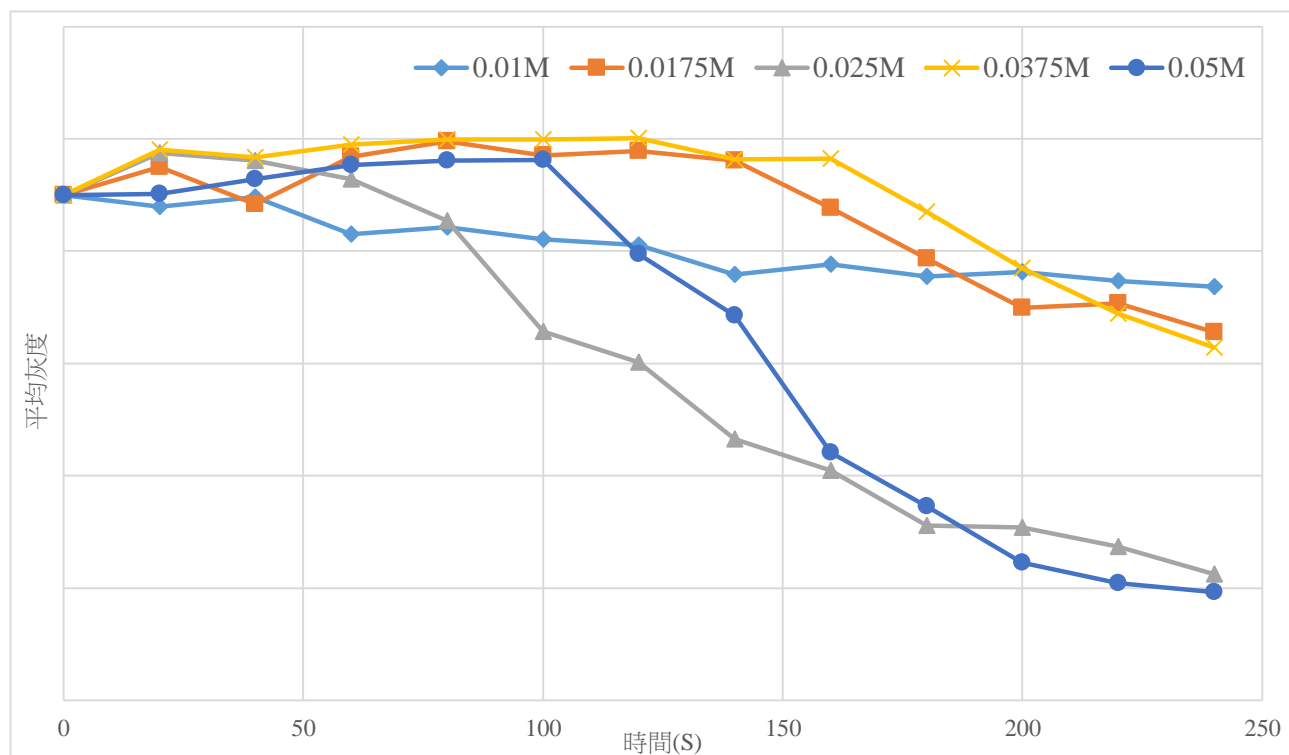


圖二十九：「王」字型印章樣本

(三) 微量滴管

於是，我們決定用微量滴管，來計算胺基酸的用量，滴在濾紙上 10m-ml 的量所擴散而成的圓，與拇指指紋的大小相近，恰好便於分析且不會過度浪費。

三、濃度與成色之探討



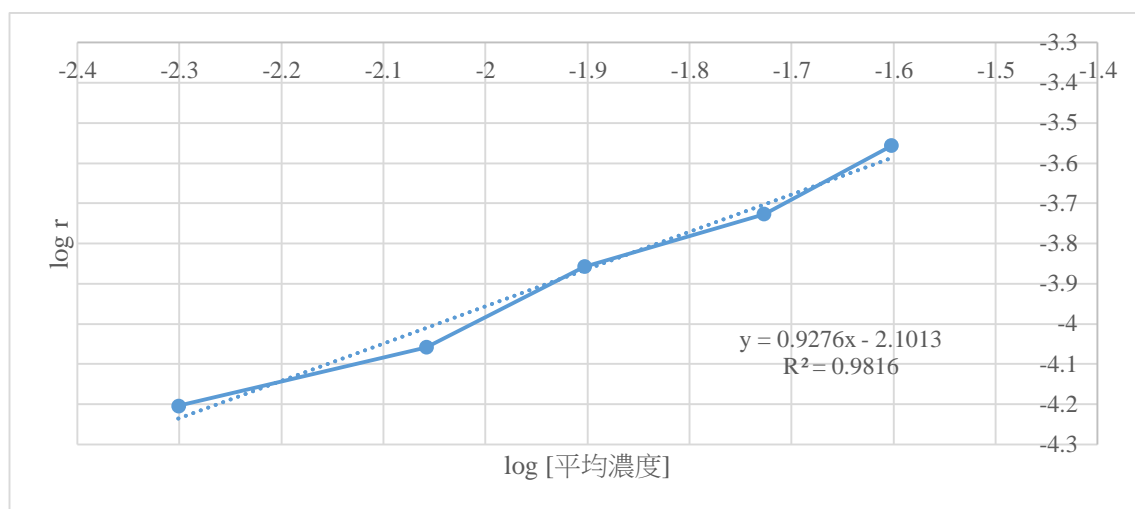
圖三十：平均灰度與時間關係圖

從圖三十中我們可以發現，濃度的不同會使的反應產生羅曼紫的時間與深淺產生改變（灰度下降的趨勢），大致來說，濃度越高，從未反應到反應足夠深度的時間愈短（灰度下降的趨勢越陡）。

四、胺基酸之反應級數

從 $r = k[\text{胺基酸}]^x[\text{寧海德林}]^y$ ，我們可以同取 \log ，並可以從中推測出在繪製的 $\log r$ -

log [平均濃度]圖內 $y = 0.9276x - 2.1013$ 的趨勢線斜率 0.9276 即是此反應中胺基酸之反應級數。



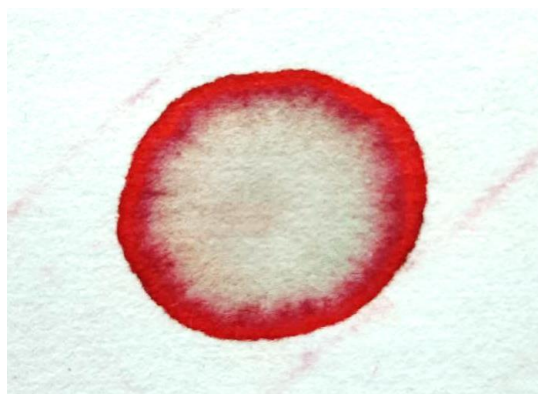
圖三十一：log r-log [平均濃度]關係圖

而查詢文獻後，我們發現在寧海德林與胺基酸反應中，胺基酸與寧海德林的反應級數為一級，比較我們所求出的 0.9816，數值大致相同。

五、金屬離子對於成色之探討

(一) 鋅離子

在反應過程中添加鋅離子，可以使原先反應所生成的羅曼紫之顏色，轉變為螢光的顯色，在刑事上，仍然常使用鋅離子與雷射光來照射諸多潛伏指紋。



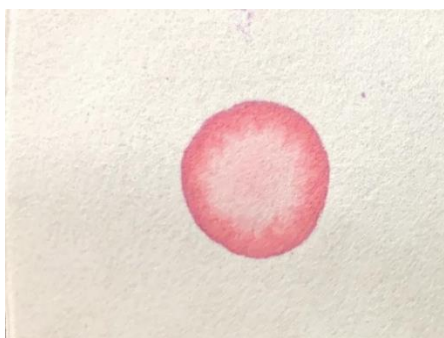
圖三十二：鋅離子螢光成色

(二) 銅離子

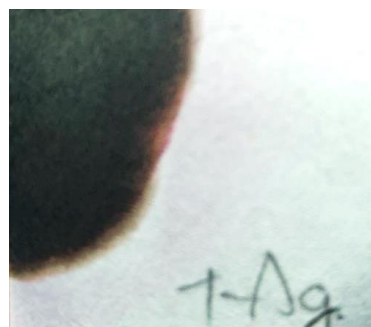
在反應之中加入銅離子，可以令原本的藍紫色轉變為血紅色。

(三) 銀離子

在反應之中加入銀離子，可以令原本的藍紫色轉變為棕色，而後轉變為深褐色。



圖三十三：銅離子成色



圖三十四：銀離子成色

我們嘗試在寧海德林的配方中添加少許鋅離子、銅離子、銀離子，然而並沒有顯著的加快反應速率，而是在顯色方面有了明顯改變，我們推論是由於胺基酸、寧海德林皆具有能與金屬離子配位的活性官能基(如胺基、羥基等)，因此使得圖?之反應無法進行。儘管如此，查閱文獻也發現鋅離子可做為指紋螢光顯色的添加物

六、寧海德林與酸鹼性胺基酸溶液反應

從圖十二中，我們可以發現，在 120 到 180 秒的區間，pH 5 的灰度值明顯低於另外三者（較深），因此，我們推論在 pH=5 時，寧海德林與胺基酸反應可以較快抵達可供辨識的成色。而比較不同溫度下的灰度趨勢可知，高溫下(50°C)之灰度下降趨勢較低溫快(35°C)，此結果符合預期，因高溫下速率常數大，使顯色反應速率變快。

七、不同酸對寧海德林與胺基酸反應的影響

（一）稀硫酸

在反應過程中，稀硫酸僅提供了 H^+ 離子，這也使的我們選擇稀硫酸作為對照組，和添加其他種類的酸做出比較。

（二）草酸與醋酸

在反應過程中，草酸與醋酸不僅提供了 H^+ 離子，同時也提供了配位基，使得我們添加草酸與醋酸，不僅提供酸性環境也有可能改變他的反應途徑（加快）卻提供相同的成色。

（三）硝酸

在反應過程中，硝酸除了提供了 H^+ 離子，從圖一中我們發現寧海德林與胺基酸脫醛的反應機構，也使我们想利用硝酸的氧化力來加速他脫醛的作用。

（四）比較

從實驗結果我們可以發現，在加入酸後，完全反應的時間可以縮短，時間關係大約為醋酸≡草酸<硝酸<加入稀硫酸，我們推測這些酸的效用大約為配位酸>氧化酸>僅提供 H^+ 離子。

六、 結論

一、避免藥品的過度浪費

（一）在 0.05M 的胺基酸溶液 10m-ml 的情況下按壓 10 下可使寧海德林達到恰過量。

（二）使用微量滴管滴 0.05M 的胺基酸溶液 10m-ml 可使顏色到達有助觀察之點，且大小符合原先對指紋的觀測。

二、濃度與反應級數

- (一) 在不同濃度的胺基酸溶液下，隨著胺基酸溶液的濃度越大，羅曼紫的顏色也隨之增加，灰度值亦越小。
- (二) 濃度越高，從未反應到該濃度所能到達之最大深度的時間愈短（斜率愈大）。
- (三) 透過 $r = k[\text{胺基酸}]^x[\text{寧海德林}]^y$ 可求出此反應的反應級數約為一級。

三、酸鹼環境對反應的影響

- (一) 在酸性環境下，於指定範圍內寧海德林與胺基酸反應生成的羅曼紫顏色較深。
- (二) 比較酸性下的 pH3、pH5、pH7（中性）可以發現在 pH=5 時反應較為快速。

四、酸的種類對反應的影響

與不同酸反應之後，反應速率：草酸 \div 醋酸 $>$ 硝酸 $>$ 稀硫酸，而我們推論原因應該是因為醋酸、草酸與寧海德林產生配位，硝酸的氧化力影響反應中的脫醛，而稀硫酸僅提供氫離子，因此我們認為：配位酸 $>$ 氧化性酸 $>$ 僅提供氫離子的酸。

五、配方建議

相較於原先寧海德林噴灑在沾附手指指紋的紙上，放入 60°C 的烤箱需烘烤 10 多分鐘才能完全顯色，在絲胺酸水溶液添加草酸或醋酸至 pH=5 後（如圖二十二、圖二十三），於接近室溫的 35°C，可在 8 分鐘左右便達到和之前相同的顯色效果。如此一來，可減少加熱至過高溫度的能源消耗。

七、參考資料及其他

1. 凌永健、雷秀玲（2012）。奈米材料及質譜成像於潛伏指紋鑑識。科儀新知，33（4），54-58
2. Joseph Almog and Hagai Glasner(2010). Ninhydrin Thiohemiketals: Basic Research Towards Improved Fingerprint Detection Techniques Employing Nano-Technology