

第十三屆旺宏科學獎

成果報告書

參賽編號：SA13-319

作品名稱：利用亞鐵離子除去頭皮分泌的
雙氧水以解決白髮的苦惱

姓名：林育如

關鍵字：白頭髮、雙氧水、亞鐵離子

壹、研究動機

我媽媽是位美髮師，觀察她在為客人染髮時會加入染膏與 H_2O_2 混合然後塗抹於客人的頭髮上。染髮加入 H_2O_2 的目的是讓頭髮漂白以便於上色，好奇的我在找頭髮漂白資料時發現白髮的原因早期以為是年齡漸長，在髮囊根部的色素細胞會停止製造黑色素，沒有了黑色素，頭髮就會變白。而近期科學家發現是因為人的毛囊新陳代謝時會產生少量 H_2O_2 ，年輕時身體裡的過氧化氫酶會把 H_2O_2 分解成水和氧。年紀大了以後，由於過氧化氫酶分泌不足， H_2O_2 無法被分解，新長出來的頭髮會與 H_2O_2 反應就漂白了⁽¹⁾。試想若能去除年老後無法被分解的 H_2O_2 ，是否可以不再染髮，因此有了以下的研究構想。

貳、研究目的

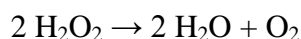
- 一、探討不同濃度 Fe^{2+} 溶液分解 H_2O_2 的影響
- 二、不同 pH 值緩衝液配製成 Fe^{2+} 溶液對分解 H_2O_2 的影響
- 三、添加不同濃度的維生素 C 於 Fe^{2+} 溶液中，探討反應後 Fe^{2+} 殘留量
- 四、鐵離子溶液添加維生素 C 是否可分解 H_2O_2

參、研究過程

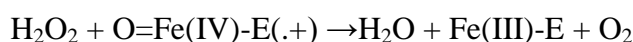
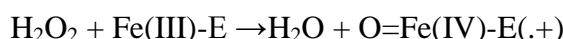
一、原理

1. H₂O₂ 導致白髮的形成

- (1) 人的毛囊因新陳代謝而產生少量 H₂O₂，年輕時身體裡的過氧化氫酶會把 H₂O₂ 分解成水和氧。年紀大了以後，由於酶分泌不足，H₂O₂ 無法被分解，新長出來的頭髮遇 H₂O₂ 就漂白了。⁽¹⁾
- (2) 過氧化氫酶催化 H₂O₂ 分解的反應可以表示如下：⁽²⁾



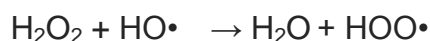
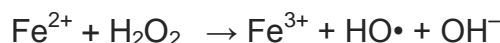
雖然過氧化氫酶完整的催化機制還沒有完全被了解，但其催化過程被認為分為兩步：



其中，「Fe(-)E」表示結合在酶上的血紅素基團(E)的中心鐵原子(Fe)。Fe(IV)-E(.+)為 Fe(V)-E 的一種共振形式，即鐵原子並沒有完全氧化到+V 價，而是從血紅素上接受了一些「支持電子」。因而，反應式中的血紅素也就表示為自由基陽離子(.+).

2. Fenton 試劑(Fenton's reagent)

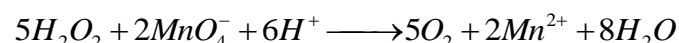
Fenton 試劑係指過氧化氫(H₂O₂)配合二價亞鐵離子同時使用，其中 H₂O₂ 會分解成氫氧自由基(HO•)，進而破壞有機物的 C-H 鍵，故工業上用它來處理有機廢水。Fenton 反應的機制⁽³⁾ 如下



由此反應機制可見利用二價亞鐵離子(Fe²⁺)確實可除 H₂O₂ 去，但過程中會產生自由基可能對頭皮不好，於是添加「維生素 C」除了可以捕捉 Fenton 反應產生的自由基，進一步亦可使 Fe²⁺ 抗氧化。

3. 測 H₂O₂ 含量的原理

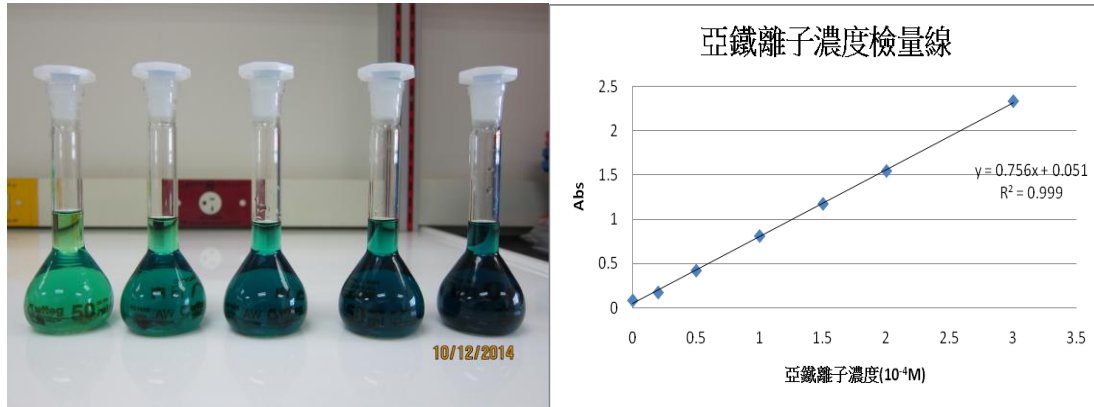
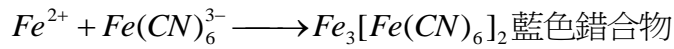
利用氧化還原的原理



以已知濃度的 KMnO₄ 滴定可推算 H₂O₂ 的濃度。

4. 測亞鐵離子的原理

利用亞鐵離子與赤血鹽 $K_3[Fe(CN)_6]$ 反應產生 $Fe_3[Fe(CN)_6]_2$ 普魯士藍呈藍色，再以分光光度計波長 700nm 測其吸光度，建立檢量線用以測定未知濃度亞鐵離子之濃度。

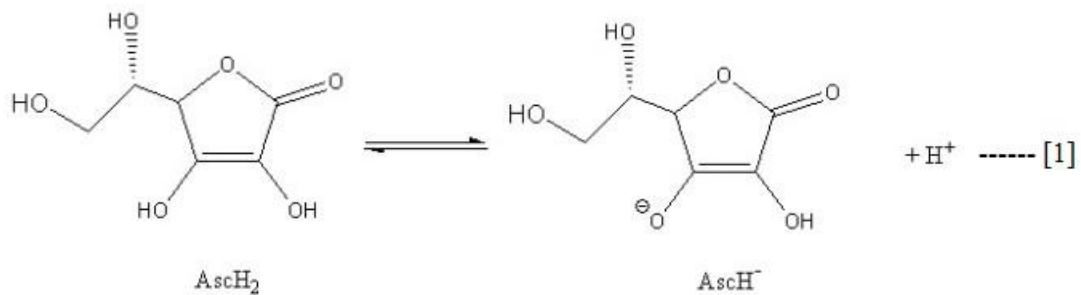


不同濃度亞鐵離子與 $K_3[Fe(CN)_6]$ 反應

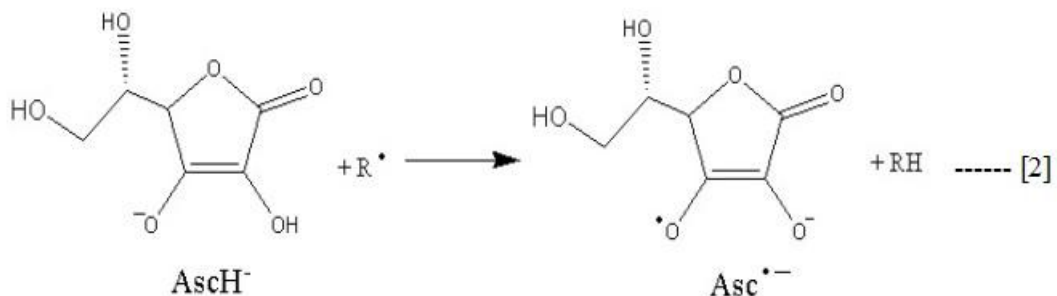
5. 維他命 C 抗氧化原理⁽⁴⁾

維生素 C 在人體內擔任抗氧化劑 (antioxidant) 的角色，其抗氧化機制如下：

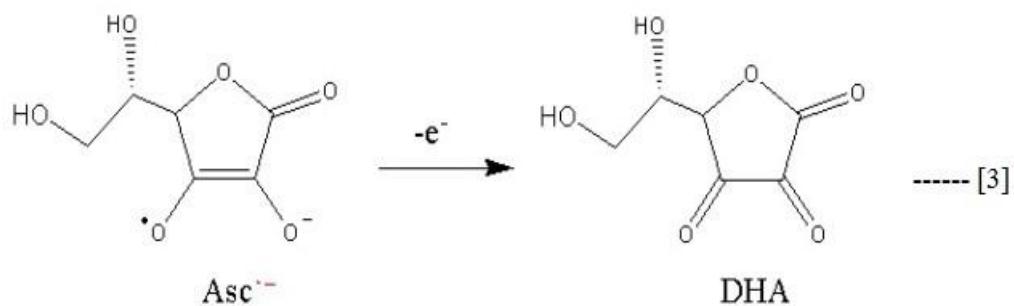
(1) 首先 $AscH_2$ 游離出 H^+ ，形成 $AscH^-$ ，如反應式 [1] 所示：



(2) 接下來 $AscH^-$ 再與自由基 (R^\bullet) 作用，生成 $Asc^{\bullet-}$ ，如反應式 [2] 所示：



自由基 (R^\bullet) 形成 RH 後，成為穩定化合物，進而終止其自由基的連鎖反應。



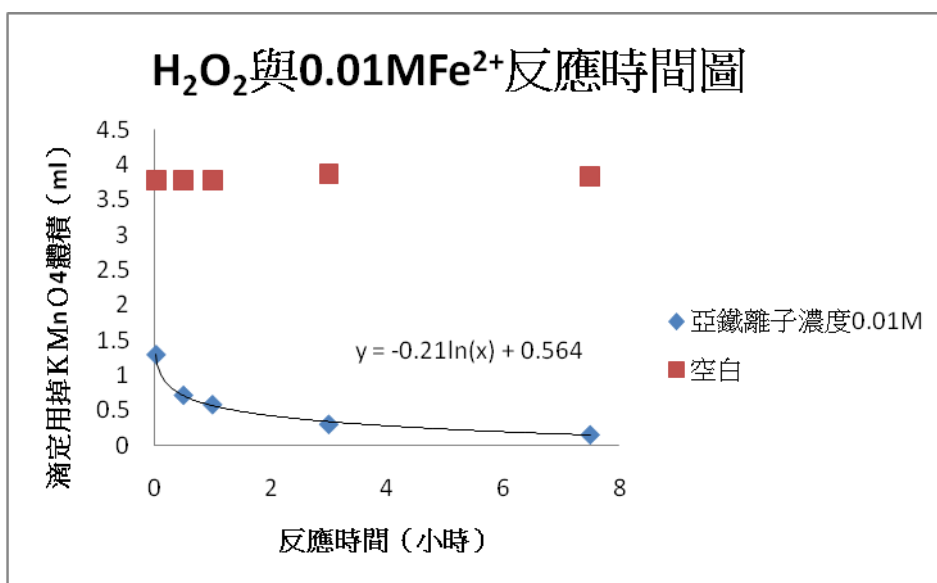
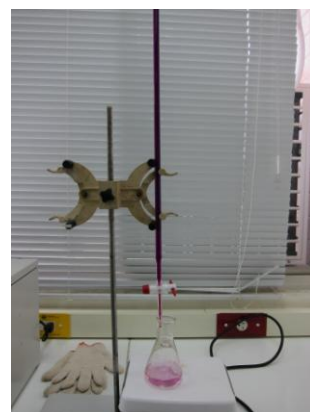
而維生素 C 變為穩定共振結構的三羰基抗壞血酸根自由基 (tricarboxyl ascorbate free radical, $\text{Asc}^{\bullet-}$)，最後再失去一電子，成為二酮 (diketone) 結構的去氫型抗壞血酸 (dehydro-L-ascorbic acid) DHA，其化學式為 $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$ 。我們的研究試圖利用維生素 C 的還原性還原 Fe^{3+} 或捕捉 Fenton 反應中產生的自由基。

肆、結論

一、研究結果

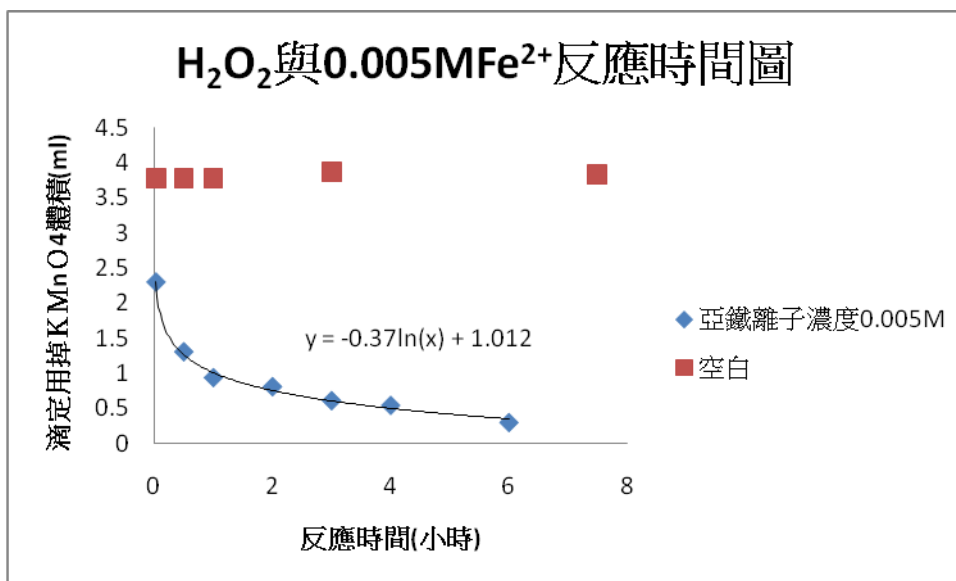
1. 探討不同濃度 Fe^{2+} 溶液對分解 $0.008\text{M H}_2\text{O}_2$ 的影響

- a. 取 50ml 、 0.01M 硫酸亞鐵溶液與 50ml 、 $0.008\text{M H}_2\text{O}_2$ 混合進行反應，混合之後馬上取樣 10ml 進行滴定。滴定前以 1.0M 、 10ml 硫酸酸化，再以 0.005M KMnO_4 (標定過) 進行滴定。之後反應 0.5 、 1 、 3 、 7.5 小時，各取 10ml 進行滴定。重複以上實驗多次，多次取實驗平均值。



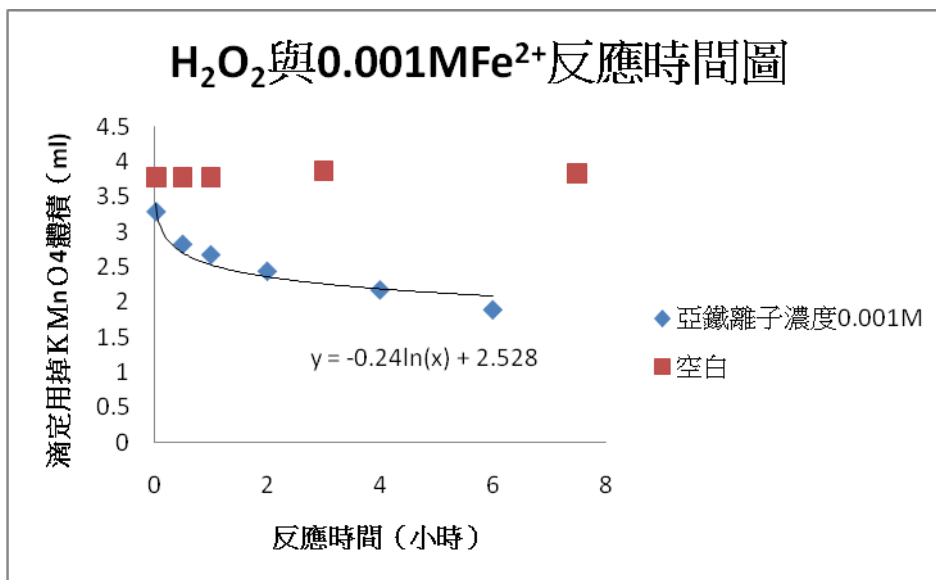
圖(一) 0.01M FeSO_4 與 $0.008\text{M H}_2\text{O}_2$ 反應時間圖

- b. 同實驗 a 步驟，但改變硫酸亞鐵溶液濃度為 0.005M。反應的量放大為各 100ml，且取樣滴定的量亦放大為 20ml，以降低滴定的誤差。
 (圖中數據為換算回 10ml 後)



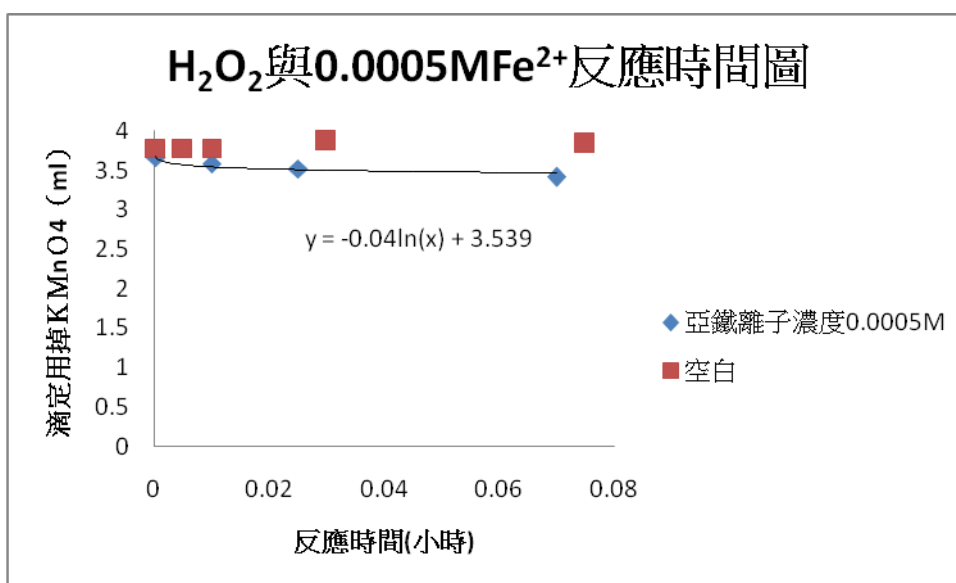
圖(二) 0.005M FeSO₄ 與 0.008M H₂O₂ 反應時間圖

- c. 同實驗 b 步驟，但改變硫酸亞鐵溶液濃度為 0.001M。



圖(三) 0.001M FeSO₄ 與 0.008M H₂O₂ 反應時間圖

d.同實驗 b 步驟，但改變硫酸亞鐵溶液濃度為 0.0005M。



圖(四) 0.005M FeSO₄ 與 0.008M H₂O₂ 反應時間圖

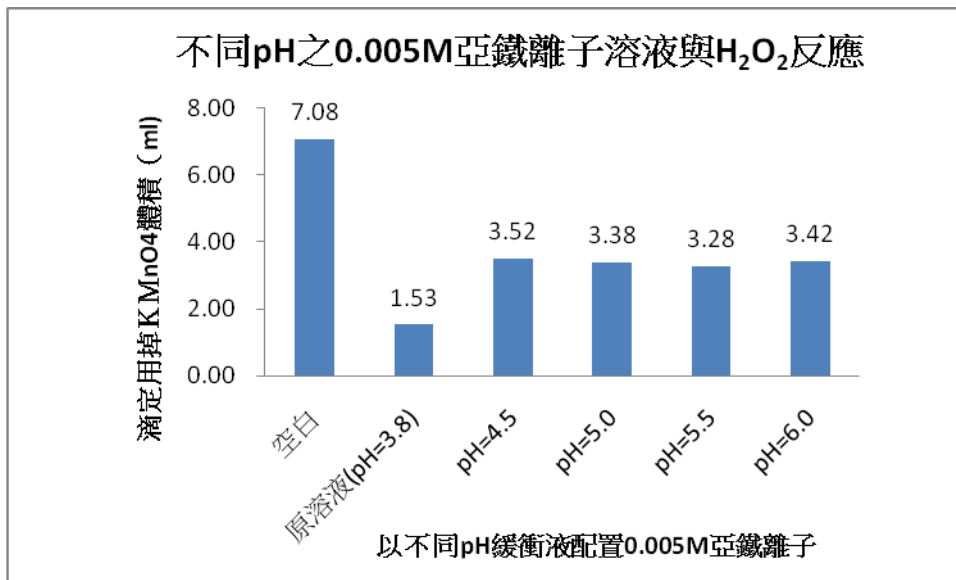
Y 軸以滴定用掉之 KMnO₄ 的體積來表示，而未換算成 H₂O₂ 濃度，主要是因為取樣溶液中所含未分解之 H₂O₂ 和 Fe²⁺均可與 KMnO₄ 反應。但相對於的 Fe²⁺ 含量，殘留未分解的 H₂O₂ 仍是主要。故選擇以此方式定量反應後剩餘的 H₂O₂。實驗中濃度最高 0.01M Fe²⁺空白實驗的滴定用掉 KMnO₄ 為 2.15ml、0.001M Fe²⁺空白實驗的滴定用掉 KMnO₄ 為 0.25ml。

2. 探討不同 pH 值緩衝液配製 Fe^{2+} 溶液對分解 $0.008\text{M}\text{H}_2\text{O}_2$ 的影響

配製 pH=4.5、pH=5.0、pH=5.5、pH=6.0 的緩衝溶液($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$)，再以此緩衝溶液稀釋配製 0.005M 之 FeSO_4 ，取 10ml 、 0.008M H_2O_2 分別與 10ml 、 0.005M 不同 pH 值之 FeSO_4 溶液混合反應，2 小時後，加入 20ml 、 1.0M 硫酸酸化後以 KMnO_4 滴定，定量未分解的 H_2O_2 。

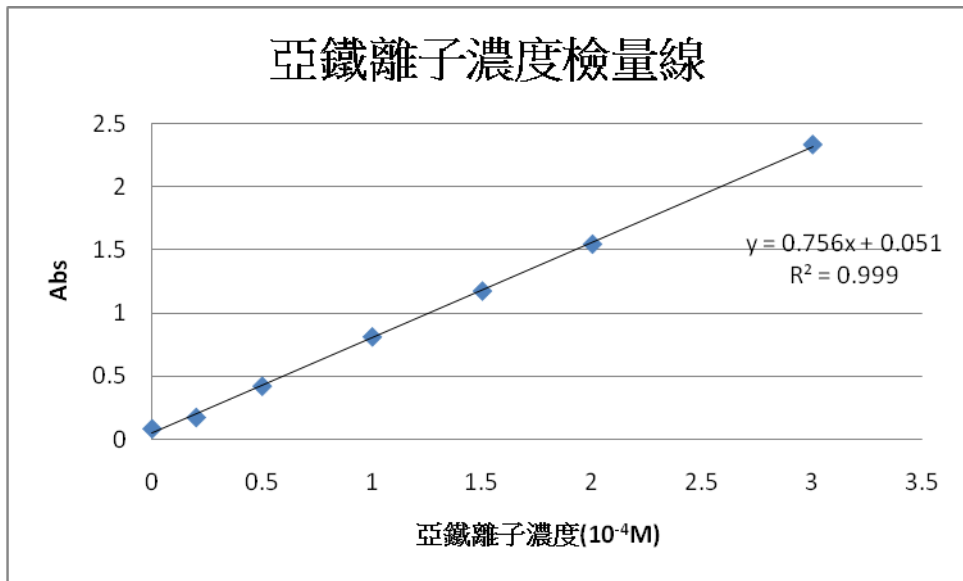


分別以水、pH=4.5、pH=5.0、pH=5.5、pH=6.0 緩衝溶液($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$)配製 0.005M 的 FeSO_4 溶液



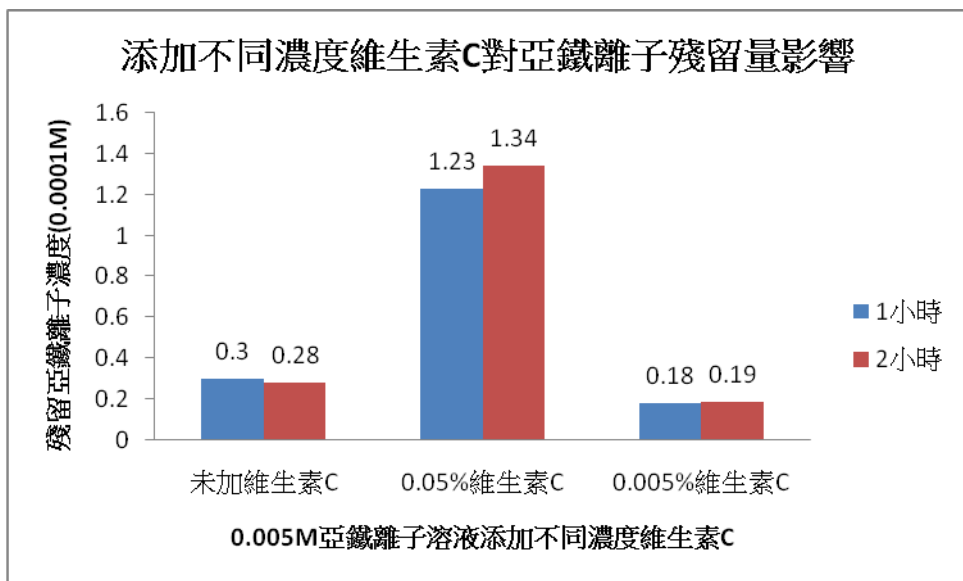
圖(五)不同 pH 值 Fe^{2+} 溶液與 H_2O_2 反應圖

3. 添加不同濃度的維生素 C 於 Fe^{2+} 溶液中，探討反應後 Fe^{2+} 殘留量
- a. 分別取 0、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0ml 0.005M FeSO_4 溶液加入 0.1M $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液 1.5ml 後稀釋至 50ml。各溶液以波長 700nm 測 UV。



圖(六)以赤血鹽檢測亞鐵離子濃度之檢量線

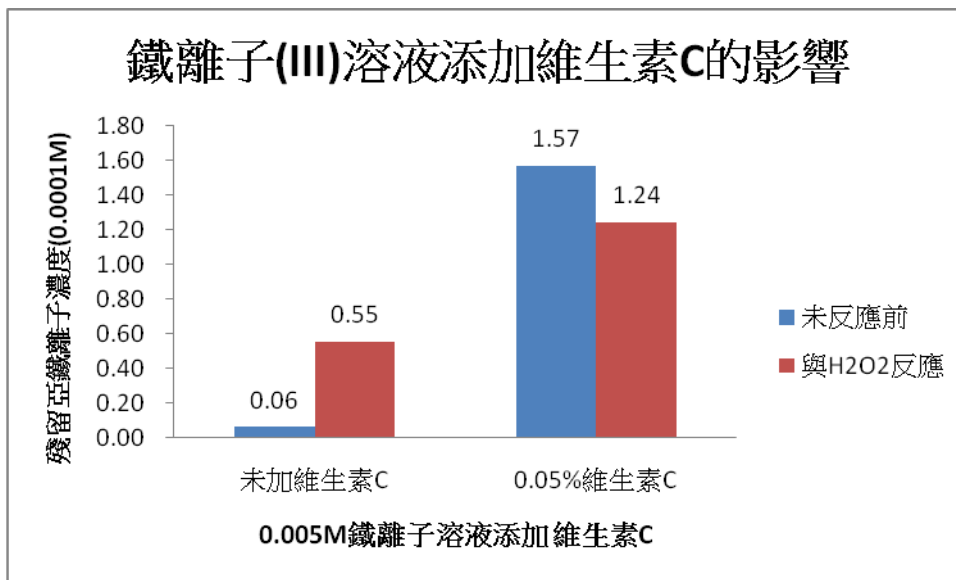
- b. 分別以 0.05%、0.005% 維生素 C 配製 0.005M 之 FeSO_4 溶液，再取 10ml FeSO_4 (分別為以水、0.05%、0.005% 維生素 C 稀釋配製) 與 10ml、0.008M H_2O_2 反應，在反應 1 小時及 2 小時後，分別取出 3ml 加入 0.1M $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液 1.5ml 稀釋至 50ml，以波長 700nm 測 UV。由檢量線換算殘留 Fe^{2+} 濃度。



圖(七)添加不同濃度維生素 C 於亞鐵離子反應濃度變化圖

4. Fe^{3+} 溶液中添加維生素 C 對分解 $0.008\text{M H}_2\text{O}_2$ 的影響

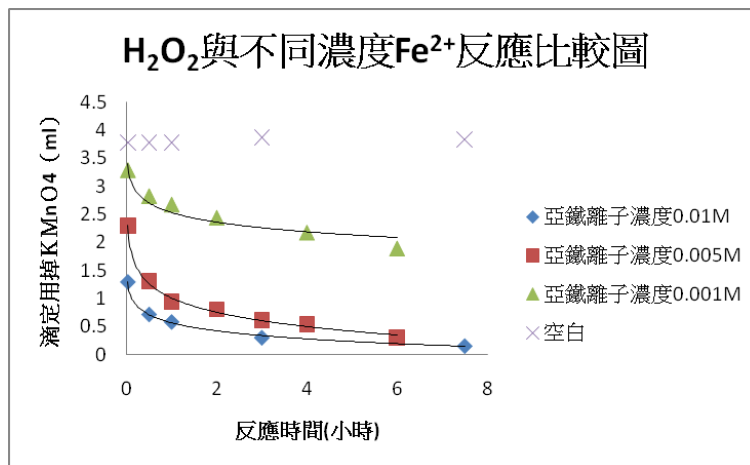
分別以 H_2O 、 0.05% 維生素 C 配製 0.005M 之 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 溶液，再取 10ml $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ (分別為以水、 0.05% 維生素 C 稀釋配製) 與 10ml 、 $0.008\text{M H}_2\text{O}_2$ 反應，在反應 1.5 小時後，分別取出 3ml 加入 $0.1\text{M K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液 1.5ml 稀釋至 50ml ，以波長 700nm 測 UV。由檢量線換算 Fe^{2+} 濃度。



圖(八)鐵離子(III)溶液添加維生素 C 與 H_2O_2 反應產生 Fe^{2+} 濃度圖

二、結果討論

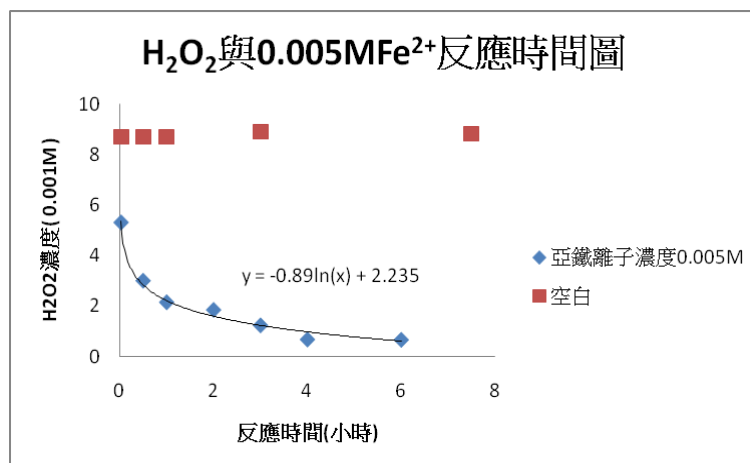
1. 本研究中選擇探討分解 0.008M 的 H_2O_2 ，因無法量測出一般頭皮分泌 H_2O_2 的濃度，於是參考文獻⁽¹⁾的研究以皮囊分泌 H_2O_2 的大量為主進行研究。由實驗結果發現不同濃度 Fe^{2+} 對分解 H_2O_2 的影響如下圖



其中 0.005M Fe^{2+} 無論在反應前 30 分鐘或後面 1 小時至 6 小時的分解速率均較高(由斜率判斷)。



實驗中高濃度 Fe^{2+} 的與 H_2O_2 反應時出現黃色沉澱，推測是反應產生 Fe^{3+} 與 OH^- 的沉澱。在此反應中 Fe^{2+} 可能扮演還原劑直接與 H_2O_2 反應，也可能是催化劑進行 Fenton 反應。因此高濃度不一定反應速率就高。



參考文獻⁽¹⁾的研究中提到毛囊中存在 0.001M 的 H_2O_2 則仍有漂白黑色素的效應，換算滴定用掉 KMnO_4 的量，並假設其完全與 H_2O_2 時(實際上可能與微量的亞鐵離子反應)得到數據如上圖。則 4 小時之後 H_2O_2 濃度可低於 0.001M。故之後的研究以 0.005M Fe^{2+} 進行探討。

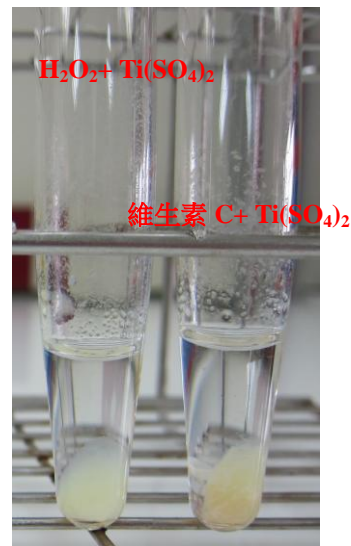
2. 不同 pH 值緩衝液配製之 0.005M FeSO_4 溶液實驗中，考量健康頭皮 pH 值在 4.5~6.5，故實驗以 pH=4.5、pH=5.0、pH=5.5、pH=6.0 為主去探討，由以下照片看見右邊 pH=6.0 的 FeSO_4 溶液呈現沉澱。

由圖(五)實驗結果呈現以水配製的原液(0.005M 的 FeSO_4 溶液)分解效果最佳，但此溶液 pH=3.8，若考慮頭皮使用時仍須解決此問題。(或許進一步探討較低濃度 H_2O_2 所需 FeSO_4 的濃度較低，就可克服問題)



- 3.

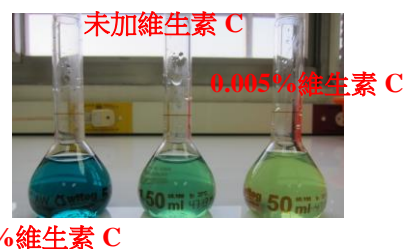
添加不同濃度的維生素 C 於 Fe^{2+} 溶液中的實驗，原本想追蹤 H_2O_2 的變化量，但實驗中使用 KMnO_4 的滴定方法追蹤 H_2O_2 的量，此時遇到的問題是 KMnO_4 亦會與維生素 C 反應，維生素 C 造成的測定干擾無法扣除。亦嚐試過利用 $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$ 與 H_2O_2 錯合產生沉澱的方式，但 $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$ 依然會與維生素 C 反應。由於逼近交件時間於是選擇測量 Fe^{2+} 濃度的變化。



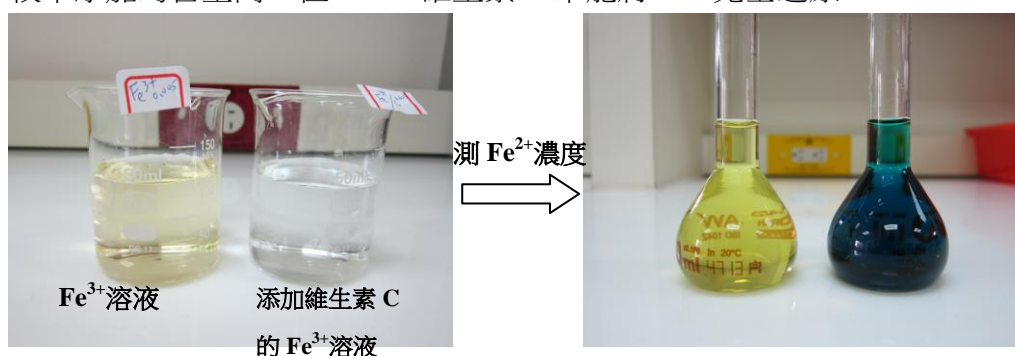
照片左邊為 Fe^{2+} (pH=3.8) 溶液與 H_2O_2 反應，右邊為添加 0.05% 維生素 C 之 Fe^{2+} 溶液 (pH=3.4) 與 H_2O_2 反應。添加 0.05% 維生素 C 反應瞬間的沉澱消失了。可能是 pH 值影響，也可能維生素 C 還原 Fe^{3+} 減少沉澱的產生。



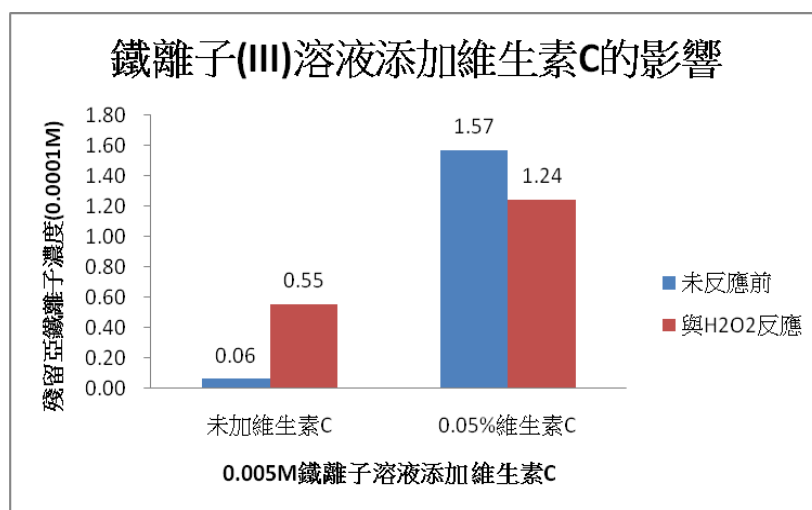
由實驗結果圖(七)顯示出，添加 0.05% 維生素 C 於 Fe^{2+} 溶液中與 H_2O_2 反應，在反應 1 小時及 2 小時之後有較高的濃度的 Fe^{2+} 殘留。但因為未能測量 H_2O_2 濃度，所以無法證實對分解 H_2O_2 的幫助。另一發現為加 0.005% 維生素 C 於 Fe^{2+} 溶液中與 H_2O_2 反應後殘留 Fe^{2+} 濃度低於未添加維生素 C，但無更多數據可進一步解釋此現象。



4. 在 Fe^{3+} 溶液中添加維生素 C 對分解 $0.008\text{M}\text{H}_2\text{O}_2$ 的影響實驗中，同樣因為維生素 C 會對滴定測定造成干擾，所以暫以測定 Fe^{2+} 濃度對此實驗進行探討。實驗發現添加 0.05% 維生素 C 的 Fe^{3+} 溶液顏色變淡，可測得亞鐵離子濃度較未添加的含量高，但 0.05% 維生素 C 未能將 Fe^{3+} 完全還原。



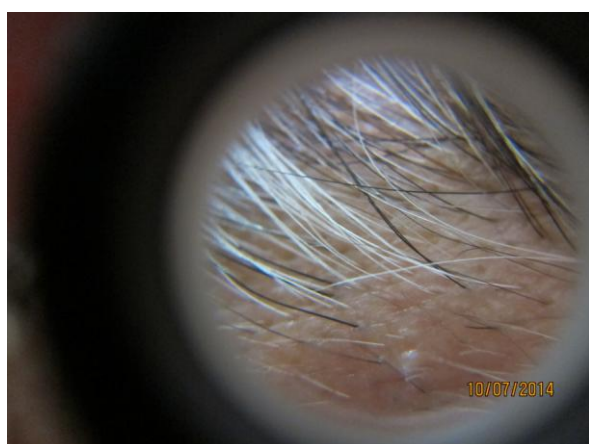
在 Fe^{3+} 溶液、添加 0.05% 維生素 C 的 Fe^{3+} 溶液分別與 H_2O_2 的反應，添加 0.05% 維生素 C 的 Fe^{3+} 溶液反應前亞鐵離子 (Fe^{2+}) 濃度較高，反應 1.5 小時後亞鐵離子濃度下降。未添加維生素 C 的 Fe^{3+} 溶液也因為電位關係 Fe^{3+} 溶液被 H_2O_2 還原產生 Fe^{2+} 。



仍嘗試測試扣除維生素 C 對測定 H_2O_2 含量的干擾，以進一步證實維生素 C 的添加對 H_2O_2 被分解的幫助。

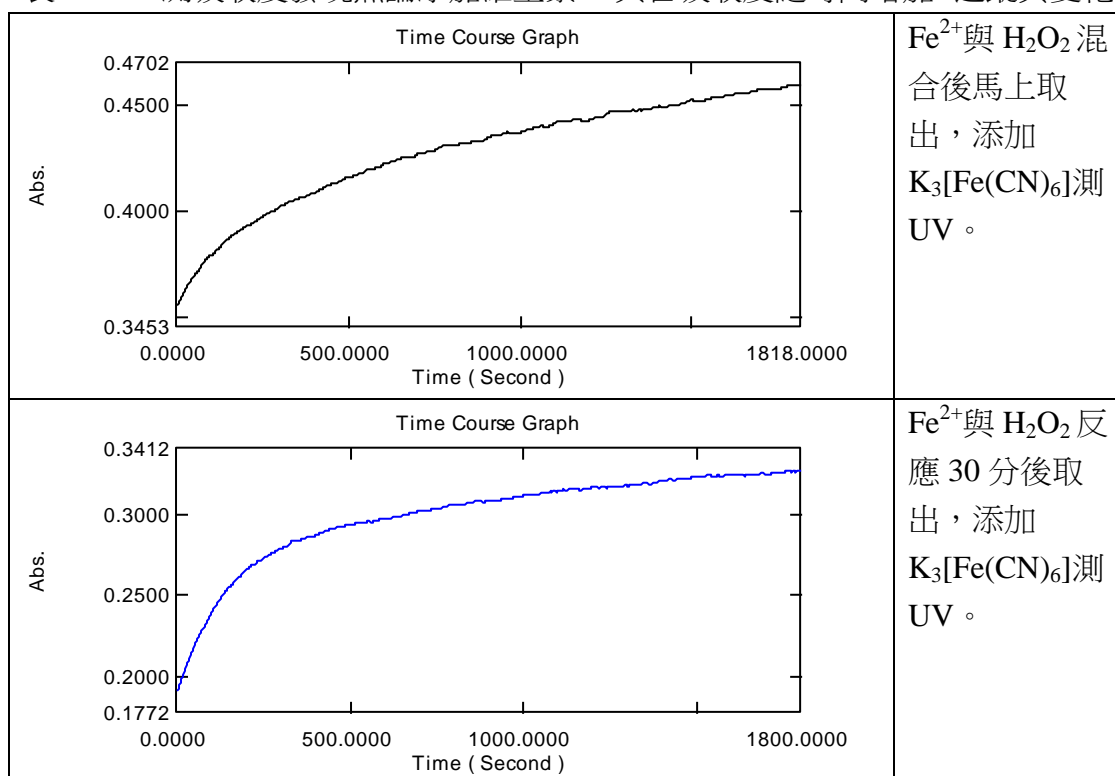
伍、討論及應用

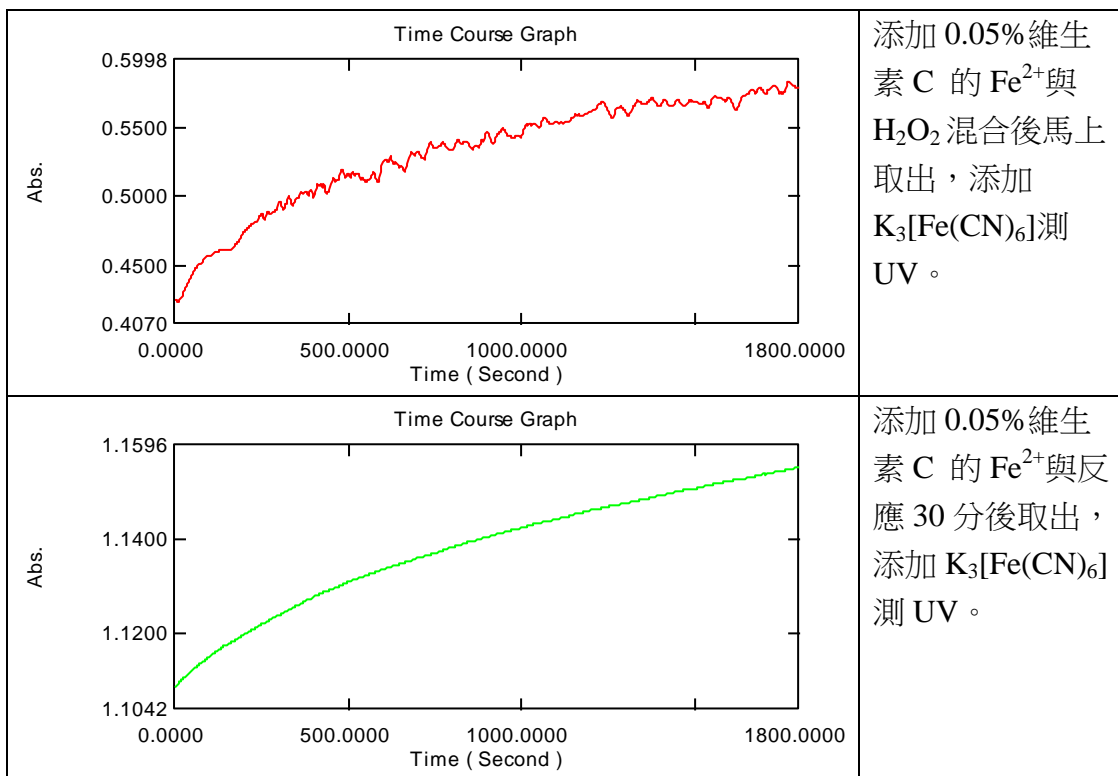
進行此研究的過程中發現關於 Fe^{2+} 與 H_2O_2 的反應是個複雜又有趣的問題，到底怎樣的條件之下可以使 Fe^{2+} 扮演催化劑非還原劑而能持續分解 H_2O_2 。但限於設備和時間問題，無法進一步探討。本研究的另一局限是實驗的結果與塗抹於皮膚上是否亞鐵離子可確實被吸收，進而分解皮囊中的 H_2O_2 仍是未知。曾經尋找過年紀大的實驗黑老鼠，但老鼠壽命只有 2~3 年且老化的老鼠其毛髮也只有少數幾根變白，並不易觀察。若能進行人體測試將有更進一步答案。



透過 10 倍率的放大鏡可觀察髮根

另一值得探究的是在測試亞鐵離子殘留測試時，添加 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 後，以波長 700nm 測吸收度發現無論添加維生素 C 與否吸收度隨時間增加，追蹤其變化。





陸、參考資料

1. J. M. Wood ; H. Decker ; H. Hartmann Senile hair graying: H₂O₂-mediated oxidative stress affects human hair color by blunting methionine sulfoxide repair July 2009The FASEB Journalvol. 23 no. 7 2065-2075
2. 過氧化氫酶，維基百科
3. Bandara,J. ; Nadtochenko,V. ; Kiwi,J. ; Pulgarin,C. Dynamics of oxidant addition as a parameter in the modeling of dye mineralization (Orange II) via technologies. Wat. Res. 1997,35(3), 87-99.
4. <http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=6572> 科技部高瞻自然科學教育資源平台