

## 實驗十 水樣中鐵的檢測

### 一、目的

利用紫外線-可見光光譜儀( UV-visible spectrophotometer )檢測水樣中鐵的含量。



圖 10-1 將樣品放入 cell

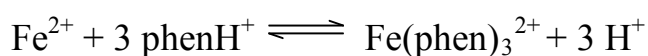


圖 10-2 將 cell 放入 UV-VIS 光譜儀中

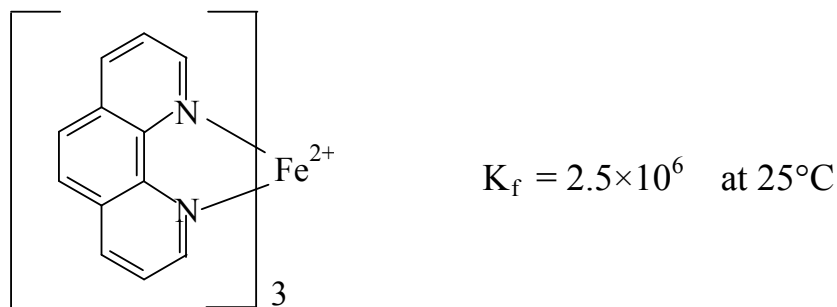
## 二、原理

### A. 亞鐵離子與 1,10 二氮雜菲的錯合

1,10-phenanthroline (orthophenanthroline)經常用來檢測供應水中的亞鐵離子含量。此試劑是弱鹼性，在酸性介質中形成phenanthroline ion, phenH<sup>+</sup>。phenH<sup>+</sup>的兩個氮原子，共提供二對孤對電子與Fe<sup>2+</sup>形成配位共價鍵。三個orthophenanthroline分子與Fe<sup>2+</sup>結合，形成穩定的錯合物。



此錯合物的結構如下，常被稱為”ferroin”。



此形成錯合物的定量實驗，pH範圍是3至9。pH = 3.5時，可以避免鐵鹽形成磷酸化合物的沉澱，所以是最常採用的酸鹼度。溶液中加入過量的鹽酸羥胺當還原劑，以維持Fe<sup>2+</sup>的狀態。

### B. 定量吸光測量分析

定量吸光測量分析，係基於吸收物質的量與光吸收量之間的關係。將樣品以外的所有試劑配成的溶液作空白 (blank) 試驗，再測試樣品在溶液中的吸收值，光譜儀上所顯示樣品 (sample) 測量值時，表示已扣除空白試驗的吸收值，為純樣品的吸收值。

光譜儀中，單色光通過厚度 $db$ 的一層溶液時，光量減低 $dp$ 與光的強度(intensity)  $p$ 、樣品濃度 $C$ 及液層厚度 $db$ 成正比  $-dp = k p C db$  ( $k$ 為常數值)將此一方程式重新排列，並在 $P_0$  (入射光強度)及 $P$  (通過厚度為 $b$ 的液層之光強度)之間積分。

$$- \int_{P_0}^P \frac{dp}{p} = k \int_0^b C db$$

$$- \ln \frac{p}{P_0} = kbC$$

$$p = P_0 e^{-kbC}$$

$$p = P_0 10^{-abC} \quad \left( a = \frac{k}{2.303} \right)$$

$$\log \frac{P_0}{p} = abC$$

$$T = \frac{p}{P_0} \quad ( T : \text{透過率 transmittance} )$$

$$\log \frac{1}{T} = abC$$

$$-\log T = abC$$

$$A = abC \quad \text{----- Beer's Law}$$

$A$  : absorbance 吸收度

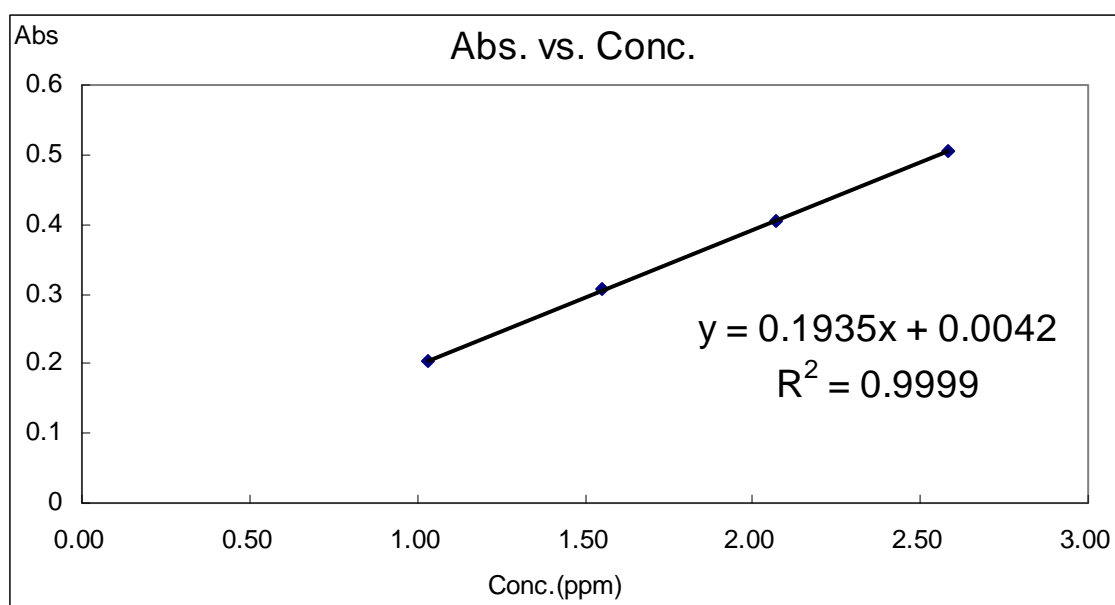
$a$  : absorptivity 吸收活度

$b$  : cell length 樣品槽寬度

$C$  : concentration 體積莫耳濃度

吸收度測量所選擇的波長通常均為 $\lambda_{\max}$ ，其理由有二：(1)在最大吸收波長下操作，可得最大敏感度，因一定濃度的溶液，在此波長下，可產生最強烈的信號。(2)在最大吸收帶處(除非最大吸收帶非常狹窄)，因波長的些微偏差而導致吸收度的改變最小，故可減少誤差的產生。

配製四種不同濃度的標準溶液(standard solution)，在 $\lambda_{\max}$ 測其吸收度。以吸收度(A)對濃度(C)作圖，以最小平方線性迴歸(least square regression method)處理後，得到最適合的直線，稱為校正曲線(calibration curve)。



同一物質的未知濃度以相同試劑配製後，在此特定波長測量吸收度，並且稀釋調整濃度使其吸收度儘可能符合 Beer 定律的範圍內，亦即稀釋到待測稀釋液的吸收度在標準液所繪出的校正曲線內，否則濃度太高，Beer 定律易導致偏差。

稀釋後未知濃度的吸收值即為校正曲線  $y = mx + b$  的  $y$  值，代入後求得  $x$  值再乘上稀釋倍數，即為待測液的濃度 ppm 值。

### 三、藥品(均為助教配製，依規定取各組所需毫升數)

1. 10 mg/L 標準鐵溶液 (Ferrous ammonium sulfate,  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}_{(\text{aq})}$ ) : 精稱 0.0702 g  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}_{(\text{s})}$ 以 50 mL 去離子水溶解，此去離子水內已含 2 mL 濃硫酸，經由玻璃漏斗倒入 1000 mL 體積量瓶，以去離子水多次沖洗稱量瓶和漏斗後，集中洗液於體積量瓶中，且繼續以去離子水稀釋到標線，混合均勻，每組取用 40 mL。
2. 鹽酸羥胺 (Hydroxylamine hydrochloride,  $\text{NH}_2\text{OH}-\text{HCl}_{(\text{aq})}$ ) : 粗稱 10 g  $\text{NH}_2\text{OH}-\text{HCl}_{(\text{s})}$ 溶解於 1 L 去離子水中，每組取 10 mL。
3. 1,10 二氮雜菲 (1,10-phenanthroline monohydrate,  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) : 粗稱 1 g  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_{(\text{s})}$ 溶解在 1 L 的去離子水中，每組取 40 mL。
4. 1.2 M 醋酸鈉 (Sodium acetate,  $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}_{(\text{aq})}$ ) : 粗稱 166 g  $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 溶解在 1 L 的去離子水中，每組取 40 mL。

### 四、器材

1. 紫外光—可見光光譜儀
2. 樣品槽 (cell)
3. 血清型吸量管：2 mL，5 mL，10 mL
4. 體積量瓶：50 mL

## 五、UV-visible spectrophotometer 操作步驟

### 1. Unico UV-2802

#### (一) 開機及暖機:

1. 開啟儀器電源，儀器將自動執行並完成自我測試作業。
2. 此時儀器會自動暖機(15mins)，若是重新開機即可 skip。
3. 選擇需要《YES》Calibration (2~3mins)。
4. 待畫面顯示”SPECTRO-QUEST”，即可依據各種選項進入所要執行的功能。

#### (二) 固定波長測量:

1. 選項《1》Basic mode 光度計模式。
2. 按《SET λ》鍵設定所要執行量測的波長，直接於數字鍵盤上輸入波長後，按下《ENTER》，系統將自動執行空白歸零。
3. 先按《F1》Unit 鍵以及《上下左右》鍵更改濃度單位；按《F2》Mode 鍵以及《上下左右》鍵更改顯示數值為穿透率或吸光度。

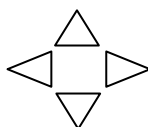


圖 10-3 《上下左右》鍵

4. 將裝好空白試劑(Blank)的液槽放入第一個位置，按《0Abs/100%T》鍵校正空白歸零。
5. 將空白試劑的液槽取出，再將欲量測的樣品試劑之液槽置入，此時畫面上所顯示出的數值即為該樣品的吸光度或穿透率。

#### (三) 關機:

1. 按《ESC/STOP》鍵跳回主畫面。
2. 直接關閉電源即可。

## 2. ChromTech CT-2800 分光光度計標準操作步驟

### 一、 ABS 光度測量

1. 利用 ▲/▼ 選擇 Photometry 後，按 **Enter**
2. 按 **set** 進入，利用 ▲/▼ 選擇 ABS 按 Enter 按 Return 回測量畫面
3. 按 **GOTO  $\lambda$**  進入設定波長，直接按數字設定所需波長，後按 **Enter**，自動回測量畫面。
4. 將 blank 拉入光路徑中，按 ZERO 做歸零動作
5. 將樣品液(sample)拉入光路中按 **START** 開始測量，讀得數據即可。



**☆儀器需保持在通電狀態，所以不需開關儀器本身電源！**

## 六、步驟

### A、校正曲線

1. 以量筒吸取 50 mL 鐵標準液(由助教提供)。
2. 配製標準液：

(1) 標準液標號<1>：

以吸量管吸取 5 mL 鐵的標準溶液放入 50 mL 體積量瓶，加入 0.5 mL hydroxylamine、5 mL sodium acetate 和 5 mL orthophenanthroline。將此溶液靜置 5 分鐘，以去離子水稀釋到標線且混合均勻。

(2) 標準液標號<2>：

以吸量管吸取 7.5 mL 鐵的標準溶液放入 50 mL 體積量瓶，加入 0.5 mL hydroxylamine、5 mL sodium acetate 和 5 mL orthophenanthroline。將此溶液靜置 5 分鐘，以去離子水稀釋到標線且混合均勻。

(3) 標準液標號<3>：

以吸量管吸取 10 mL 鐵的標準溶液放入 50 mL 體積量瓶，加入 0.5 mL hydroxylamine、5 mL sodium acetate 和 5 mL orthophenanthroline。將此溶液靜置 5 分鐘，以去離子水稀釋到標線且混合均勻。

(4) 標準液標號<4>：

以吸量管吸取 12.5 mL 鐵的標準溶液放入 50 mL 體積量瓶，加入 0.5 mL hydroxylamine、5 mL sodium acetate 和 5 mL orthophenanthroline。將此溶液靜置 5 分鐘，以去離子水稀釋到標線且混合均勻。

3. 空白試液：在 50 mL 體積量瓶中加入 0.5 mL hydroxylamine、5 mL sodium acetate 和 5 mL orthophenanthroline。將此溶液靜置 5 分鐘，以去離子水稀釋到標線且混合均勻。
4. 洗淨 cell，測量前以待測溶液沖洗 cell 三次(由稀濃度開始測量)，依照紫外光—可見光光譜儀的操作指示( 設定波長為 508 nm )，先放入空白試液測量”Blank”的吸收值，再測量”Sample”，所得數值即為已扣除試劑吸收值的純樣品吸收值，記錄此數值。每個試液皆測量三次，取平均值。

### **B、檢測水樣中鐵含量**

1. 向助教領取 10 mL 的待測樣品。
2. 在 100 mL 體積量瓶中以吸量管吸取 3 mL 鐵待測樣品，以去離子水稀釋到標線且混合均勻。
3. 以吸量管吸取 Part B 步驟 2 稀釋後待測樣品 7 mL，同 Part A 步驟 3 (空白試液配法)添加試液及測量吸收值，直到吸收值在校正曲線的範圍內，記錄稀釋方法。
4. 利用 Least-Square Regression Line 計算出稀釋後待測樣品的濃度，再換算出原待測樣品濃度，以 ppm 表示。

## 七、實驗數據處理

### A、校正曲線

☆原始鐵標準液濃度：(算式)

$$= \frac{\text{原液量}}{\text{濃度}} \text{ ppm}$$

| 標準液<br>編號 | 原液量     | 濃度計算式 | 濃度<br>(ppm) | 吸收值<br>I | 吸收值<br>II | 吸收值<br>III | 平均<br>吸收值 |
|-----------|---------|-------|-------------|----------|-----------|------------|-----------|
| <1>       | 5 mL    |       |             |          |           |            |           |
| <2>       | 7.5 mL  |       |             |          |           |            |           |
| <3>       | 10 mL   |       |             |          |           |            |           |
| <4>       | 12.5 mL |       |             |          |           |            |           |

☆吸收度(A)對濃度(C)作圖(Least-square regression line)

$$y = \text{_____} x + \text{_____}$$



**B、檢測水樣中鐵含量(待測樣品 10 mL)**

1. 稀釋方法(需詳述稀釋步驟及稀釋倍數)：

\_\_\_\_\_

2. 稀釋後吸收值

(I)\_\_\_\_\_ ; (II)\_\_\_\_\_ ; (III)\_\_\_\_\_

平均值：\_\_\_\_\_

3. 稀釋後濃度 : \_\_\_\_\_ ppm

4. 原待測樣品濃度：\_\_\_\_\_ ppm

**C、技術試評分：\_\_\_\_\_ (由助教評定)**

實驗值 : \_\_\_\_\_ ppm

理論值 : \_\_\_\_\_ ppm

相對誤差 : \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_ %

## 八、實驗問題：

1. 說明紫外線-可見光光譜儀中光源的選擇。
2. 敘述 cell 的使用與清洗。
3. 敘述分光光度計( UV-visible spectrophotometer )的操作過程。

4. 敘述未知濃度樣品的稀釋過程與注意事項。

九、實驗廢(固)液處理：

十、實驗心得與討論：

誤差討論：

心得：

