

中華民國第 61 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高級中等學校組 化學科

團隊合作獎

050202

開發單寧酸檢測法偵測亞鐵、金和銀離子

學校名稱：國立彰化女子高級中學

作者：	指導老師：
高三 林育任	蔡家興
高三 張婉歆	陳柏村
高三 謝宜芹	

關鍵詞：單寧酸、亞鐵離子、銀離子

摘要

近年重金屬污染問題日益頻繁，許多重金屬檢測方法問世，但大多繁瑣且成本高昂，發展快速且簡便的檢測方法刻不容緩。本研究利用單寧酸與特定金屬離子反應後有顏色變化的特性搭配比色法，同時探討單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 間的配位關係，並藉其開發出簡易、快速且方便檢測環境水樣中金屬離子(Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+)的方法。優化條件下，本方法針對 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 線性偵測範圍分別為0.67-100 μM ，0.75-100 μM 及0.37-100 μM ，涵蓋環保署水質監測網的監測標準。且本方法於真實水樣(溫泉水、生態池水)中檢測的添加回收率在85%~120%間，符合分析化學領域要求。可見單寧酸作為化學探針為一可信度高、簡便且可用於實際水樣中的檢測方法。期望能推廣至大學以下機構，定期把關環境水樣。

Abstract

With increasing problems of heavy metal pollution in recent years, many researches for detecting metal ions had been proposed. However, most of them are costly and inefficient, so it is urgent to develop a fast and feasible method for detecting metal ions. In the study, we developed a simple and efficient method to detect ferrous ions (Fe^{2+}), gold ions (Au^{3+}) and silver ions (Ag^+) in different environmental water samples. By applying colorimetry method and investigating the coordination relationships between tannic acid and the three metal ions (Fe^{2+} , Au^{3+} and Ag^+), the sensing scheme is based on the fact that coordination concept between tannic acid and metal ions, as a result of the color change of tannic acid. The linear sensing range of this method for Fe^{2+} , Au^{3+} and Ag^+ ions was 0.67-100 μM , 0.75-100 μM , and 0.37-100 μM , respectively, which contains the monitoring standards on the EPA's aqueous quality monitoring website. The spike recovery for the three metal ions in environmental aqueous samples (spring water and pond water) is 80-100%. It indicated that using tannic acid as a chemical probe is a highly reliable, simple and convenient detection method that can be used in actual aqueous samples. We hoped that it can be applied to experimental curriculum for senior high school.

壹、研究動機

近年來，重金屬污染的案例層出不窮。而重金屬對人體的危害一直是社會關心的議題，檢測水質中的重金屬濃度亦是環保署長期以來努力的目標。因此許多檢測環境水樣中重金屬離子的方法問世，例如：原子吸收/放射光譜(atomic absorption/emission spectroscopy)、冷原子螢光光譜(cold vapor atomic fluorescence spectrometry)和感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)為目前測量重金屬含量主要技術，但其受限於造價昂貴、樣品處理複雜、不適合及時分析等缺點。包括有機小分子、修飾後蛋白質、DNA酵素與核苷酸等化學感測器陸續被開出偵測重金屬離子，然而這些化學感測器受限於水溶性、選擇性、靈敏度與其它陰離子干擾等限制，應用於真實樣品如湖水、土壤、電池與生物樣品重金屬濃度定量的報導相當有限。

查詢相關文獻[1]後，發現單寧酸與特定金屬會有沉澱及變色的情形，因此本組欲藉由單寧酸與金屬離子配位反應的變化，開發一套簡便、靈敏度高且可普遍運用的檢測方法，推廣至大學以下實驗機構，達到定期把關環境水樣的效果。

貳、研究目的



- 一、探討單寧酸在不同緩衝溶液條件下之光學特性及可能原因。
- 二、探討單寧酸與金屬離子結合之光學性質及可能原因。
- 三、優化條件下，單寧酸與亞鐵、銀、及金離子之定性及定量分析。
- 四、優化條件下，單寧酸於真實水樣中金屬離子之添加回收率探討。
- 五、探討單寧酸修飾金奈米粒子效果及其與金屬離子結合之光學性質。

參、研究設備及器材

一、研究設備及藥品

- (一)、實驗儀器：多功能微量盤連續波長偵測儀、振盪器、微量離心管、微量分注器、96孔盤、酸鹼度測定器、針筒過濾器、針筒。

				
96孔盤	酸鹼度測定器	微量離心管	試管振盪器	乾浴機

				
多功能微量盤 連續波長偵測儀	針筒	針筒過濾器	微量分注器	加熱板

表(一) 實驗儀器

(二)、藥品

藥品名稱	廠牌/純度	CAS no.
Iron(II) chloride tetrahydrate ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	Alfa Aesar / 98%	13478-10-9
Iron(III) chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	Sigma / 98%	10025-77-1
Copper(II) chloride (CuCl_2)	Alfa / 98%	7447-39-4
Copper(I) chloride (CuCl)	Alfa / 97%	7758-89-6
Mercury(II) chloride (HgCl_2)	ACROS / 99.5%	7487-94-7
Strontium chloride (SrCl_2)	Panreac / 98%	10025-70-4
Barium chloride (BaCl_2)	Sigma / 99%	10326-27-9
Potassium chloride (KCl)	SHOWA / 99%	7447-40-7
Cobalt(II) nitrate hexahydrate ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	J.T.Baker / 98%	10026-22-9
Lead Nitrate ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$)	Alfa Aesar / 99%	10099-74-8
Nickel(II) nitrate hexahydrate ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	SHOWA / 99%	13478-00-7
Silver nitrate (AgNO_3)	鹿印-特級試藥 / 99.5%	7761-88-8
Sodium tetrachloroaurate(III) dihydrate ($\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Sigma-Aldrich / 99%	13874-02-7
Calcium chloride dihydrate ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Sigma-Aldrich / 99%	10035-04-8
Manganese(II) sulfate monohydrate ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	Sigma-Aldrich / 99%	7785-87-7
Zinc chloride (ZnCl_2)	CHONEYE / 98%	7646-85-7
Cadmium chloride (CdCl_2)	Sigma-Aldrich / 99%	10108-64-2
Aluminum perchlorate nonahydrate ($\text{Al}(\text{ClO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	Sigma-Aldrich / 98%	81029-06-3
Magnesium chloride hexahydrate ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	Sigma-Aldrich / 98%	7791-18-6
Sodium dihydrogen phosphate ($\text{H}_2\text{NaO}_4\text{P}$)	Sigma-Aldrich / 99%	7558-80-7
Sodium Phosphate, dibasic, anhydrous ($\text{HNa}_2\text{O}_4\text{P}$)	J.T.Baker / 99%	7558-79-4
Trisodium phosphate (Na_3PO_4)	Sigma-Aldrich / 96%	7601-54-9
Tannic acid ($\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$)	Alfa / 95%	1401-55-4

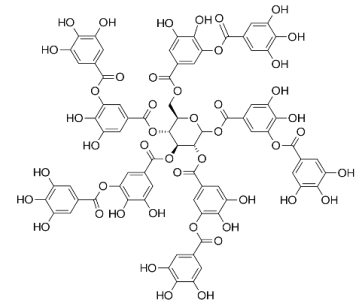
表(二) 實驗藥品相關資訊

肆、研究過程或方法

一、研究原理

(一)、單寧酸

多酚類物質，呈弱酸性，化學式常表示為 $C_{76}H_{52}O_{46}$ ，分子量為1701.2 g/mol，結構如圖(一)。pKa \approx 10，與其酚羟基有關，單寧酸水溶液會與特定金屬離子產生反應。許多食品中，如柿子、咖啡、茶葉等都有單寧酸的存在。



圖(一) 單寧酸結構圖

(二)、亞鐵離子

鐵常見氧化態為二價和三價鐵離子，而二價鐵在pH 7.6 ~ 9.6 間會開始生成 $Fe(OH)_2$ 並沉澱。在環保署水質監測資訊網中，鐵離子的監測標準值超過1.5 mg/L為水質污染，而農業灌溉用水則不得超過5 mg/L。亞鐵對呼吸道、眼睛和黏膜有刺激性，人體如果誤服過量，可能造成便血、肺及肝受損、休克、昏迷等。

(三)、銀離子

銀在生活中有各式用途，於醫學方面常作為消毒劑和殺菌劑，有時在保健食品中也可以看到銀的蹤跡，皮膚接觸銀可能產生過敏反應，如起疹子、腫脹及發炎等情形，而服用過量的銀會造成銀質沉澱症，皮膚呈藍灰色。在環保署水質監測資訊網中指出，飲用水中銀離子的監測標準不可超過0.05 mg/L。

(四)、金離子

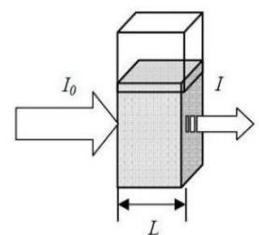
金中毒主要是因含金的藥物引起，如治療風濕性關節炎的金諾芬，而電鍍工人常使用的氰化鉀金也有可能引起慢性中毒，主要症狀有腹瀉、嘔吐、肝臟損害、厭食、呼吸困難、腎臟損害等。

(五)、比爾定律

檢測金屬離子濃度原理是搭配比爾定律的定義進行檢測。比爾定律的概念為當一束單色光穿過一均勻非散射的溶液，通過一定長度的待測液後，因溶液吸收了部分的色光，導致透射光強度減低。吸光度與濃度的關係式如下：

$$A = -\log \frac{I_t}{I_0} = \log \frac{1}{T} = K \times l \times c$$

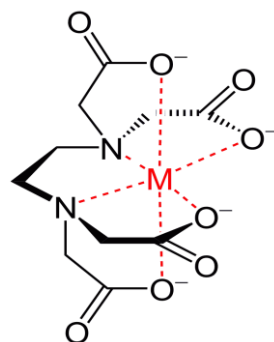
各符號代表意義分別為A：吸光度； I_t ：透射光強度； I_0 ：入射光強度；T：透射比；K：吸收係數或莫耳吸收係數； l ：溶液厚度； c ：溶液濃度



圖(二) 比爾定律示意圖

(六)、錯離子化合物

錯離子化合物主要是由中心金屬離子與幾個配位基分子或離子，以配位鍵相結合而形成的複雜分子或離子，又稱為配位化合物。錯離子化合物是化合物中較大的一個子類別，廣泛應用於日常生活、工業生產及生命科學中。它不僅與無機化合物、有機金屬化合物相關聯，並且與現今化學前沿的原子簇化學、配位催化及分子生物學都有很大的重疊。



圖(三) 螯合物示意圖

(七)、標準添加法

標準添加法為檢驗準確度的測試方式，為確認樣品中有無基質干擾或所用的檢測方法是否適當。檢驗時將樣品分為兩部分處理，其一採原流程，另一則添加適當的待測物標準品，再依循原流程步驟檢測，稱添加樣品。而適用檢測方法之添加回收率應介於80%~120%。

$$\text{添加回收率 } P\% = \frac{(M - B)}{T} \times 100\%$$

符號意義：M 為添加後測定濃度；B 為空白樣品濃度；T 為添加標準液濃度

(八)、偵測極限(detection of limit, LOD)

偵測極限分為儀器偵測極限及方法偵測極限，為空白樣品和分析物之間有顯著差異的最小值，是已知可信度之下，可測得分析物的最小濃度。通常定量極限的數值為偵測極限的3~5倍，從定量極限推導偵測極限的方式如下：

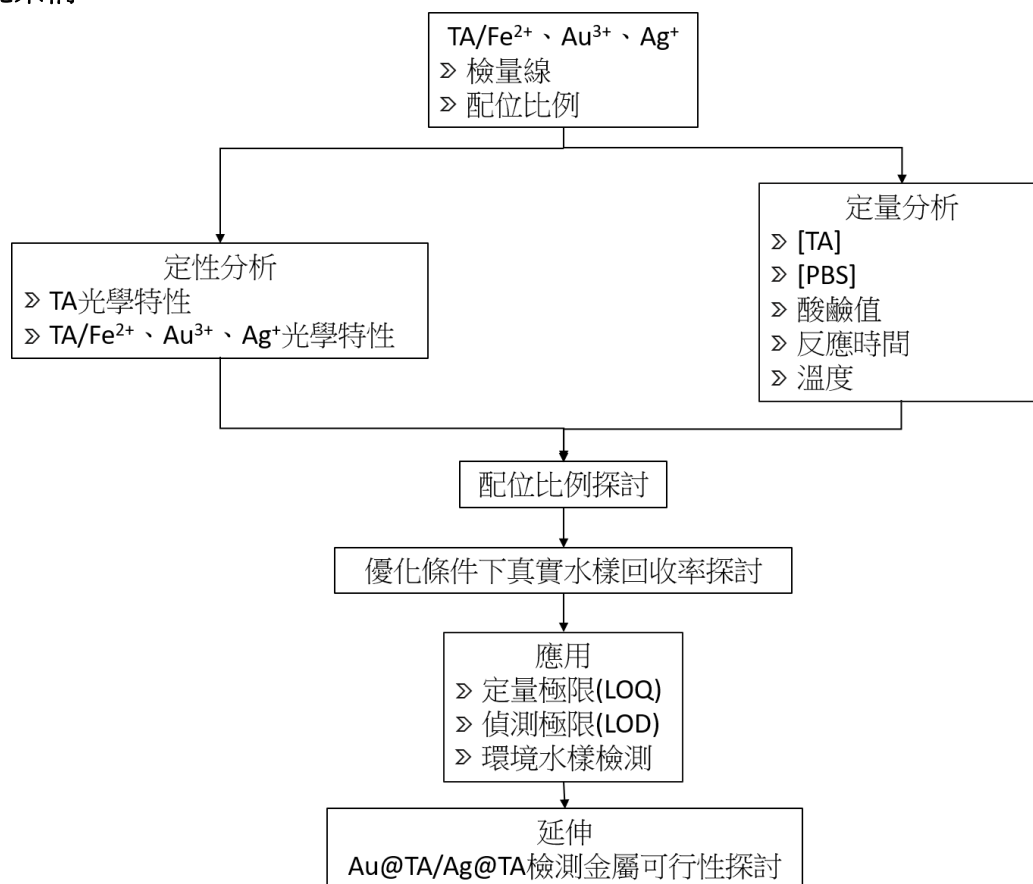
$$LOD = \frac{3 \times s}{m}$$

符號意義：s 為定量極限的標準偏差；m 為定量極限的斜率

(九)、金奈米粒子

奈米金因其微小尺寸使其表面產生表面電漿共振效應，其特殊的光學性質、生物相容性等現象，常應用於許多方面，如生物醫學、藥物檢測、生物體標定、重金屬檢測等。合成金奈米的方法包含：化學還原法、金屬氣相合成法、雷射消融法等。本實驗利用單寧酸合成金奈米，探討以Au@TA檢測金屬離子可行性。

二、研究架構



圖(四) 架構圖

三、實驗步驟

(一)、探討不同濃度單寧酸在不同 pH 值環境中的變化及特性

- 1、配置 100 mM、10 mM、1 mM、100 μ M 單寧酸、pH = 4.0~11.0 的 50 mM PB buffer
- 2、以單寧酸 : PB buffer : 水 = 1 : 5 : 4 的比例混合至 1 mL，放 20 分鐘測吸收度
- 3、探討同濃度單寧酸在 pH = 4.0~11.0 環境中的變化
- 4、探討 10 mM、1 mM、100 μ M、10 μ M 單寧酸在同 pH 值環境中的變化

(二)、探討單寧酸對不同金屬離子之反應情況及其吸收光譜圖

- 1、配製 1 mM 的單寧酸、pH 7.0 的 50 mM PB buffer、1 mM 的不同金屬離子
- 2、單寧酸:PB buffer:水:金屬離子以 1:5:3:1 混合至 1 mL，放 20 分鐘測其吸收度

(三)、探討不同 pH 值環境對單寧酸與 Fe²⁺、Au³⁺反應情形之影響

- 1、配製 1 mM 的單寧酸、FeCl₂、NaHAuCl₄、pH = 4.0~11.0 的 50 mM 的 PB buffer
- 3、單寧酸:PB buffer:水:金屬離子以 1:5:3:1 混合至 1 mL，放 10 分鐘測其吸收度

(四)、探討不同濃度單寧酸對其與 Fe²⁺、Au³⁺反應情形之影響

- 1、配 10 mM、5 mM、2 mM、1 mM、750 μ M、500 μ M、250 μ M、100 μ M 單寧酸
- 2、配置 pH = 9.0 的 50 mM PB buffer、1 mM 的 FeCl₂、NaHAuCl₄

- 3、單寧酸:PB buffer:水:金屬離子以 1:5:3:1 混合至 1 mL，放 10 分鐘測其吸收度
- (五)、探討不同濃度 PB buffer 對單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應情形之影響
- 1、配置 1 mM 單寧酸、 FeCl_2 、 NaHAuCl_4
 - 2、配置 pH = 9.0 的 200 mM、150 mM、100 mM、50 mM、20 mM PB buffer
 - 3、單寧酸:PB buffer:水:金屬離子以 1:5:3:1 混合至 1 mL，放 10 分鐘測其吸收度
- (六)、探討反應時間對單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應情形之影響
- 1、配置 1 mM 單寧酸、 FeCl_2 、 NaHAuCl_4 、pH = 9.0 的 100 mM PB buffer
 - 2、將單寧酸:PB buffer:水:金屬離子以 1:5:3:1 的比例混合至 1 mL
 - 3、分別放置 10、20、30、40、50、60 分鐘測其吸收度
- (七)、探討反應溫度對單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應情形之影響
- 1、配置 1 mM 單寧酸、 FeCl_2 、 NaHAuCl_4 、pH = 9.0 的 100 mM PB buffer
 - 2、依上述比例混合至 1 mL，分別以常溫及放入乾浴機加熱 60 度後進行反應，10 分鐘後測其吸收光譜
- (八)、探討以最佳化條件進行單寧酸與不同金屬離子之反應情形
- 1、配置 1 mM 單寧酸、pH = 9.0 的 100 mM PB buffer、1 mM 的不同金屬離子
 - 2、單寧酸:PB buffer:水:金屬離子以 1:5:3:1 混合至 1 mL，放 10 分鐘測其吸收度
- (九)、建立檢量線並得出偵測極限及定量極限
- 1、配置 1 mM 單寧酸、pH = 9.0 的 100 mM PB buffer
 - 2、配置 1 mM ~ 0.1 μM 的 FeCl_2 、 NaHAuCl_4 、 AgNO_3
 - 3、單寧酸:PB buffer:水:金屬離子以 1:5:3:1 混合至 1 mL，放 10 分鐘測其吸收度
 - 4、分別取波長 498 nm (Fe^{2+})、534 nm (Au^{3+})、416 nm (Ag^+) 的吸收值做檢量線
 - 5、計算其偵測極限及定量極限
- (十)、利用 Job' s Plot 探討單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 的配位情形
- 1、配置不同濃度的單寧酸、 FeCl_2 、 NaHAuCl_4 、 AgNO_3 、pH = 9.0 的 100 mM PB buffer
 - 2、固定單寧酸和金屬離子混和溶液後總莫耳數為 100 μM ，將單寧酸: PB buffer: 水 : 金屬離子以 1 : 5 : 3 : 1 的比例混合至 1 mL (單寧酸和金屬離子任一濃度為 1 mM 時，另一個以水補上 100 μL)，放置 10 分鐘後測其吸收光譜
 - 3、分別取波長 498 nm (Fe^{2+})、534 nm (Au^{3+})、416 nm (Ag^+) 的光譜吸收值做 Job' s Plot
 - 4、探討單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 的配位
- (十一)、探討本研究開發之探針檢測水樣情形及添加回收率靈敏度

- 1、配置 1 mM 單寧酸、pH = 9.0 的 100 mM PB buffer
- 2、配置 10 mM、5 mM 的 FeCl_2 、 NaHAuCl_4 、 AgNO_3
- 3、水樣過濾後稀釋 200 到 1000 倍，以 9:1 比例混和水樣與金屬離子
- 4、將單寧酸: PB buffer : 水 : 水樣(已添加金屬) 以 1 : 4 : 3 : 1 的比例混合至 1 mL
- 5、放置 10 分鐘後測其吸收光譜
- 6、計算 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 在三種不同環境水樣中 100 μM 、50 μM 的添加回收率

(十二)、探討 Au@TA 與不同金屬離子反應情形及吸收光譜

- 1、配置 1 mM 單寧酸、40 mM NaHAuCl_4
- 2、加熱並攪拌 10 mL 單寧酸至沸騰，加入 100 μL NaHAuCl_4 ，持續加熱攪拌 8 分鐘
- 3、靜置冷卻後各分裝 1mL 至 7 管後離心，每管去除 900 μL 上清液並加入 900 μL 水
- 4、配置 pH = 9.0 的 100 mM PB buffer、1 mM 不同金屬離子
- 5、Au@TA:PB buffer:水:金屬離子以 3:4:1:1 混合至 1 mL，放 10、20 分鐘測吸收度

(十三)、探討 Ag@TA 與不同金屬離子反應情形及吸收光譜

- 1、配置 5 mM 單寧酸、120 mM AgNO_3
- 2、加熱並攪拌 10 mL 單寧酸至沸騰，加入 100 μL AgNO_3 ，持續加熱攪拌 8 分鐘
- 3、靜置冷卻後各分裝 1mL 至 7 管後離心，每管除去 900 μL 上清液並加入 900 μL 水
- 4、配置 pH = 9.0 的 100 mM PB buffer、1 mM 不同金屬離子
- 5、Ag@TA: PB buffer:水:金屬離子以 3:4:1:1 混合至 1 mL，放 10 分鐘後測其吸收度

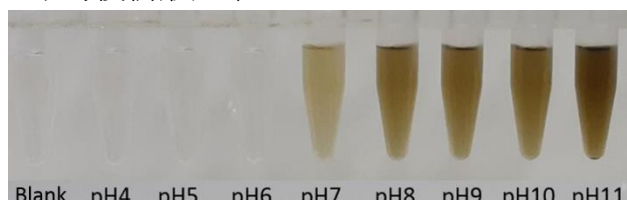
伍、研究結果

一、探討不同濃度單寧酸在不同pH值環境中的變化及特性

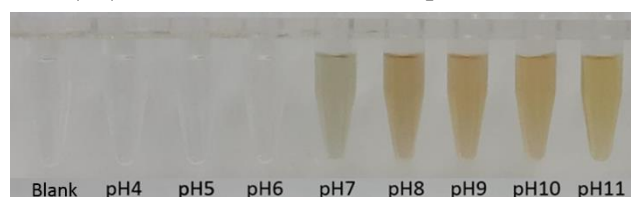
將不同pH值條件、不同濃度的單寧酸放置超過8小時後情形如下:



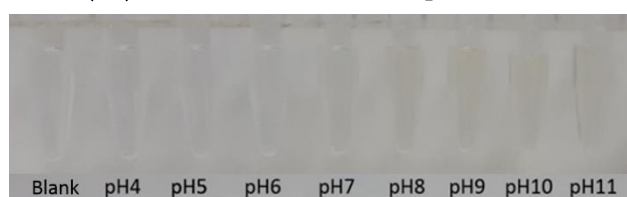
圖(五) 10 mM 單寧酸於不同 pH 值下情形



圖(六) 1 mM 單寧酸於不同 pH 值下情形



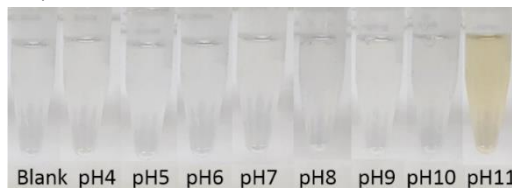
圖(七) 100 μM 單寧酸於不同 pH 值下情形



圖(八) 10 μM 單寧酸於不同 pH 值下情形

從上圖可發現pH值越大，單寧酸的顏色越深。單寧酸濃度越高，變色情形也較明顯。但圖(五)中10 mM的單寧酸在不同pH值中顏色變化不大，將其離心後發現在條件pH = 6.0 以下時有沉澱物，推測單寧酸於酸性下溶解度下降。而從上圖中也可發現單寧酸在相同pH條件下，其顏色變化並非隨濃度的增加而顏色加深，推測是與單寧酸間的共軛雙鍵或苯環 π - π 作用力有關，造成單寧酸分子間在溶液中呈層狀堆疊，其濃度高低導致共軛雙鍵間的距離差異而有不同的顏色變化。此推測未來將尋求理論計算專家，進行模擬驗證。

將不同pH值條件、100 μ M的單寧酸放置20分鐘後情形如下：

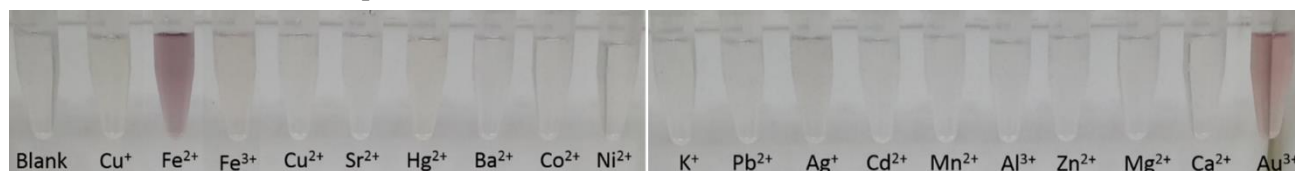


圖(九) 100 μ M單寧酸於不同pH值下放置20分鐘後情形

考量到後續關於金屬離子的探討，在之後的單寧酸對不同金屬離子的反應情形探討，本組選用調整酸鹼值後20分鐘的100 μ M的單寧酸進行實驗(圖九，此為後續實驗對照組)。

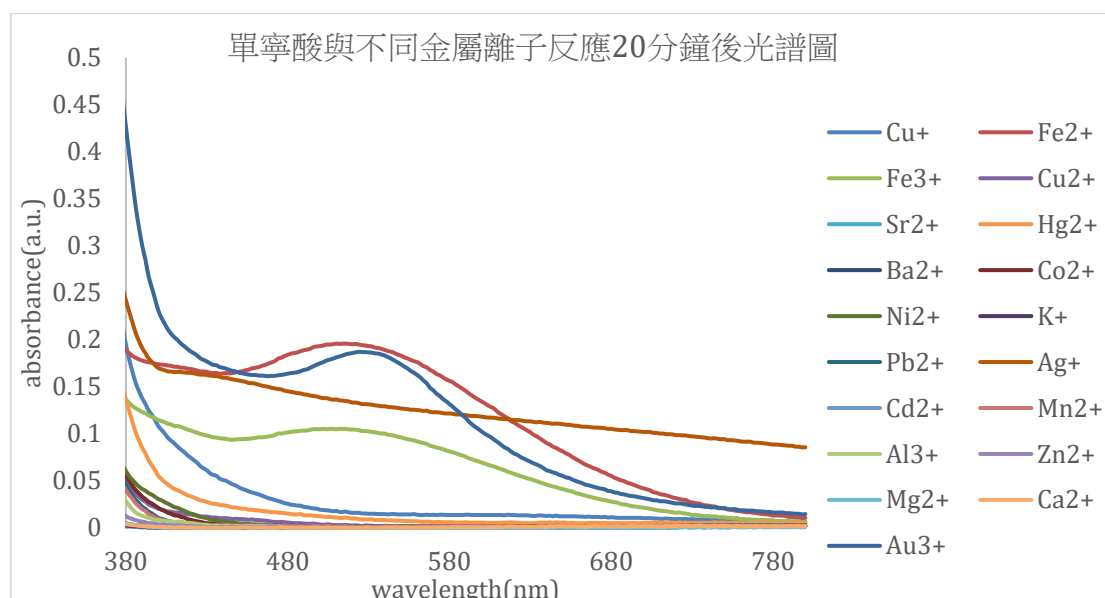
二、探討單寧酸對不同金屬離子之反應情況及其吸收光譜圖

單寧酸與不同金屬離子在pH 7.0 條件下於20分鐘的反應情形如下圖：



圖(十) 單寧酸與不同金屬離子於pH 7.0 的條件下反應20分鐘的情形

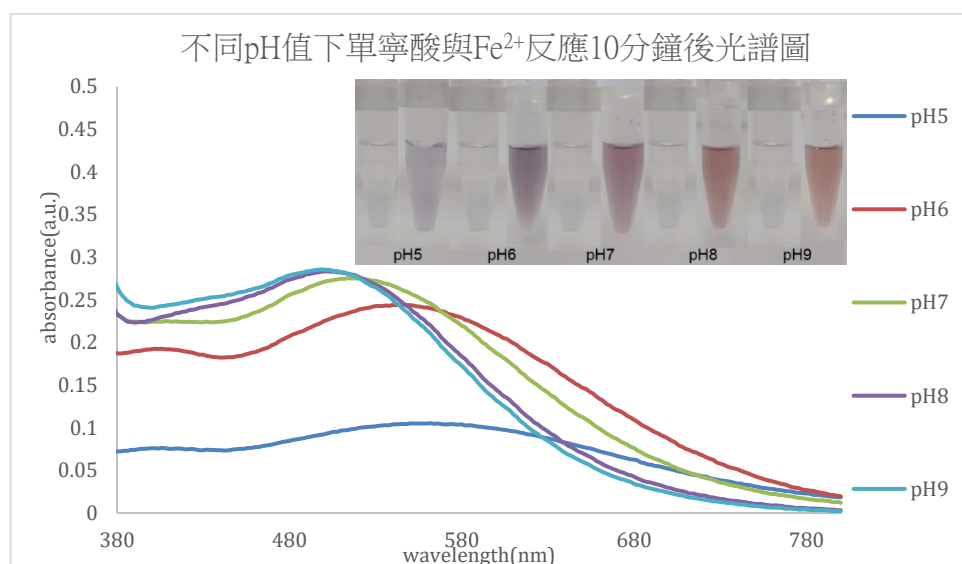
從圖(十)中發現 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^{+} 與單寧酸的反應情形較其他金屬明顯。其中 Fe^{3+} 和 Hg^{2+} 及 Ag^{+} 反應後顏色呈淡黃色，而 Fe^{2+} 與單寧酸反應後呈淡紫色， Au^{3+} 則呈淡粉色。接下來探討不同金屬離子與單寧酸反應的吸收光譜圖，如圖(十一)。



圖(十一) 單寧酸與不同金屬離子於pH 7.0 條件下反應20分鐘的光譜圖

從圖(十一)可發現，在可見光波段內， Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 和 Fe^{3+} 與單寧酸的反應情形在pH 7.0 的條件中變化效果較顯著，其他金屬離子變化幅度相較於前述金屬離子則較不顯著。 Fe^{2+} 與單寧酸反應後吸收峰落在498 nm， Au^{3+} 與單寧酸反應後吸收峰落在534 nm。因 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 在圖(十)顏色變化明顯，將以 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 作為後續開發單寧酸化學探針之目標物離子。

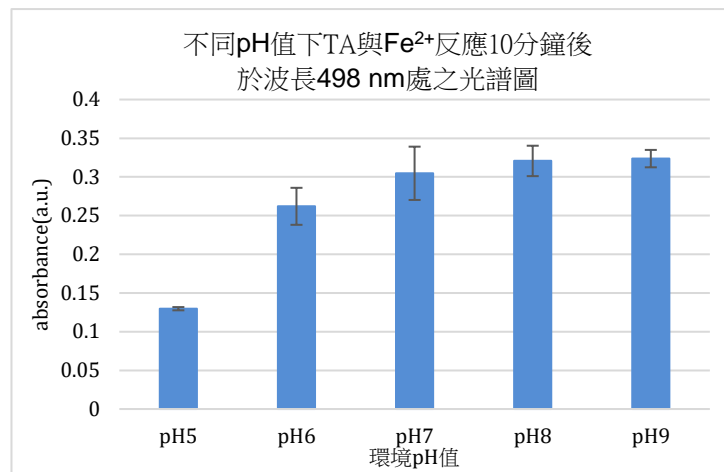
三、探討不同pH值環境對單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應十分鐘情形之影響



圖(十二) 不同pH值下單寧酸與 Fe^{2+} 反應10分鐘的情形與光譜圖

從圖(十二)可發現單寧酸與 Fe^{2+} 的反應情形隨pH值增高，溶液顏色越偏紅色，表示環境的pH值對單寧酸與 Fe^{2+} 的反應情形有一定程度的影響，推測與單寧酸在不同酸鹼值下的解離程度導致的配位情形有關，或是與亞鐵離子在pH 7.6 ~ 9.6 會有 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 的出現導致。

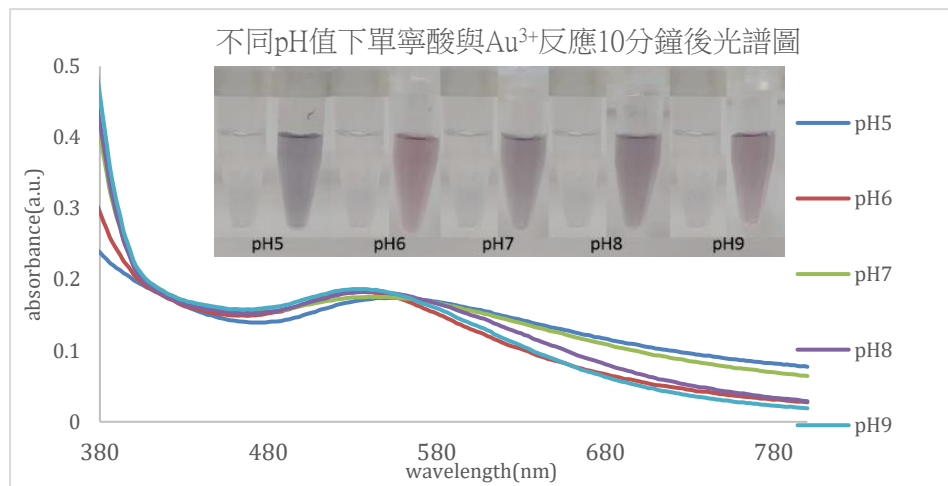
Fe^{2+} 與單寧酸反應20分鐘後，其在波段498 nm處的吸收光譜反應情形作圖如下：



圖(十三) 不同pH值下單寧酸與Fe²⁺反應10分鐘後於波長498 nm處之光譜圖

上圖可知單寧酸與Fe²⁺在pH 9.0條件下反應較佳，後續實驗以pH 9.0的PB buffer進行。

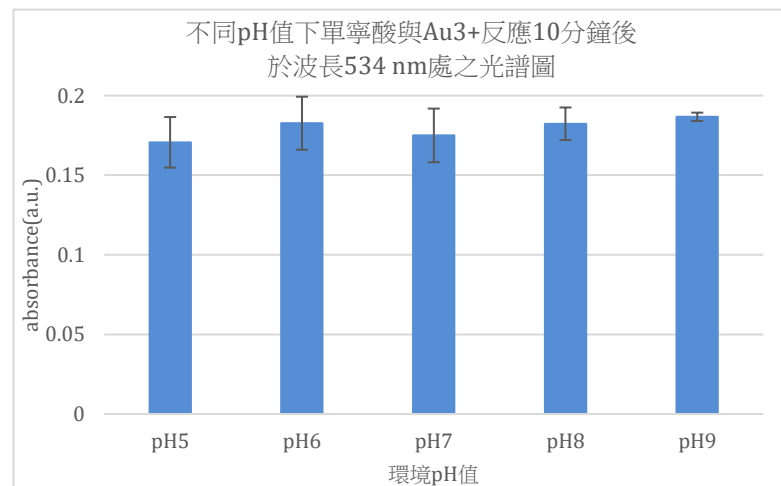
不同pH值下單寧酸與Au³⁺反應10分鐘的情形如下：



圖(十四) 不同pH值下單寧酸與Au³⁺反應10分鐘的情形與光譜圖

上圖可看出單寧酸與Au³⁺在不同pH值的條件下，反應情形相差不大，顏色呈淡紫色。

接下來以波長534 nm處，作單寧酸與Au³⁺的吸收度與pH值關係圖，如圖：

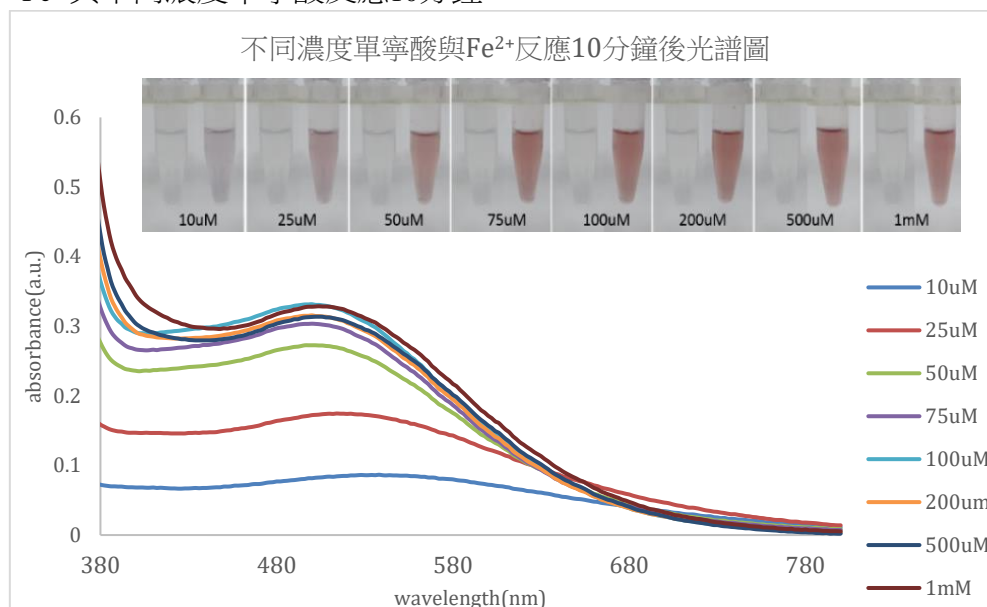


圖(十五) 不同pH值下單寧酸與Au³⁺反應10分鐘後於波長534 nm處之光譜圖

從圖(十五)中可看出單寧酸與 Au^{3+} 在pH 9.0 的條件下的反應情形較佳，且數據較穩定，後續有關 Au^{3+} 的最佳化探討時便以pH 9.0 的PB buffer進行。

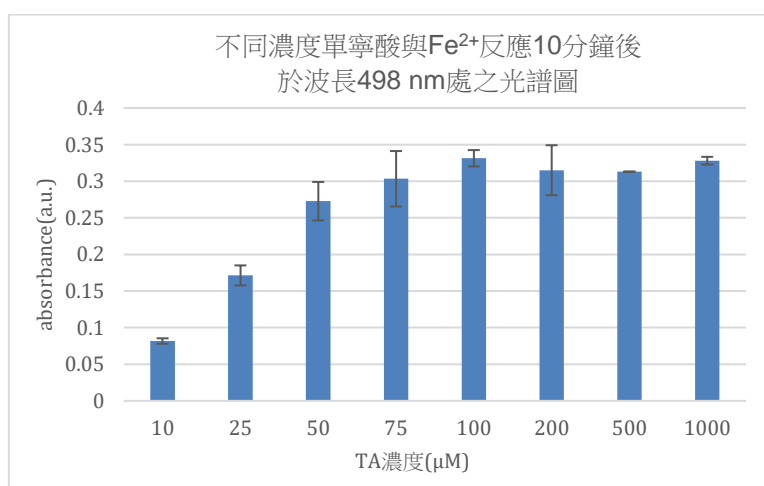
四、探討不同濃度單寧酸對其與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應情形之影響

(一)、 Fe^{2+} 與不同濃度單寧酸反應10分鐘



圖(十六) 不同濃度單寧酸與 Fe^{2+} 之反應10分鐘後光譜圖

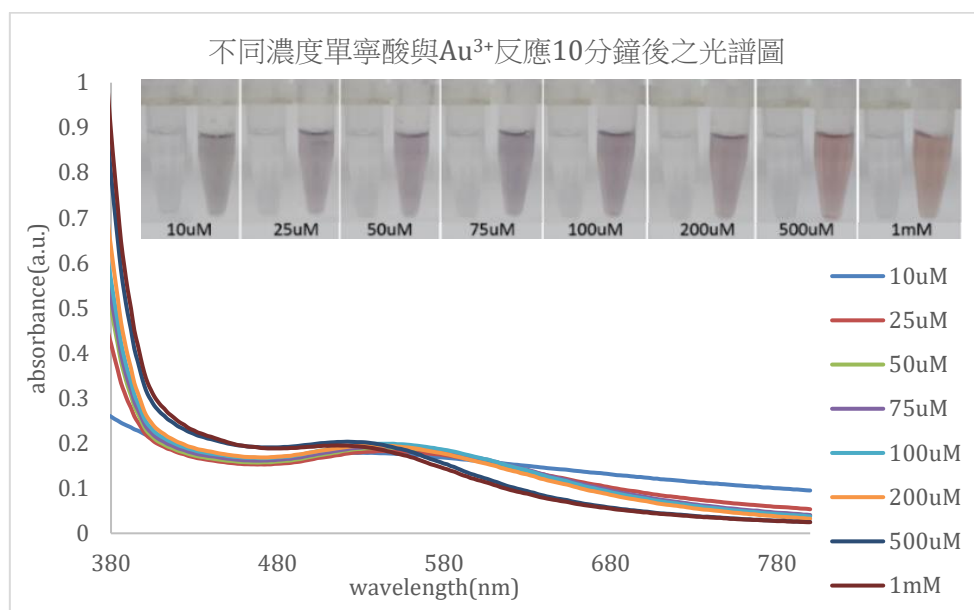
從圖(十六)中，可得知單寧酸濃度越高，其反應後溶液顏色愈深，而在達到一定濃度的單寧酸後，其與 Fe^{2+} 的反應顏色幾乎區於一致。



圖(十七) 不同濃度單寧酸與 Fe^{2+} 反應10分鐘後於波長498 nm處之光譜圖

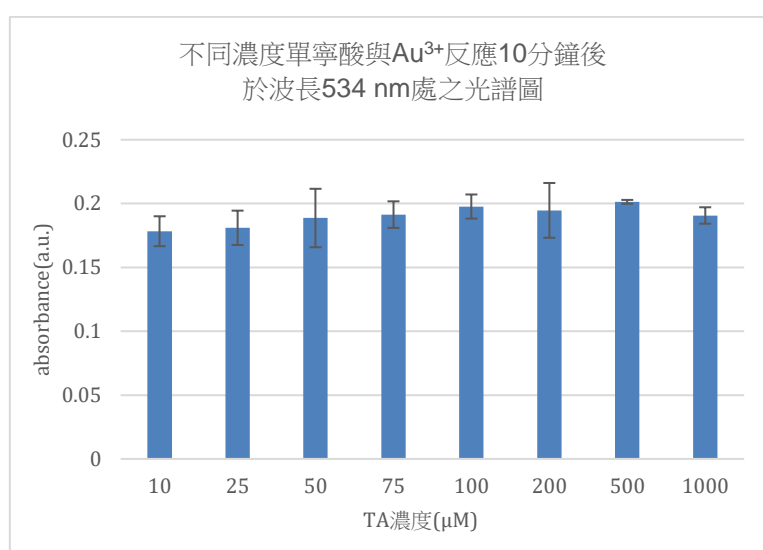
由圖(十七)可發現單寧酸濃度低於100 μM 時，與 Fe^{2+} 反應的吸收值隨單寧酸濃度逐漸上升，可見單寧酸在一定的濃度範圍內，對 Fe^{2+} 的反應情形有正向效果，因100 μM 單寧酸與 Fe^{2+} 在10分鐘內效果最好，故後續實驗皆以100 μM 單寧酸進行實驗。

(二)、 Au^{3+} 與不同濃度單寧酸反應10分鐘



圖(十八) 不同濃度單寧酸與 Au^{3+} 反應10分鐘後之光譜圖與情形

上圖可發現隨單寧酸濃度提升，溶液從淡紫色轉淡粉色，光譜圖無太大區別。



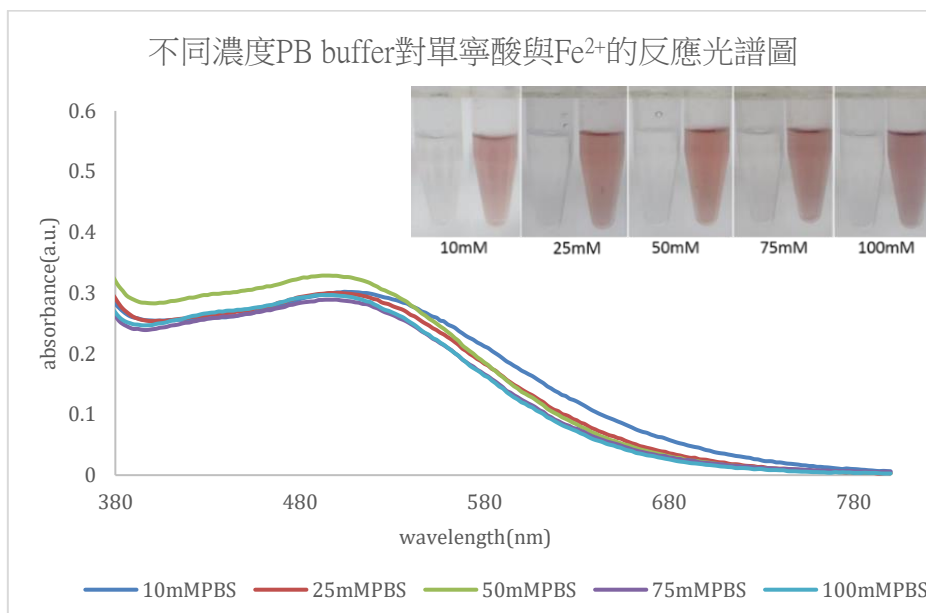
圖(十九) 不同濃度單寧酸與 Au^{3+} 反應10分鐘後之光譜圖

在圖(十九)中可以發現當單寧酸濃度在低於100 μM 時，其與 Au^{3+} 反應的光譜吸收值隨單寧酸濃度增高而略微上升，可見單寧酸濃度對其反應影響較小，其中分別以500 μM 單寧酸及100 μM 單寧酸與 Au^{3+} 的光譜吸收值較佳，因單寧酸作為化學探針有濃度合適範圍，且 Fe^{2+} 以100 μM 單寧酸進行後續實驗，故後續檢測 Au^{3+} 之實驗皆以100 μM 單寧酸進行。

五、探討不同濃度PB buffer對單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應情形之影響

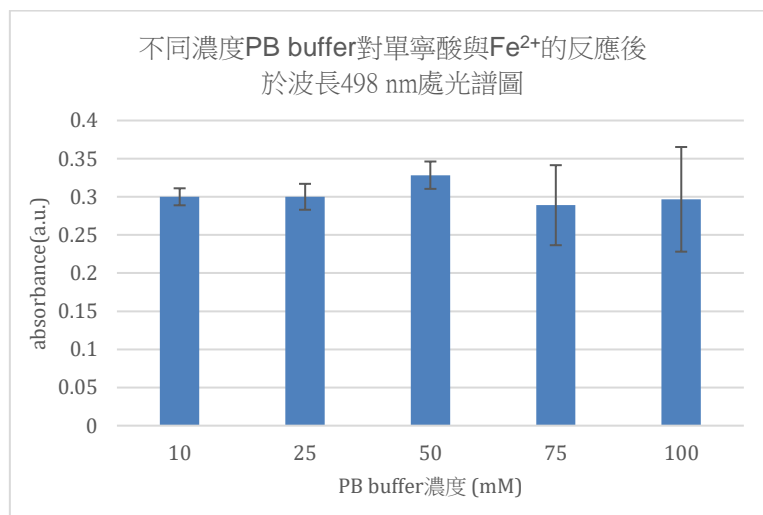
(一)、不同濃度PB buffer對單寧酸與 Fe^{2+} 的影響

將不同濃度的PB buffer與單寧酸和 Fe^{2+} 反應10分鐘後情形與光譜圖，如圖：



圖(二十) 不同濃度PB buffer的單寧酸與 Fe^{2+} 之反應10分鐘後情形與光譜圖

從圖(二十)中可看出單寧酸與 Fe^{2+} 在不同濃度PB buffer的條件下，反應情形相差不大，顏色皆呈紅色。而光譜圖中可以看出50 mM PB buffer在波長380 nm到530 nm處有較佳的光譜吸收值。

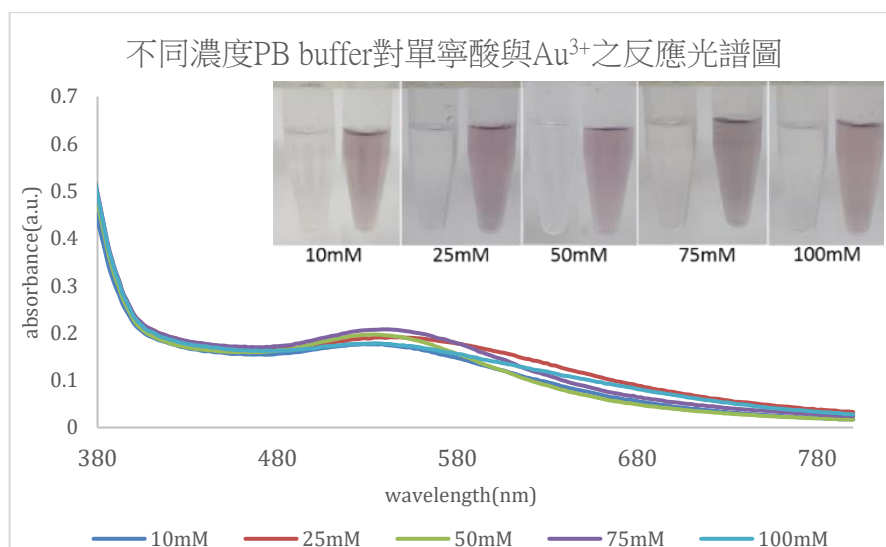


圖(二十一) 不同濃度的PB buffer與單寧酸及 Fe^{2+} 反應後於波長498 nm處光譜圖

由圖(二十一)中可以發現PB buffer濃度在50 mM時，其與 Fe^{2+} 反應有較佳的光譜吸收值，故後續關於 Fe^{2+} 的實驗皆以50 mM PB buffer進行實驗。

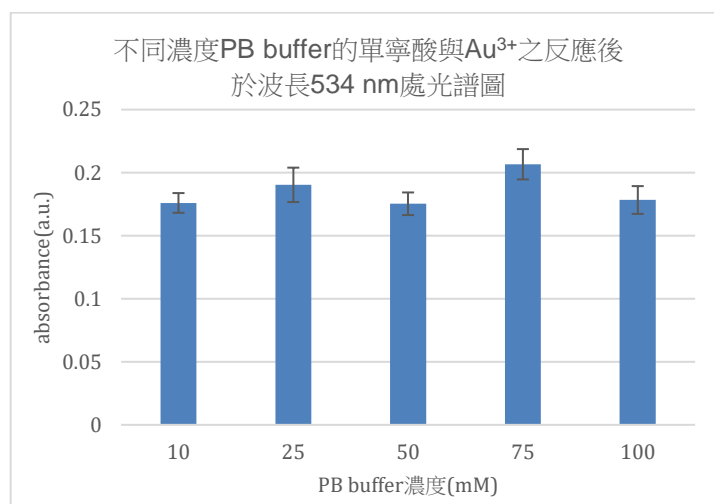
(二)、不同濃度PB buffer對單寧酸與Au³⁺的影響

不同濃度的PB buffer與單寧酸和Au³⁺反應10分鐘後情形與光譜圖,如圖:



圖(二十二) 不同濃度PB buffer的單寧酸與Au³⁺之反應10分鐘後情形與光譜圖

從圖(二十二)中可看出單寧酸與Au³⁺在不同濃度PB buffer的條件下，反應情形相差不大，顏色皆呈淺紫色。



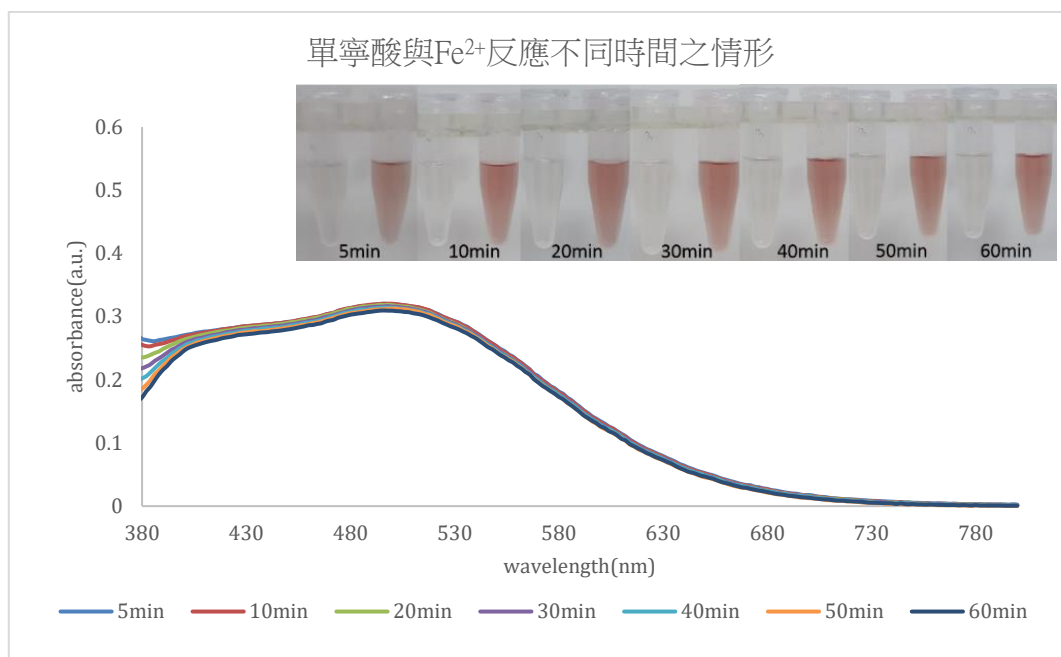
圖(二十三) 不同濃度的PB buffer與單寧酸及Au³⁺反應後於波長534 nm處光譜圖

在圖(二十三)中可以發現當PB buffer濃度在低於75 mM時，其與Au³⁺反應的光譜吸收值隨PB buffer濃度增高僅有稍微上升，可見PB buffer濃度對其反應影響並不大。在數據中以75 mM PB buffer及50 mM PB buffer與Au³⁺反應的光譜吸收值較佳，而50 mM PB buffer的數據較為穩定，且Fe²⁺以50 mM PB buffer進行後續實驗，故後續檢測Au³⁺之實驗皆以50 mM PB buffer進行。

六、探討反應時間對單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應情形之影響

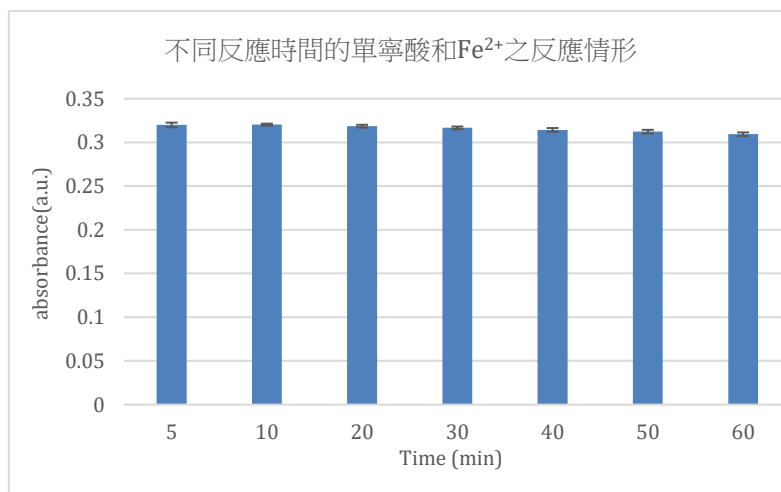
(一)、不同反應時間對單寧酸與 Fe^{2+} 反應影響

單寧酸與 Fe^{2+} 的反應時間不同所造成的影響如下：



圖(二十四) 單寧酸與 Fe^{2+} 反應不同時間之情形與光譜圖

從圖(二十四)中可發現不同反應時間對單寧酸和 Fe^{2+} 的影響不大，可見單寧酸與 Fe^{2+} 的反應能在短時間內達到一定的穩定程度。

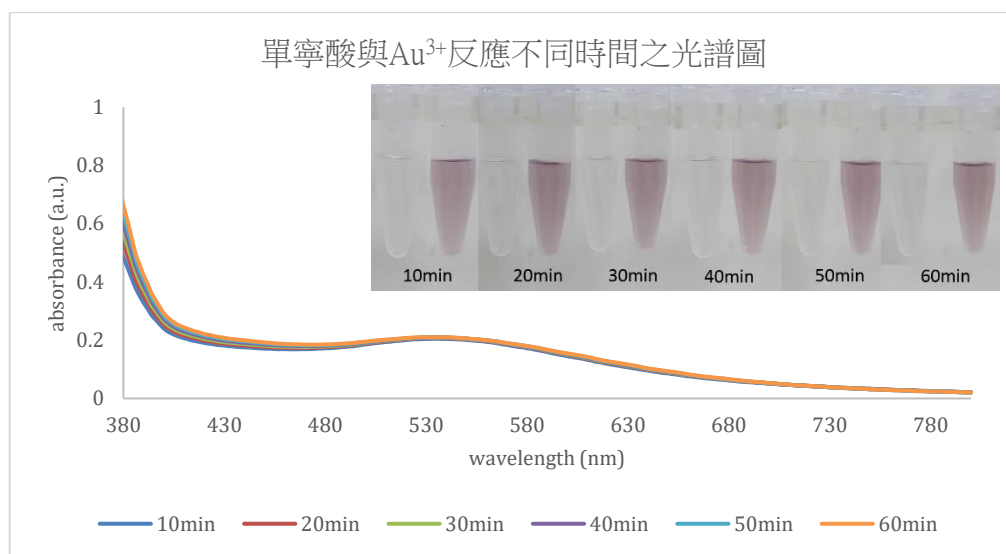


圖(二十五) 單寧酸與 Fe^{2+} 反應不同時間於波長498 nm處之光譜圖

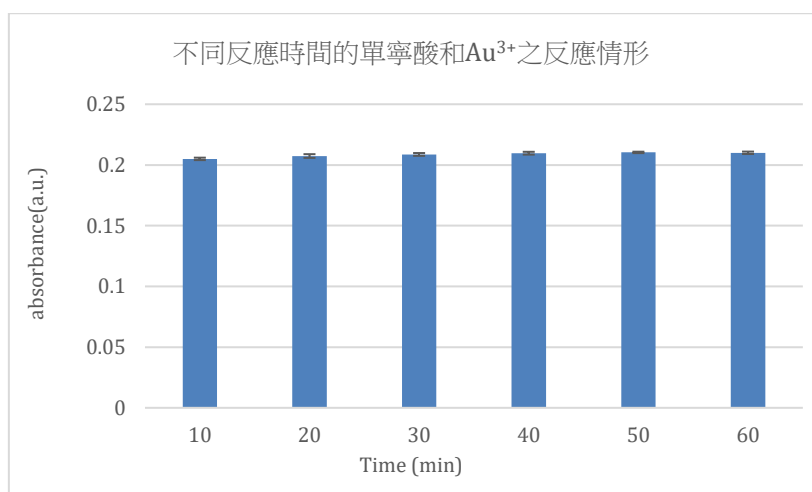
從圖(二十五)中的情形來看，選擇10分鐘的反應時間進行後續實驗，而從圖中也可以發現當反應時間超過10分鐘後，吸收程度略微下降，因其隨反應時間增長顏色會發生變化，溶液會由起初的淡紅色，到放置一天後溶液呈黃色。

(二)、不同反應時間對單寧酸與 Au^{3+} 反應影響

單寧酸與 Au^{3+} 的反應時間不同所造成的影響如下：



圖(二十六) 單寧酸與 Au^{3+} 反應不同時間之情形與光譜圖



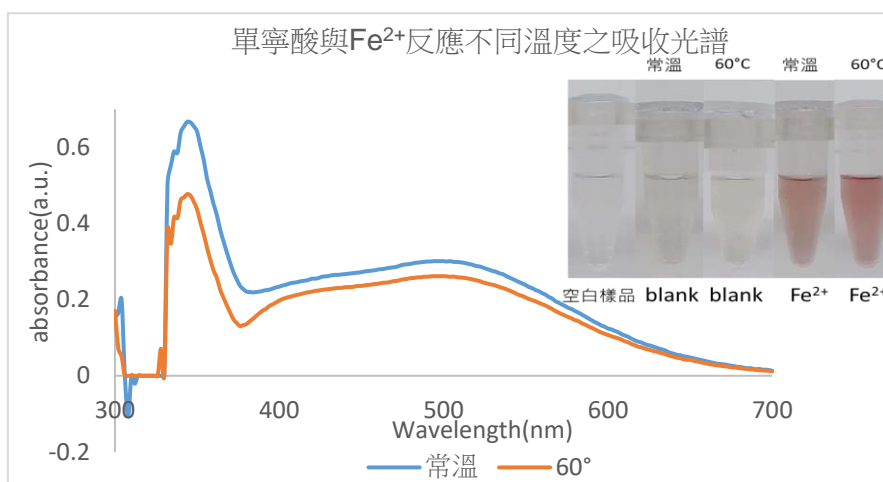
圖(二十七) 單寧酸與 Au^{3+} 反應不同時間於波長534 nm處之光譜圖

由圖(二十六)中可得知反應時間對單寧酸和 Au^{3+} 的反應情形影響不大，而從圖(二十七)也可發現此情形，可見 Au^{3+} 與單寧酸的反應情形亦能在短時間內達到一個穩定值。考慮到本檢測方式應達到快速簡便的檢測能力，且 Au^{3+} 各項數據相差甚少，又 Fe^{2+} 最佳反應時間為10 min，故後續檢測 Au^{3+} 之實驗皆以反應10 min進行。

七、探討反應溫度對單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 反應情形之影響

(一)、不同反應溫度對單寧酸與 Fe^{2+} 反應影響

單寧酸與 Fe^{2+} 反應溫度不同所造成的影響如下：

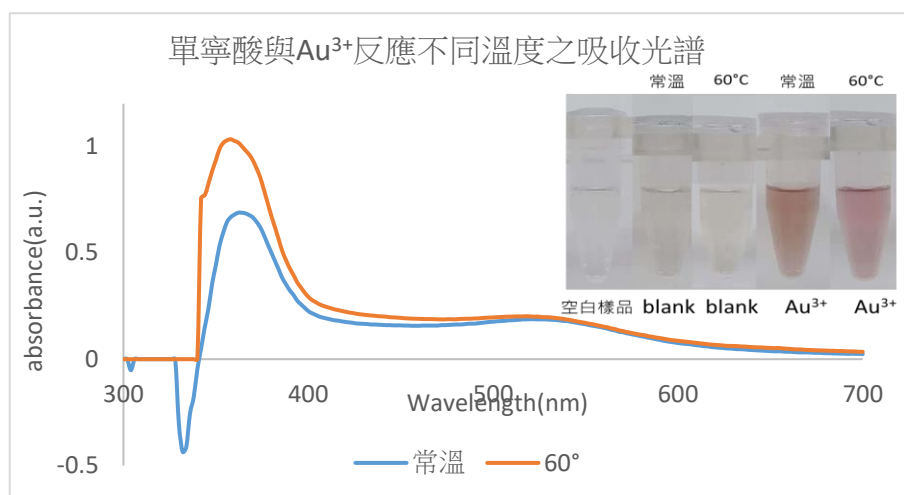


圖(二十八) 單寧酸與 Fe^{2+} 反應不同溫度之情形與光譜圖

由圖(二十八)可見，常溫較加熱 60°C 有較高的吸收光譜值，在 498 nm 處也以常溫反應的吸收光譜值較高。可見單寧酸與 Fe^{2+} 反應在常溫下有較佳的反應效果。

(二)、不同反應溫度對單寧酸與 Au^{3+} 反應影響

單寧酸與 Au^{3+} 反應溫度不同所造成的影響如下：



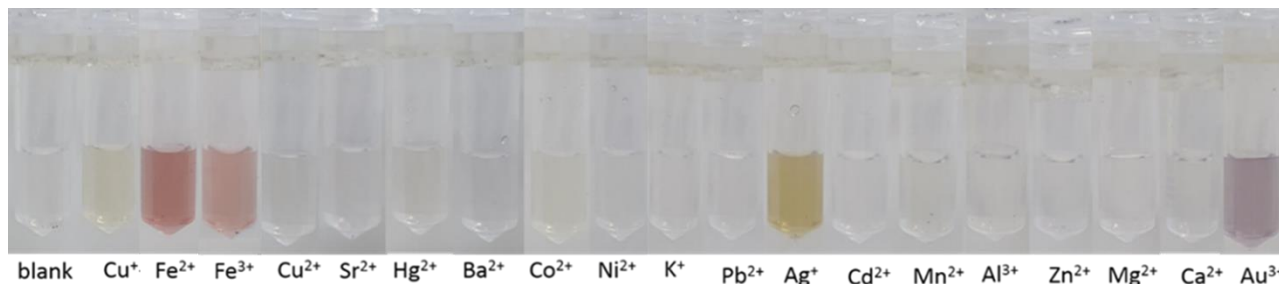
圖(二十九) 單寧酸與 Au^{3+} 反應不同溫度之情形與光譜圖

由圖(二十九)可見，加熱 60°C 的吸收光譜值於 $340\sim 500\text{ nm}$ 有較高的吸收值， $500\sim 700\text{ nm}$ 處加熱 60°C 與常溫反應效果相異不大。

單寧酸與 Fe^{2+} 反應在 498 nm 處以常溫反應效果較佳，與 Au^{3+} 反應在 534 nm 處反應效果則相差不大。可見加熱對此反應無正向效果，推測是因加熱無法增加反應速率，且會影響單寧酸以致其顏色加深，因此後續實驗將以常溫為反應溫度。

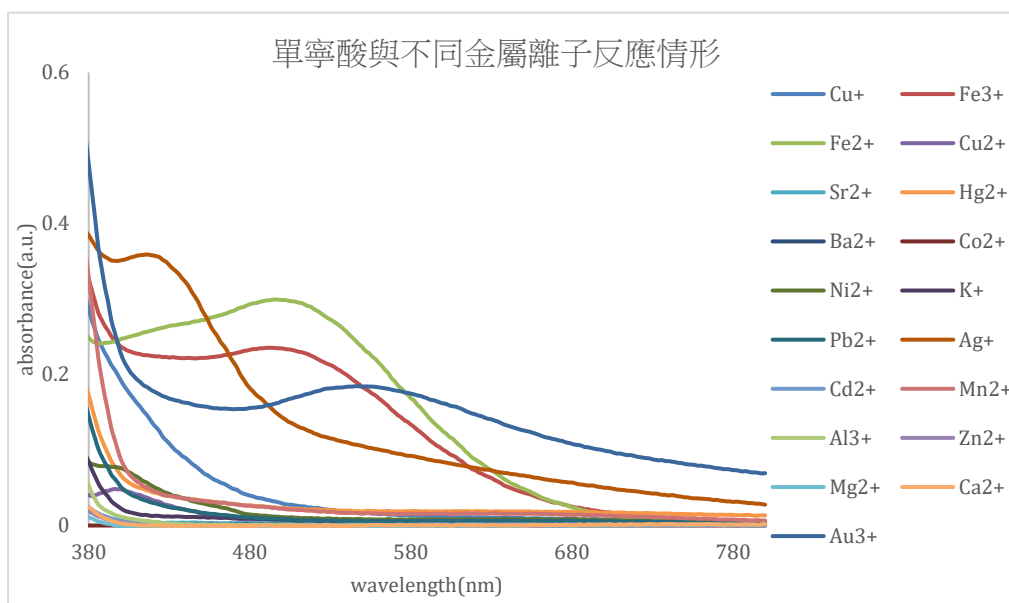
依據最佳化探討結果，以下實驗皆以 $100\text{ }\mu\text{M}$ 單寧酸； 50 mM 、 $\text{pH } 9.0$ PB buffer；常溫下反應時間 10 分鐘作為控制變因。

八、探討以最佳化條件進行單寧酸與不同金屬離子之反應情形



圖(三十) 不同金屬離子與單寧酸的反應情形

從圖(三十)可發現以最佳化條件進行實驗， Cu^+ 、 Fe^{3+} 、 Ag^+ 的顏色變化較最初明顯許多，其他金屬離子的顏色的變化較小，其光譜圖如下：

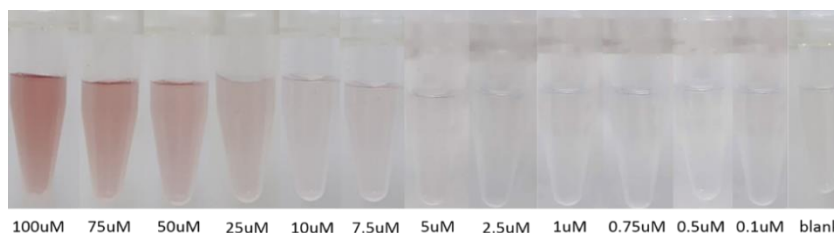


圖(三十一) 單寧酸與不同金屬離子反應之情形與光譜圖

由圖(三十一)可發現，除原先的 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 外， Ag^+ 的吸收值在380 nm到450 nm處高於其他金屬離子，在416 nm處為可見光範圍內吸收峰。 Cu^+ 在光譜圖中雖明顯可見，但其吸收峰相較前三種金屬離子並不特別顯著。因 Ag^+ 與單寧酸的反應在可見光範圍有極佳的光譜吸收值，且肉眼可見 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 的反應顏色差異，因此本組希望能將此方法應用於對 Ag^+ 、 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 的檢測，故後續實驗將探討此方法對此三種金屬的反應情形及檢測效果。

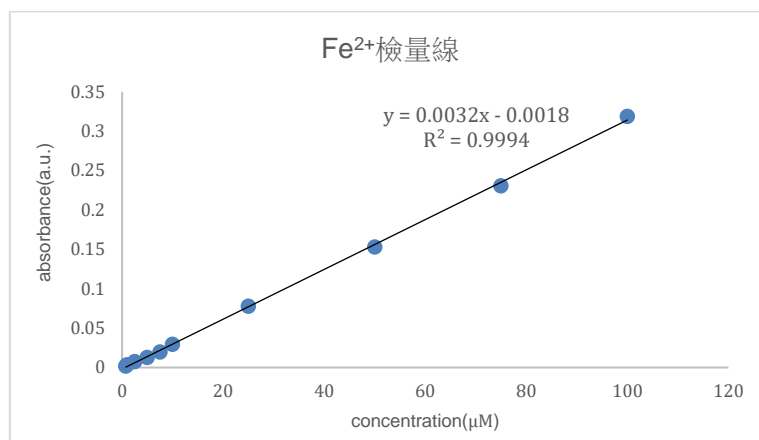
九、建立檢量線並得出偵測極限及定量極限

(一)、不同濃度 Fe^{2+} 與單寧酸的反應情形



圖(三十二) 不同濃度的亞鐵與單寧酸混合情形

從圖中可發現單寧酸與 Fe^{2+} 混合後，從100 μM 至5 μM 都可以從顏色變化得出其濃度差異，可見當水樣中的 Fe^{2+} 與單寧酸混和後濃度在此範圍時，可直接以肉眼辨別該濃度區間。

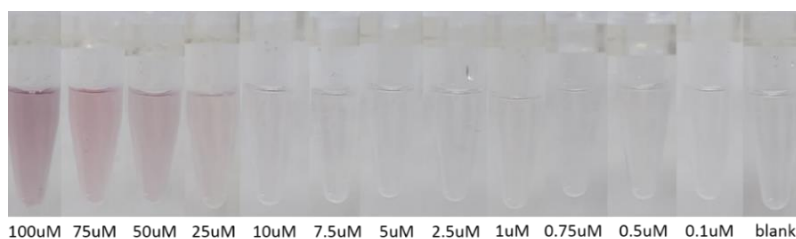


圖(三十三) Fe^{2+} 檢量線

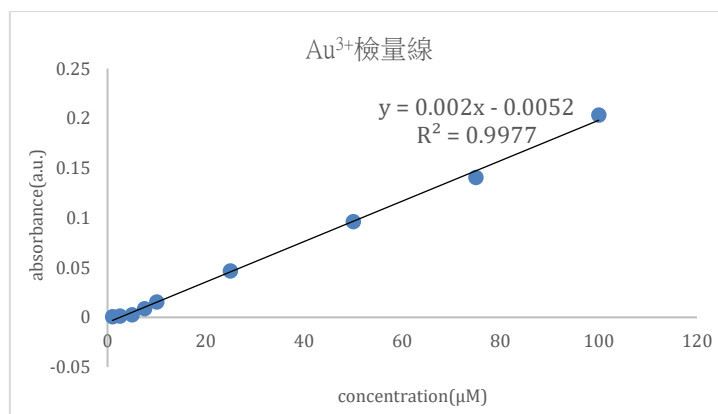
Fe^{2+} 濃度在 0.75 μM 之下時，其混和溶液吸收度和濃度的關係未有明顯正相關，將 Fe^{2+} 濃度(0.75-100 μM)與吸收度作圖(圖三十三)，得其定量極限落在 0.75 μM 。由圖可知 Fe^{2+} 檢量線的相關係數極高，數據極穩定，表示以單寧酸作為 Fe^{2+} 檢測法參考度極高。

而 $[\text{Fe}^{2+}] = \frac{A + 0.0018}{0.0032}$ ，將分析物與單寧酸混和後測吸收度並代入此方程，可得 Fe^{2+} 濃度。

(二)、不同濃度 Au^{3+} 與單寧酸的反應情形



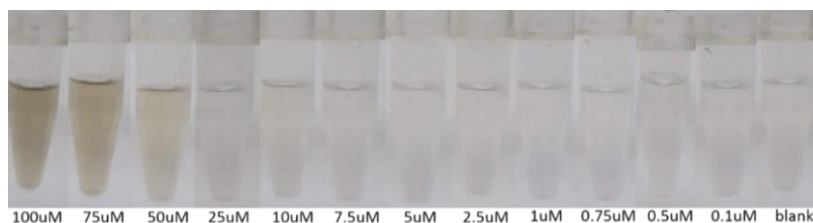
圖(三十四) 不同濃度的金與單寧酸混合情形



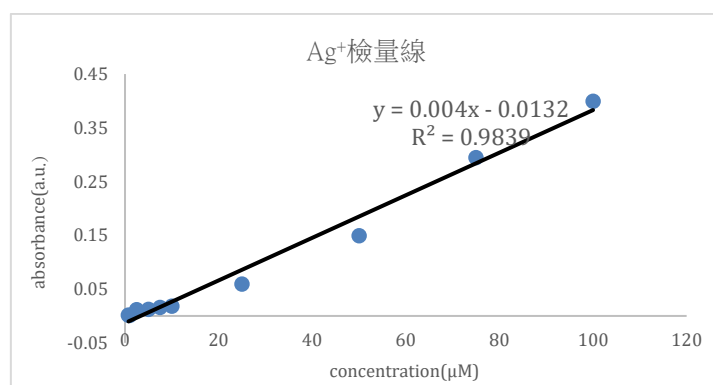
圖(三十五) Au^{3+} 檢量線

單寧酸與 Au^{3+} 的反應情形之數據在 $1\ \mu\text{M}$ 後不穩定，將 Au^{3+} 於 $100\ \mu\text{M}$ 至 $1\ \mu\text{M}$ 的數據作圖得圖(三十五)，其定量極限為 $1\ \mu\text{M}$ 。從圖得知 Au^{3+} 檢量線相關係數值高達 0.9977，可見其數據極為穩定，且參考價值極高。將分析物與單寧酸混合後溶液吸收度代入此方程 $[\text{Au}^{3+}] = \frac{A+0.0052}{0.002}$ ，即可得出 Au^{3+} 濃度。

(三)、不同濃度 Ag^+ 與單寧酸的反應情形



圖(三十六) 不同濃度的銀與單寧酸混合情形



圖(三十七) Ag^+ 檢量線

Ag^+ 濃度在 $0.75\ \mu\text{M}$ 之下時，數據不穩定，將 Ag^+ 濃度 ($0.75\text{--}100\ \mu\text{M}$) 與吸收度作圖 (圖三十七)，得定量極限 $0.75\ \mu\text{M}$ ，由圖可知 Ag^+ 檢量線的相關係數高，參考可信度高。而 $[\text{Ag}^+] = \frac{A+0.0132}{0.004}$ ，將分析物與單寧酸混和後測吸收度並代入此方程，可得 Ag^+ 濃度。

(四)、 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 之定量極限、偵測極限及偵測範圍

金屬離子	定量極限	偵測極限	偵測範圍
Fe^{2+}	$0.75\ \mu\text{M}$	$0.65\ \mu\text{M}$	$100\ \mu\text{M} \sim 0.65\ \mu\text{M}$
Au^{3+}	$1\ \mu\text{M}$	$0.75\ \mu\text{M}$	$100\ \mu\text{M} \sim 0.75\ \mu\text{M}$
Ag^+	$0.75\ \mu\text{M}$	$0.37\ \mu\text{M}$	$100\ \mu\text{M} \sim 0.37\ \mu\text{M}$

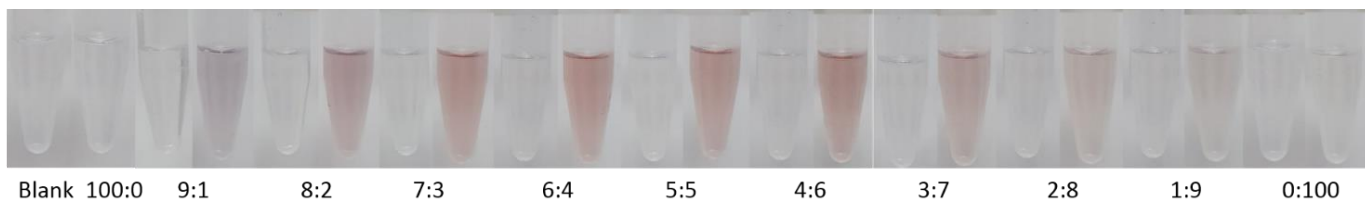
表(三) Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ 之定量極限、偵測極限及偵測範圍

由表(三)可知以此方法， Fe^{2+} 及 Ag^+ 的偵測極限皆低於環保署水質監測資訊網中對其監測標準，表示本方式可以檢測 Fe^{2+} 及 Ag^+ 之濃度是否有造成水質汙染，即時把關水質。當環境水樣中含有三價鐵時，將添加還原試劑，利用 Fe^{2+} 的檢量線測其總鐵含量。

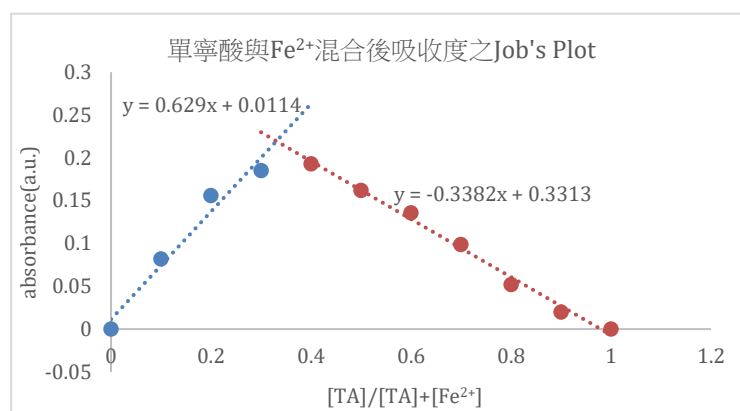
十、探討單寧酸與亞鐵、金、銀離子的配位比例

(一)、探討單寧酸與亞鐵離子的配位比例

固定單寧酸和亞鐵離子的總莫耳數100 μM ，單寧酸的莫耳分率依序為0~1，以下為反應情形及數據：



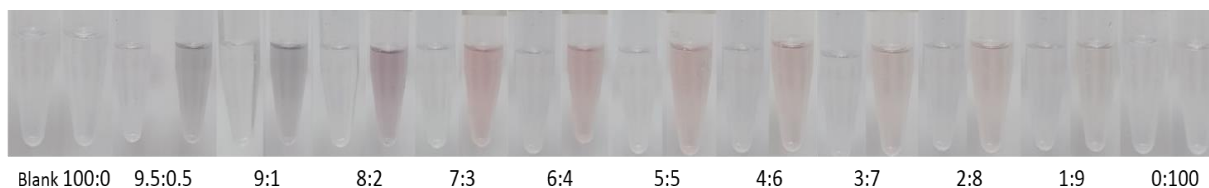
圖(三十八) 不同濃度單寧酸與不同濃度 Fe^{2+} 混合情形



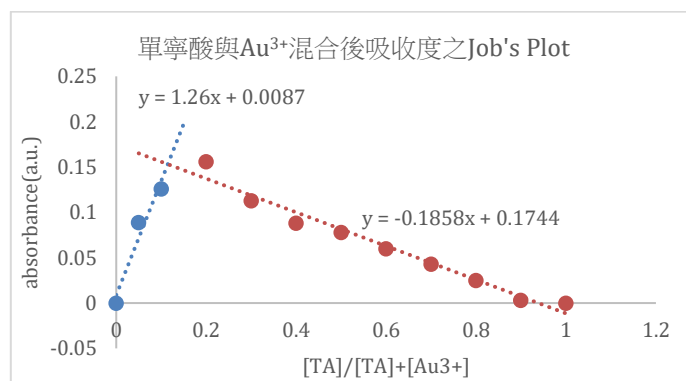
圖(三十九) 單寧酸與 Fe^{2+} 混合後吸收度之Job's Plot

從圖(三十九)中可得知，在單寧酸莫耳分率0.4處有轉折點，表示單寧酸和 Fe^{2+} 反應時以2:3的比例結合。因前期單寧酸的數量不足，為限量試劑，而後期亞鐵離子的數量減少，則亞鐵離子為限量試劑，兩者未能在適當比例下反應，故吸收度下降。

(二)、探討單寧酸與金離子的配位比例



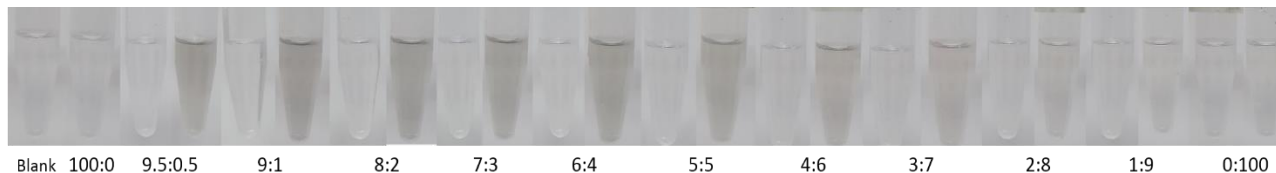
圖(四十)不同濃度單寧酸與 Au^{3+} 混合情形



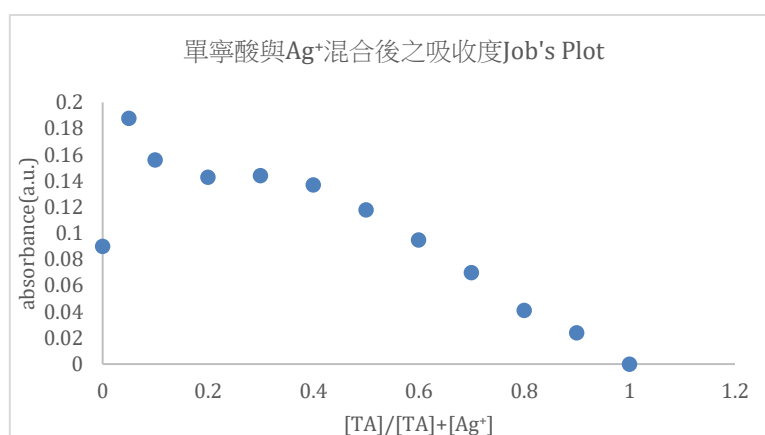
圖(四十一) 單寧酸與 Au^{3+} 混合後吸收度之Job's Plot

從圖(四十一)中可以發現，當金離子的濃度達到一定程度時，反應溶液偏黑色。因溶液成黑色，故前期吸收值較低。因其吸收峰改變，Job's Plot圖形在約0.2處有轉折點，代表單寧酸和 Au^{3+} 反應時以1:4的比例結合。

(三)、探討單寧酸與銀離子的配位比例



圖(四十二) 不同濃度單寧酸與 Ag^+ 混合情形



圖(四十三) 單寧酸與 Ag^+ 混合後吸收度之Job's Plot

從圖(四十三)可發現隨單寧酸莫爾分率越高，溶液愈呈黑色。由圖(四十一)知 Job's Plot圖形在約0.3有明顯轉折點，推測可能是單寧酸與銀離子反應約以1:2的比例結合。

十一、探討本研究開發之探針檢測水樣情形及添加回收率靈敏度

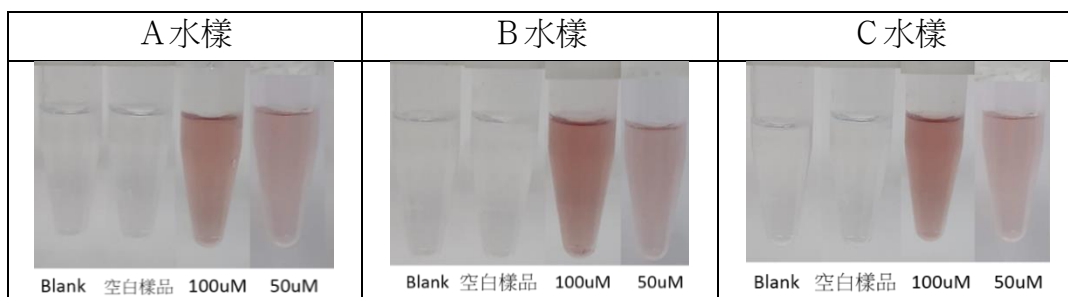
本組採不同水樣，分別加入 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^+ ，測添加回收率，表(四)為採樣水質資訊：

水樣資訊 水樣代號	採樣日期 及時間	水樣 類型	水溫 ($^{\circ}\text{C}$)	pH 值	採樣形態	採樣地點	保存條件
A	2020.10.10 16:25	溫泉	47.8	8.83	液態水	苗栗縣大湖鄉義和 村淋漓坪 126 號	500mL 塑膠樣品瓶 過濾後 4°C 冰箱保存
B	2020.10.19 18:37	生態池 水	25.6	8.31	液態水	彰化縣彰化市光復 里 1 鄰光復路 62 號	500mL 塑膠樣品瓶 過濾後 4°C 冰箱保存
C	2020.10.21 17:09	生態池 水	26.4	8.25	液態水	彰化縣彰化市介壽 里師大路 2 號	500mL 塑膠樣品瓶 過濾後 4°C 冰箱保存

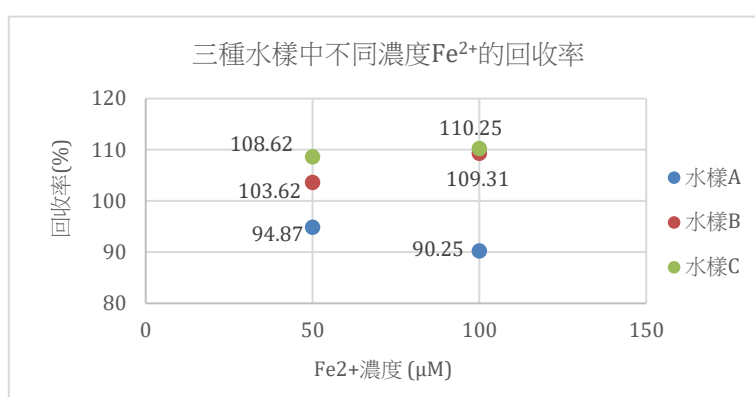
表(四)採樣水質相關資訊

(一)、不同濃度的 Fe^{2+} 與單寧酸於不同水樣的情形

將 Fe^{2+} 加入水樣並稀釋得其最終加入單寧酸後濃度為 $100\ \mu\text{M}$ 、 $50\ \mu\text{M}$ ，測其吸收度並計算添加回收率，如圖：



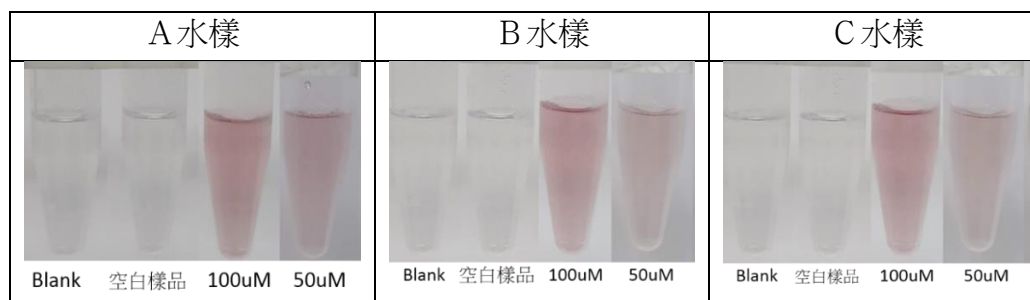
圖(四十四) 不同濃度 Fe^{2+} 與單寧酸於不同水樣中的反應情形



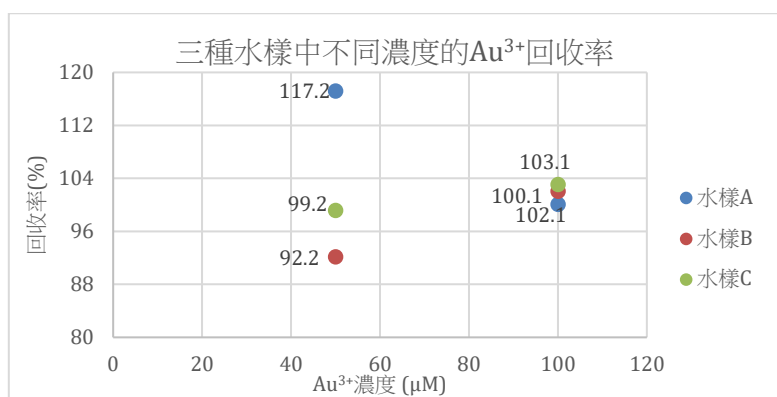
圖(四十五) 不同濃度 Fe^{2+} 於三種環境水樣中的添加回收率

由圖(四十五)中可以看見 $50\ \mu\text{M}$ 及 $100\ \mu\text{M}$ Fe^{2+} 於三種環境水樣中的添加回收率皆位於90.2%到110.3%間，符合水質檢測方法之品管標準80%~120%，表示於此濃度區間單寧酸可用於相似類型水樣檢測。

(二)、不同濃度的 Au^{3+} 與單寧酸於不同水樣中的反應情形



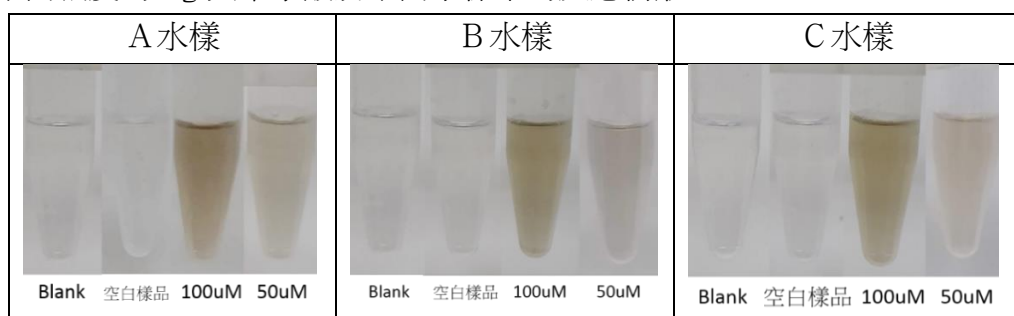
圖(四十六) 不同濃度 Au^{3+} 與單寧酸於不同水樣中的反應情形



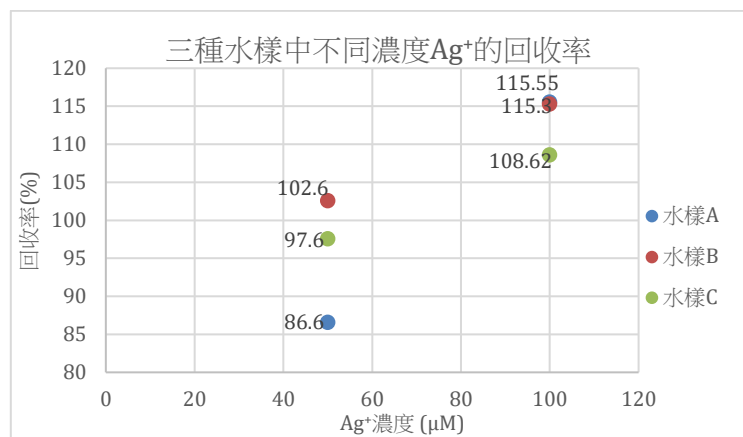
圖(四十七) 不同濃度 Au³⁺於三種環境水樣中的添加回收率

由圖(四十七)可見 50 μM 及 100 μM Au³⁺於環境水樣中的添加回收率在 92.2%到 117.2%間。表單寧酸於此濃度區間可用於相關類型水質中檢測 Au³⁺。

(三)、不同濃度的 Ag⁺與單寧酸於不同水樣中的反應情形



圖(四十八) 不同濃度Ag⁺與單寧酸於不同水樣中的反應情形



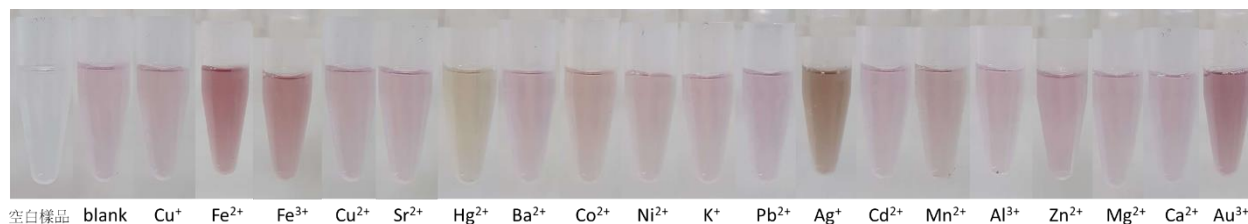
圖(四十九) 不同濃度 Ag⁺於三種環境水樣中的添加回收率

由上圖可知 50 μM Ag⁺於環境水樣中的回收率在 86.6% 到 102.6% ，100 μM Ag⁺的回收率在 108.6%到 115.6%。單寧酸於此濃度區間可用於相關類型水質中檢測 Ag⁺。

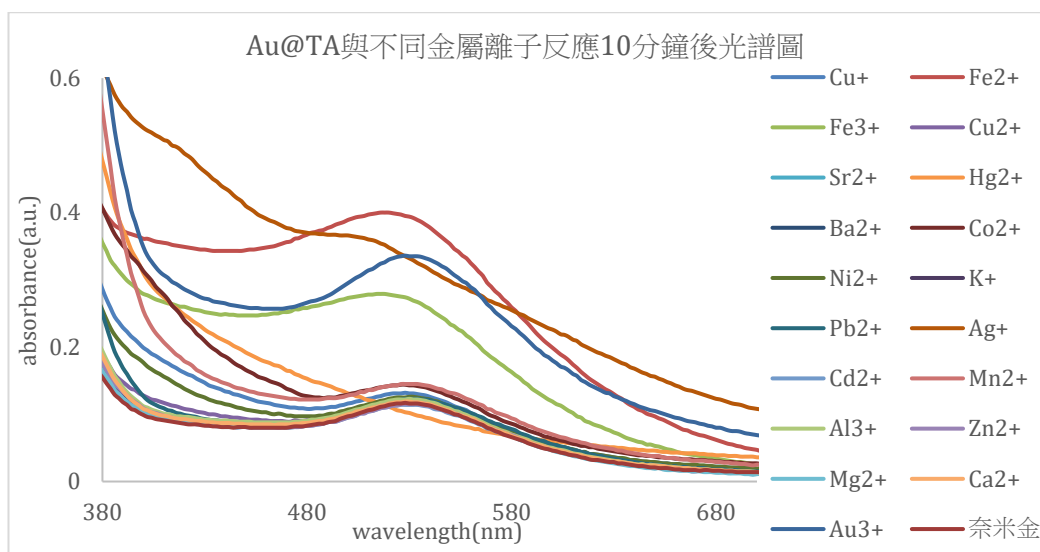
由上述實驗結果可知本檢測方式於實際環境水樣中檢測 Fe²⁺、Au³⁺、Ag⁺的添加回收率皆在 80%到 120%之間，符合水質檢測方法之品質管制標準及分析化學領域的要求。可見本檢測方式能有效運用於實際環境水樣檢測。

十二、探討 Au@TA 與不同金屬離子反應情形及吸收光譜

Au@TA 與不同金屬離子反應十分鐘後反應情形如下：



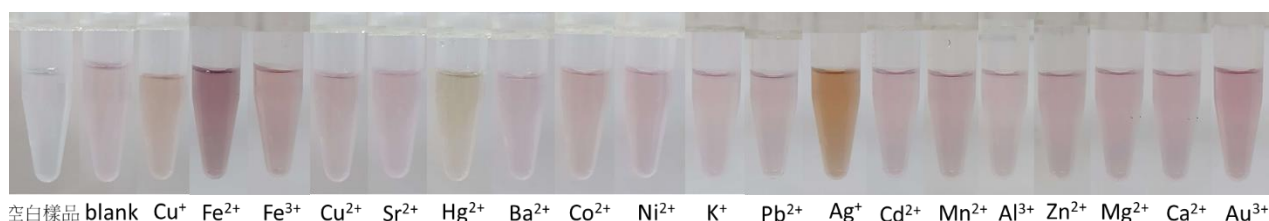
圖(五十)Au@TA 與不同金屬離子反應十分鐘後情形



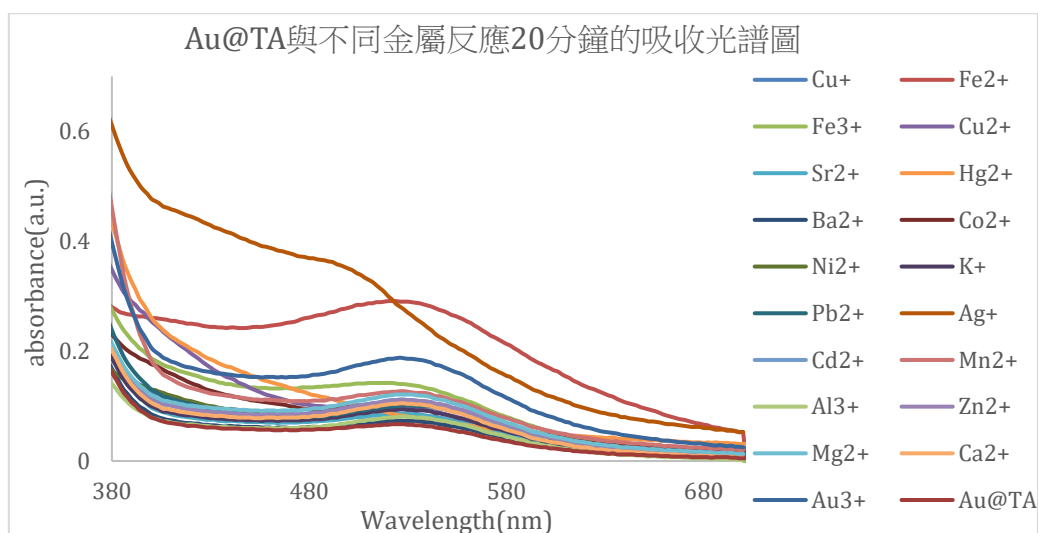
圖(五十一)Au@TA 與不同金屬離子反應十分鐘後吸收光譜圖

從圖(五十)中可發現 Au@TA 與不同金屬離子的反應以 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Ag^{+} 、 Au^{3+} 最為明顯，而 Hg^{2+} 則變成淺黃色。測其吸收光譜後，從圖(五十一)中可發現合成的 Au@TA 吸收峰約為 532 nm， Ag^{+} 在 380~480 nm 波段相較其他金屬最明顯， Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Au^{3+} 在波長 520~540 nm 亦有明顯的吸收峰。 Hg^{2+} 的吸收光譜卻未有 Au@TA 的吸收峰，推測可能形成金汞齊化合物。

Au@TA 與不同金屬離子反應二十分鐘後反應情形如下：



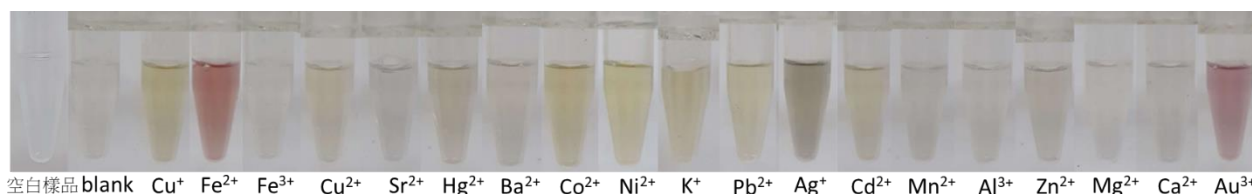
圖(五十二)Au@TA 與不同金屬離子反應二十分鐘後情形



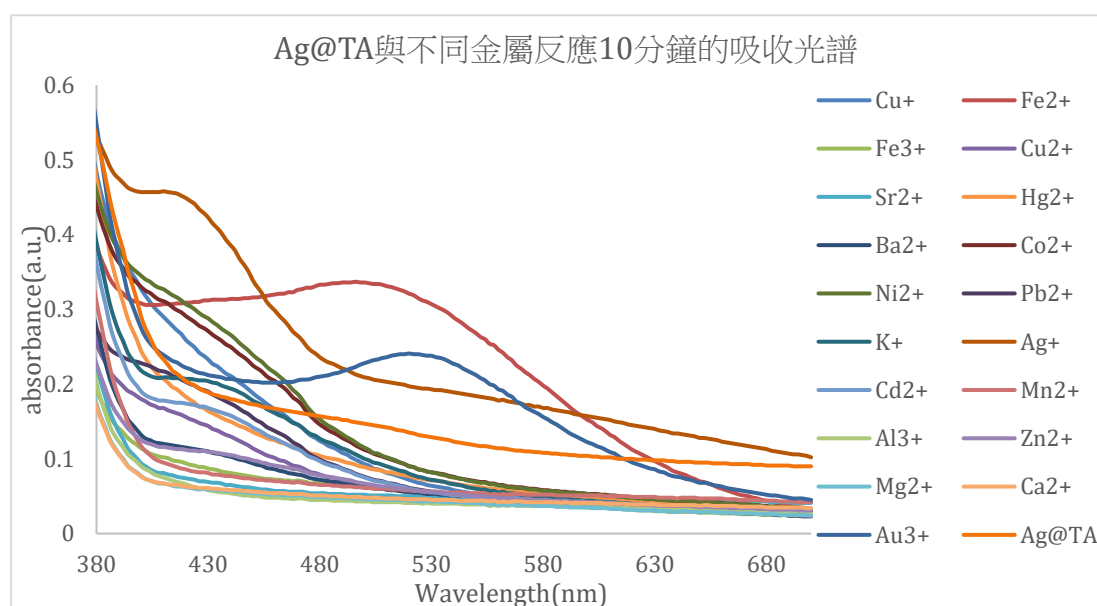
圖(五十三)Au@TA 與不同金屬離子反應二十分鐘後吸收光譜圖

從圖中可發現 Fe^{2+} 、 Ag^+ 、 Au^{3+} 最為明顯，而比對圖(五十三)和圖(五十一)發現反應 20 分鐘情形並未較反應 10 分鐘情形好，推測可能與合成奈米金時有關，因由奈米金的吸收波形發現反應 20 分鐘較反應 10 分鐘的低，或是因 Au@TA 與金屬離子反應後沉澱，導致上層液顏色較淺。

十三、探討 Ag@TA 與不同金屬離子反應情形及吸收光譜



圖(五十四)Ag@TA 與不同金屬離子反應十分鐘後情形



圖(五十五)Ag@TA 與不同金屬反應 10 分鐘之情形及吸收光譜

由圖(五十四)可發現 Fe^{2+} 、 Ag^+ 、 Au^{3+} 有較明顯的顏色變化， Fe^{2+} 呈淡紅色， Ag^+ 呈淡灰色， Au^{3+} 呈淡紫色，在光譜圖中也以 Fe^{2+} 、 Ag^+ 、 Au^{3+} 有較明顯的吸收峰。但上述金屬離子的反應效果與以單寧酸進行實驗的反應效果相差不大，推測可能是尚未找到最佳的 Ag@TA 製備比例，以致未附於銀奈米粒子上的單寧酸過多，影響實驗結果。

陸、討論

- 一、探討單寧酸特性的實驗中，1 mM、100 μM 單寧酸在鹼性環境中有極明顯的顏色變化，而酸性環境中則呈無色。本組推測是因單寧酸的分子結構會隨著環境pH值不同而改變其共軛 π 鍵的形成，結構的改變會影響其發色團，使單寧酸顏色改變。此特性顯示單寧酸與酸鹼指示劑一樣有加酸顯色反應。未來可利用此特性，開發單寧酸成為一酸鹼指示劑。
- 二、探討本檢測方法的最佳化條件時，發現pH值及單寧酸的濃度對單寧酸與亞鐵離子的反應有較明顯的影響。其中pH值與反應情形有正向關係，推測是鹼性環境能增加單寧酸解離與亞鐵離子螯合的能力。而單寧酸濃度以最終濃度100 μM 為最佳反應條件，此現象符合單寧酸與亞鐵離子的配位情形，其以1:1為最佳反應情形。磷酸緩衝溶液的濃度與反應時間對其反應則沒有顯著影響，推測是因單寧酸與亞鐵離子反應可在短時間內達到穩定。探討溫度影響時，加熱對反應有負向成效，推測是加熱導致單寧酸結構變化，而改變自身顏色，以致反應成效不顯著。
- 三、單寧酸與亞鐵離子、金離子、銀離子反應產生不同顏色變化的情形，本組推測是單寧酸中的發光團會與金屬構成複合體並且與配體形成配位複合物。而金屬位於中心的卟啉環，在高度共軛 π 鍵系統下的卟啉環會吸收可見光，位於中心金屬的特性則會影響金屬複合物的吸收光譜，造成顏色變化。
- 四、上述內容中，討論了單寧酸與金屬離子的配位比例，但對其運作情形仍有待探討，我們將進行更多實驗及數據比對，同時也將繼續探討單寧酸與金屬離子的反應情形。
- 五、實際水樣中添加回收率的實驗當中，得知50 μM 及100 μM 的金屬離子於實際水樣中可以被檢測到。我們將繼續進行實驗，探討當水樣中有更低濃度的金屬離子時，我們應採取何種方式去除干擾，使本檢測方法能檢測到符合分析化學領域要求的添加回收率。

六、金離子、銀離子與單寧酸反應後的顏色變化分別為淺紫色及土黃色，其與金奈米粒子、銀奈米粒子顏色相仿，推測此反應可能有金奈米粒子、銀奈米粒子的生成。未來將透過電子顯微鏡觀察，確認反應條件與奈米粒子生成之間的關係。

七、由Au@TA與 Hg^{2+} 的反應吸收光譜圖發現其波形與其他金屬不同，參考文獻[8]後推測可能形成 $\text{Au}^{3+}\text{-Hg}^{2+}$ 齊化合物，導致奈米金的吸收峰消失。後續將探討是否能以 Au^{3+} 與 Hg^{2+} 互溶及專一特性檢測 Hg^{2+} 。

八、而由與金屬離子反應20分鐘的Au@TA與10分鐘的Au@TA的吸收波形，發現反應時間較長反而導致吸收峰變低，推測可能與合成Au@TA時有關，或是因其與金屬離子發生沉澱。我們接下來將提高合成之Au@TA產量，避免合成之Au@TA不同，另外將Au@TA與金屬離子反應後溶液離心，確認是否有沉澱情形。

柒、結論

一、結論

- (一)、單寧酸在不同酸鹼值下會有不同的顏色，因其分子結構改變導致顏色不同，可作為一酸鹼指示劑。
- (二)、由Job's Plot得知單寧酸與亞鐵離子約以2:3比例配位，和金約為1:4比例，與銀則為1:2之比例。
- (三)、由Au@TA與不同金屬離子反應情形發現 Au^{3+} 與 Hg^{2+} 之反應有別於其他金屬離子，未來可能可利用此特性專一檢測 Hg^{2+} 。
- (四)、從以上的實驗，得知單寧酸與許多金屬離子皆會產生反應，而反應情形以亞鐵離子、金離子和銀離子最明顯，以單寧酸作為化學探針可檢測到最低濃度至 0.67 μM 的亞鐵離子，0.75 μM 的金離子，和 0.37 μM 的銀離子，而在較高濃度時，則可直接以肉眼得知其濃度區間，其中鐵離子的檢測可藉由在含鐵離子溶液加入還原試劑後再進行檢測。本方法可成功檢測至環保署管制的水中銀離子濃度和鐵離子濃度，表示其可初步把關環境水質，彌補傳統檢測方式中儀器取得不便且價格高昂、程序繁瑣的不足。

二、未來展望

- (一)、以 EDTA 探討可逆反應，使單寧酸可重複使用，達到綠色化學中減少廢物的概念。
- (二)、探討去除其他金屬離子之干擾的方法，可擁有對特定金屬離子的專一性。

- (三)、探討以 Au@TA 進行實驗的最佳化條件，期望可提高本檢測方法靈敏度並降低偵測極限，檢測到更低濃度的重金屬離子。
- (四)、探討 Ag@TA 最佳製備比例，期望可使其與金屬離子反應情形有更顯著的變化。
- (五)、實際檢測工業廢水、實驗室廢水等含有重金屬之水樣。
- (六)、利用本反應顏色改變的特性，製成試紙用於立即檢測，達便於民生使用之成效。
- (七)、嘗試以紫外線檢測本反應之螢光效果。
- (八)、參閱文獻後，希望以電化學循環伏安法(CV)或方波伏安法(SWV)搭配單寧酸提高與金屬離子反應效果，降低偵測極限。

捌、參考文獻資料及其他

- [1]、Aikaita, J. , Gyliena, O. , Rekertas,R. , 1999 , Precipitation of heavy metal ions with tannic acid in solutions , Journal of Agricultural and Food Chemistry , 44(2) , p 599 – 606
- [2]、Zhaofeng Fu , Rui Chen , 2019 , Study of Complexes of Tannic Acid with Fe(III) and Fe(II) , Hindawi Journal of Analytical Methods in Chemistry , Volume 2019 , Article ID3894571
- [3]、Tufail Ahmad , 2014 , Reviewing the Tannic Acid Mediated Synthesis of Metal Nanoparticles , Hindawi , Volume 2014 , Article ID954206
- [4]、Alex L.Suherman , Eden E.L.Tanner , SabineKuss , Stanislav V.Sokolov , JenniferHolter , Neil P.Young , Richard G.Compton , 2018 , Voltammetric determination of aluminium(III) at tannic acid capped-gold nanoparticle modified electrodes , ScienceDirect , 265 , p 682 – 690
- [5]、Alex Lukmanto Suhermam , Sabine Kuss , Eden E L tanner , 2018 , Electrochemical Hg²⁺ detection at tannic acid-gold nanoparticle modified electrodes by square wave voltammetry , The Analyst 143(9):-DOI:10.1039/C8AN00508G
- [6]、Chi-Wei Liu , Yi-Ting Hsieh , Chih-Ching Huang , Zong-Hong Lin , 2008 , Detection of mercury(II) based on Hg²⁺-DNA complexes inducing the aggregation of gold nanoparticles , 19(19):2242-4-DOI: 10.1039/b719856f
- [7]、曾賢德。2010。金奈米粒子的表面電漿共振特性：耦合、應用與樣品製作。物理雙月刊。32 卷 2 期。P 126 – 135。
- [8]、林育任、謝君鈺，2019，以自組儀器探討單寧酸與鐵及鉛離子之作用並開發為檢測方法之研究，台灣 2010 年 國際科展環境工程科，國立臺灣科學教育館
- [9]、全國環境水質監測資訊網，行政院環保署

【評語】 050202

本研究利用單寧酸與特定金屬離子反應後有顏色變化的特性搭配比色法，同時探討單寧酸與 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^{+} 間的配位關係，並藉其開發出簡易、快速且方便檢測環境水樣中金屬離子 (Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^{+}) 的方法。優化條件下，本方法針對 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^{+} 線性偵測範圍分別為 $0.67\text{-}100\ \mu\text{M}$ ， $0.75\text{-}100\ \mu\text{M}$ 及 $0.37\text{-}100\ \mu\text{M}$ ，涵蓋環保署水質監測網的監測標準。且本方法於真實水樣(溫泉水、生態池水)中檢測的添加回收率在 $85\%\sim 120\%$ 間，符合分析化學領域要求。其優點為單寧酸作為化學探針為一可信度高、簡便且可用於實際水樣中的檢測方法。但缺點為

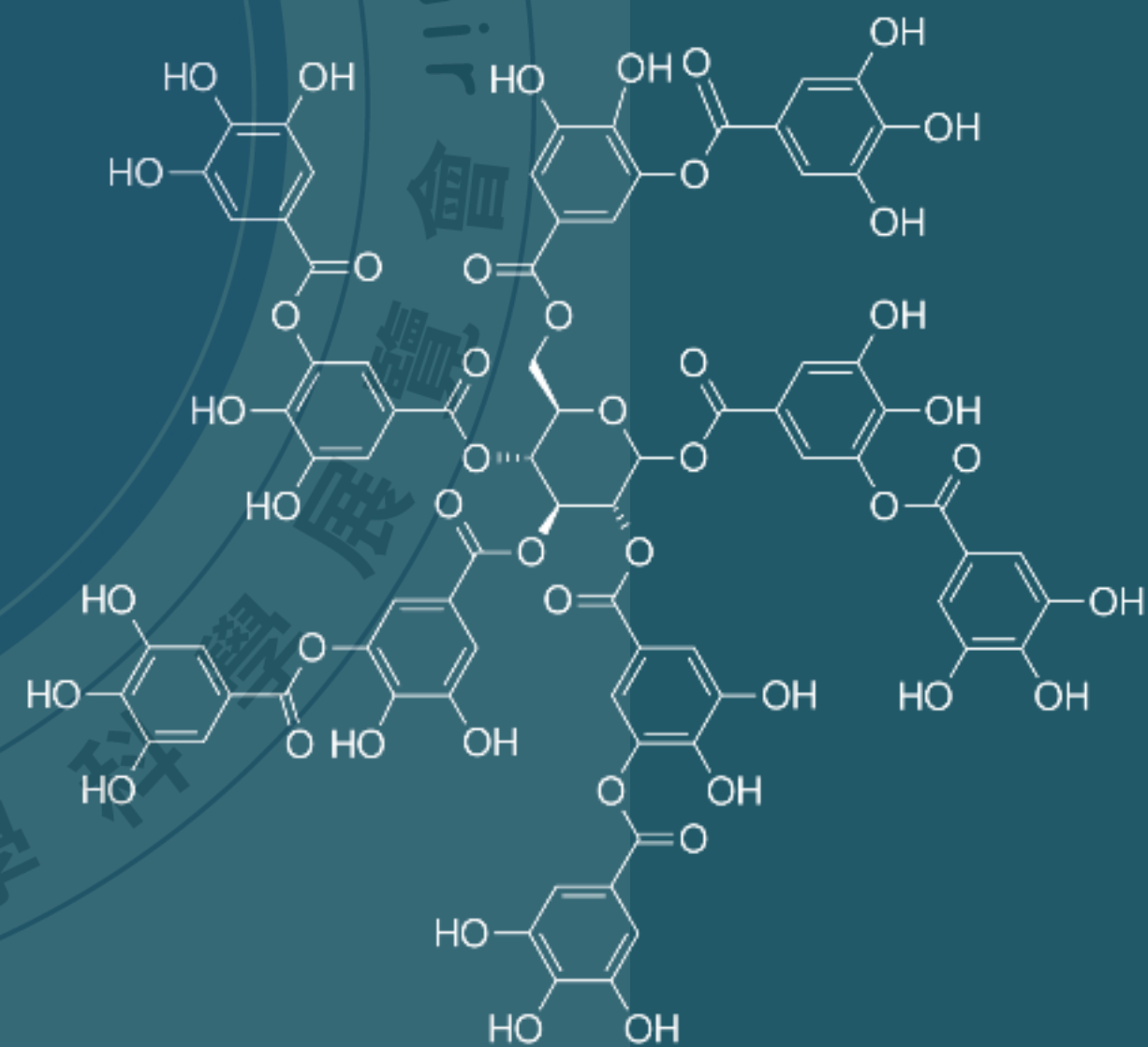
1. 單寧酸可和很多物質結合，當混合物存在下，如何分辨特定金屬離子？
2. 從圖(十二)可發現單寧酸與 Fe^{2+} 的反應情形隨 pH 值增高，溶液顏色越偏紅色，表示環境的 pH 值對單寧酸與 Fe^{2+} 的反應情形有一定程度的影響，推測與單寧酸在不同酸鹼值下的解離程度導致的配位情形有關，或是與亞鐵離子在 pH $7.6\sim 9.6$ 會有 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 的出現導致。這時應該有一個無加入單寧酸的控制組，看是否在高 pH 值產生 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 導致？其他離子亦同。如果真需要單寧酸，那形成的錯化合物結構應決定。

3. 在其他多酚類化合物也會產生類似的錯化物嗎？效果比較單寧酸如何？錯化合物結構如何決定？應該可以再深入討論。
4. 所測試的金屬離子例如金和銀離子在廢水中應不會存在，最好針對汞離子發展濃度監測方式。

作品簡報

開發單寧酸檢測法

偵測亞鐵、金和銀離子



組別：高級中等學校組
科別：化學科



壹、研究動機

重金屬的危害一直是社會關心的議題，因此許多檢測環境中重金屬離子的方法問世，如：原子吸收/放射光譜、冷原子螢光光譜、感應耦合電漿質譜儀為目前測量重金屬主要技術，但受限於造價昂貴、樣品處理複雜、難以及時分析等缺點。另有化學感測器陸續被開發以偵測重金屬離子，但應用於真實樣品重金屬濃度定量的檢測相當有限。

查詢相關文獻[1]後，發現單寧酸與特定金屬會有沉澱及變色的情形，因此本組欲藉由單寧酸與金屬離子配位反應的變化，開發一套簡便、靈敏度高且可普遍運用的檢測方法，推廣至大學以下實驗機構，達到定期把關環境水樣的效果。



貳、研究目的

- 一、探討單寧酸在不同緩衝溶液條件下之光學特性及可能原因。
- 二、探討單寧酸與金屬離子結合之光學性質及可能原因。
- 三、優化條件下，單寧酸與亞鐵、金、及銀離子之定性及定量分析。
- 四、優化條件下，單寧酸於真實水樣中的金屬離子之添加回收率探討。
- 五、探討單寧酸修飾金奈米粒子效果及與金屬離子結合之光學性質。



參、研究流程

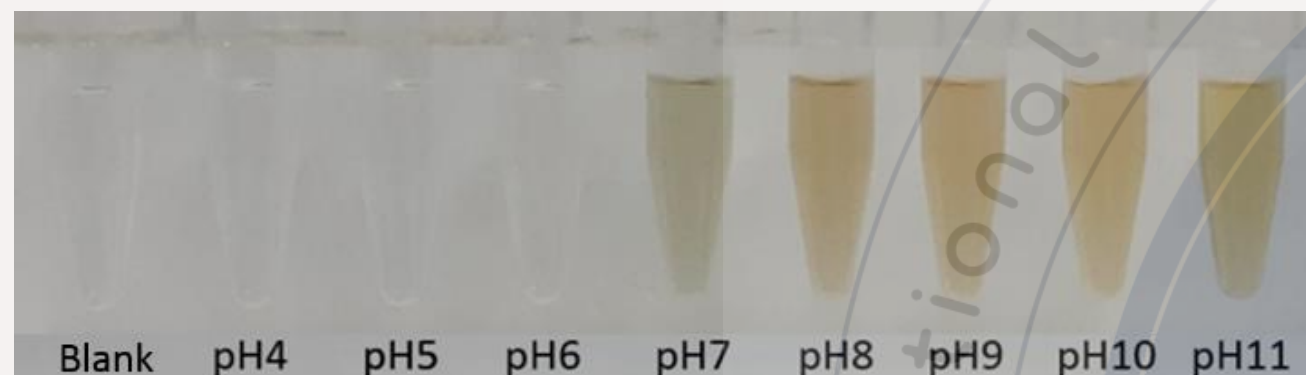




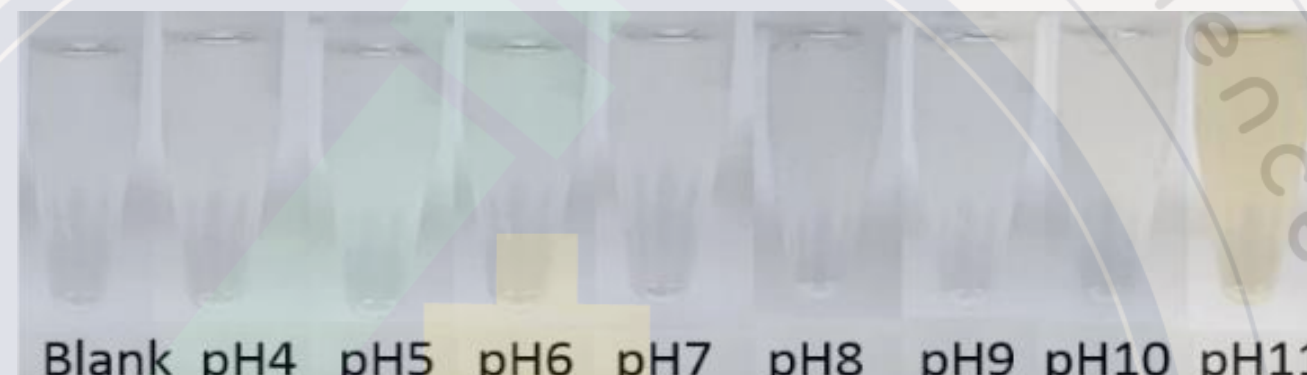
肆、研究結果

一、探討不同濃度單寧酸在不同pH值中的變化及特性

將不同pH值條件、不同濃度的單寧酸放置超過8小時後情形如下：



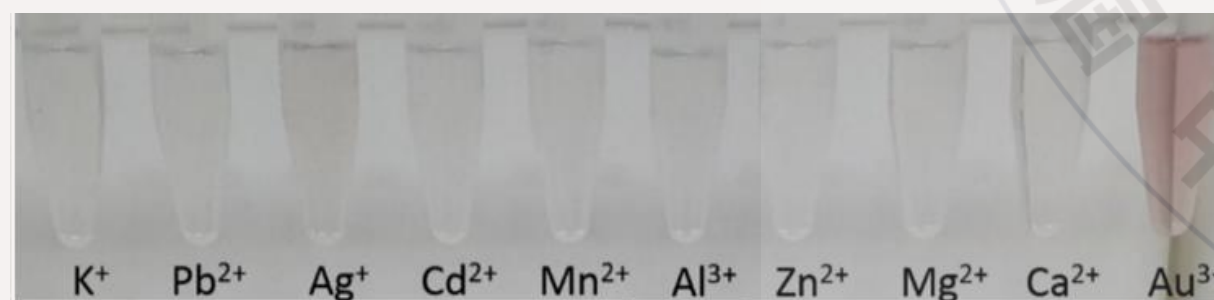
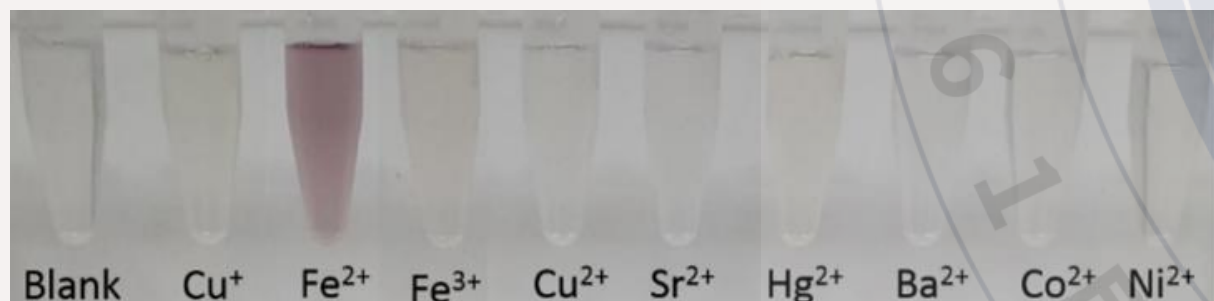
▲ 圖(一) 100 μM 單寧酸於不同pH值下放超過8小時情形



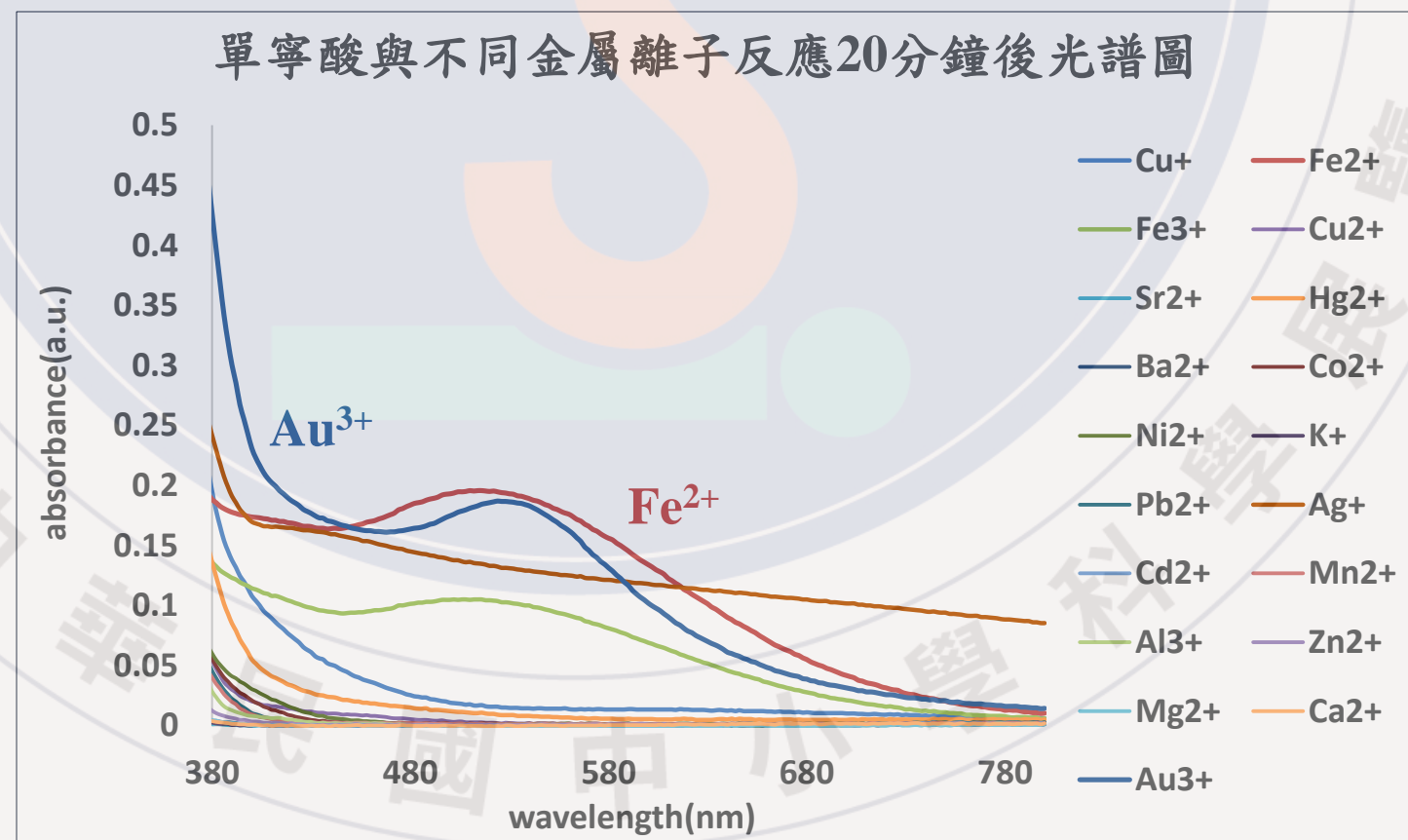
▲ 圖(二) 100 μM 單寧酸於不同pH值下放20分鐘後情形

➤ 單寧酸顏色與放置時間、濃度有正向關係，pH值越大其顏色愈黃。考量後續實驗，暫定經調整酸鹼值後放置20分鐘的100 μM 單寧酸進行接下來的實驗。

二、探討單寧酸對不同金屬離子之反應情況及其吸收光譜圖



▲ 圖(三)單寧酸與不同金屬離子於pH 7.0 條件反應20分鐘



▲ 圖(四)

➤ Fe^{2+} 與TA反應後吸收峰落在498 nm。

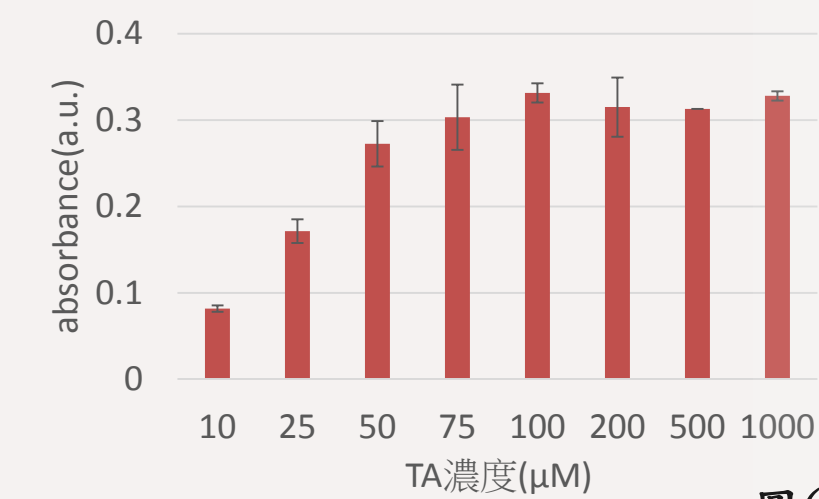
➤ Au^{3+} 與TA反應後吸收峰落在534 nm。

➤ 因 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 顏色變化明顯，將以 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 作為後續開發TA化學探針之目標物離子。

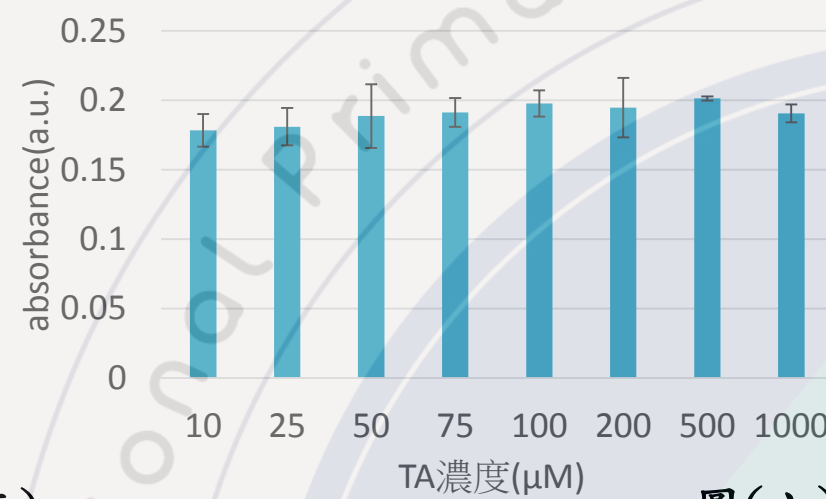
三、最佳化探討

[TA]

不同濃度單寧酸與Fe²⁺反應10分鐘後情形 不同濃度單寧酸與Au³⁺反應10分鐘後情形



▲ 圖(五)



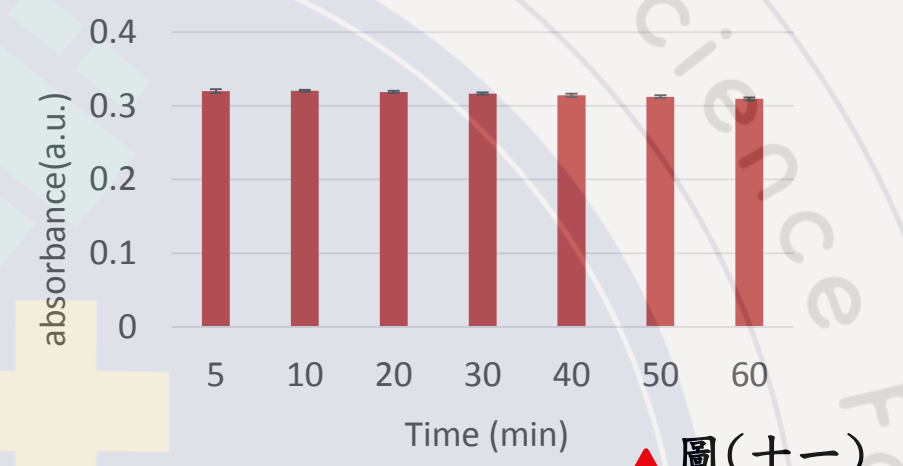
▲ 圖(六)

操縱變因

[TA]、[PBS]、pH值、反應時間、反應溫度

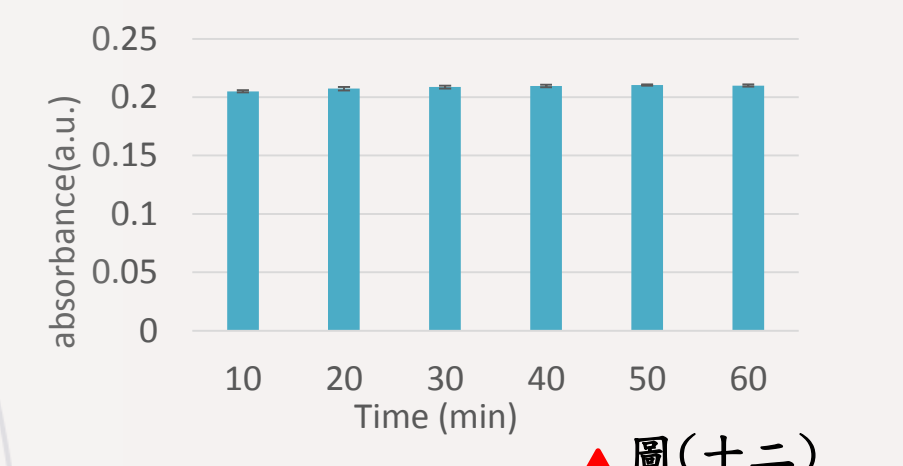
反應時間

不同反應時間的單寧酸與Fe²⁺之反應情形



▲ 圖(十一)

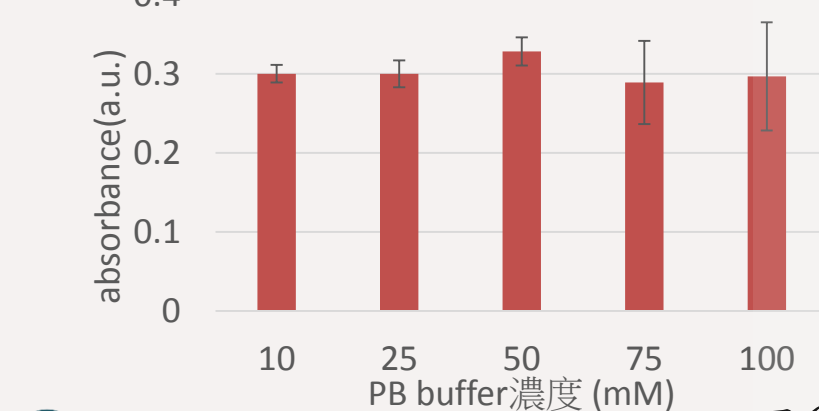
不同反應時間的單寧酸與Au³⁺之反應情形



▲ 圖(十二)

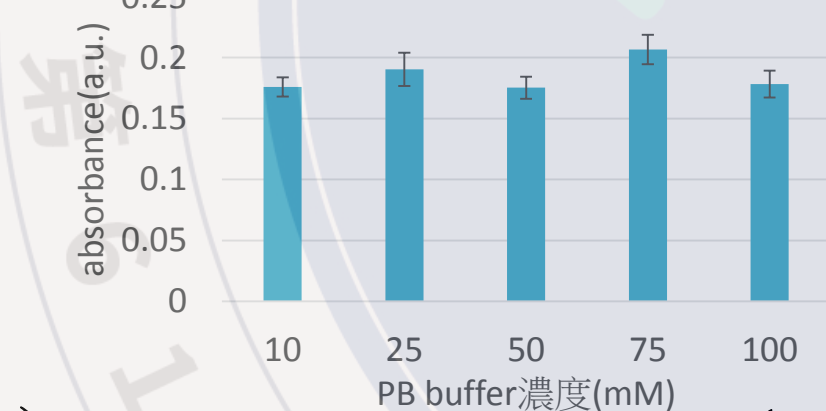
[PB buffer]

單寧酸與Fe²⁺於不同濃度PBS中
反應10分鐘後情形



▲ 圖(七)

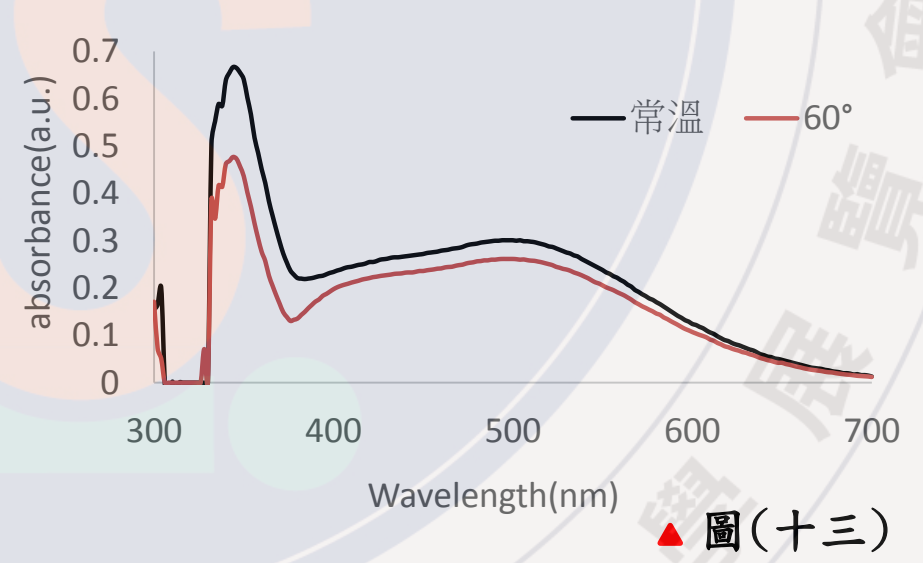
單寧酸與Au³⁺於不同濃度PBS中
反應10分鐘後情形



▲ 圖(八)

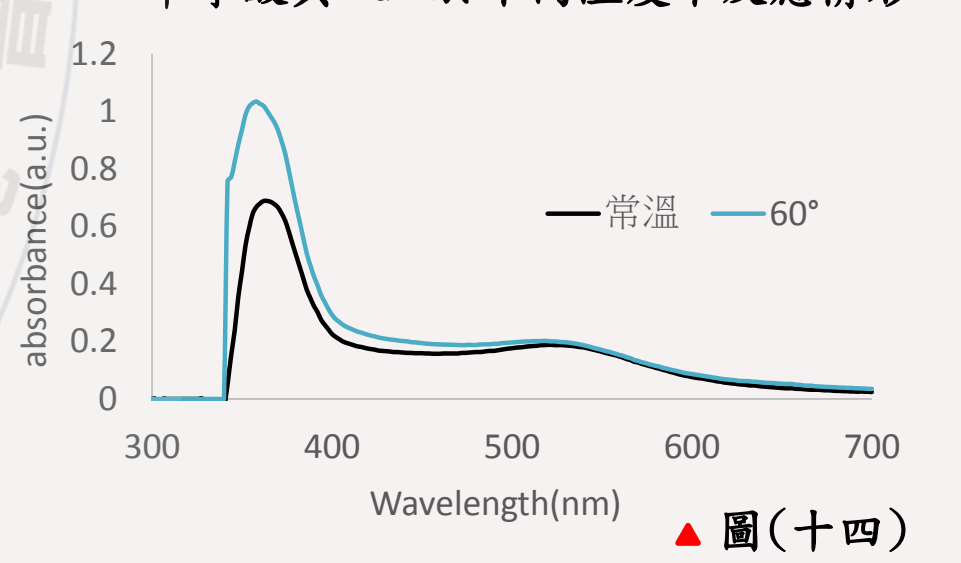
反應溫度

單寧酸與Fe²⁺於不同溫度下反應情形



▲ 圖(十三)

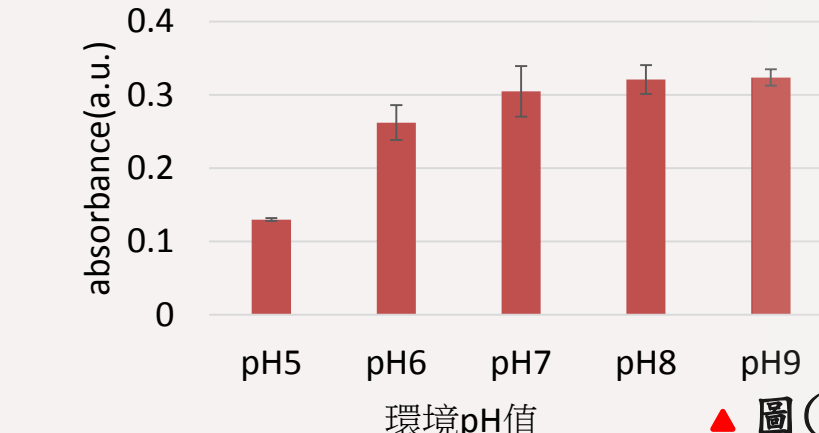
單寧酸與Au³⁺於不同溫度下反應情形



▲ 圖(十四)

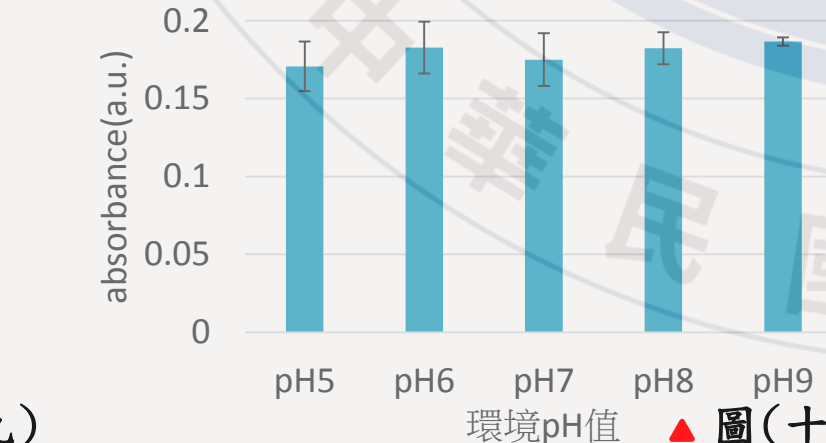
pH值

不同pH值下單寧酸與Fe²⁺
反應10分鐘後情形



▲ 圖(九)

不同pH值下單寧酸與Au³⁺
反應10分鐘後情形

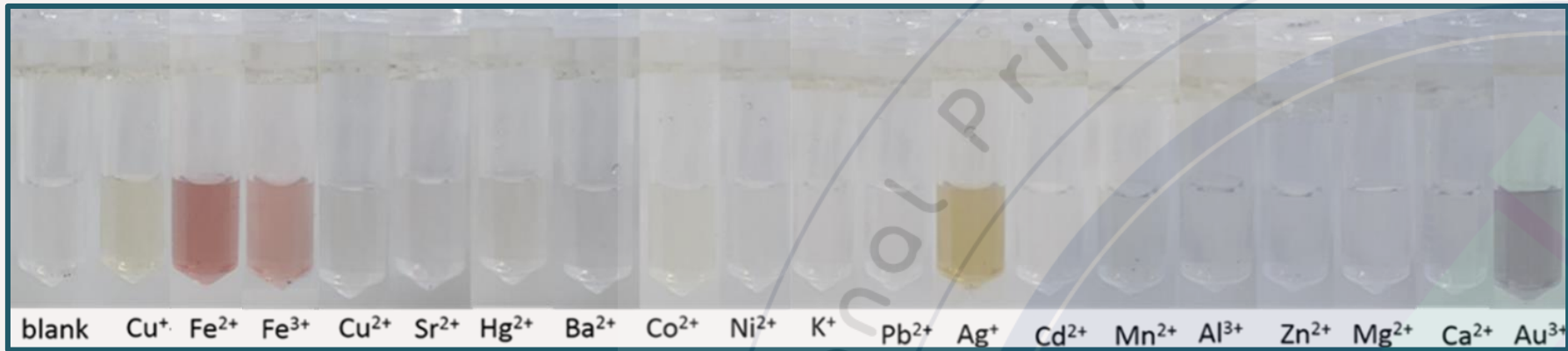


▲ 圖(十)

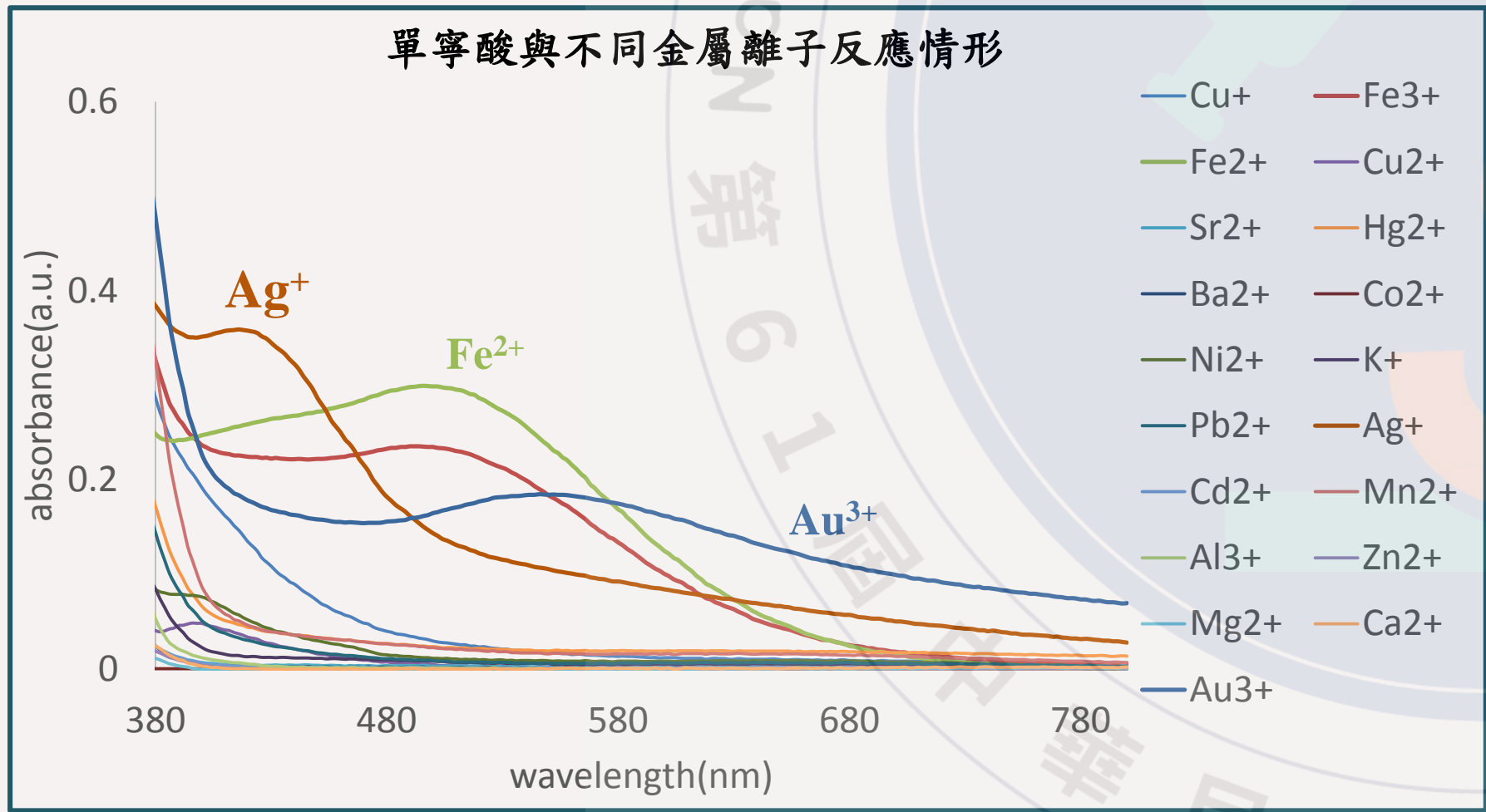
最佳化結果：

以100 μM單寧酸、50 mM pH 9.0 PB buffer、
反應時間10分鐘、常溫下進行做為控制變因

四、探討最佳化條件下單寧酸與不同金屬離子之反應情形



▲ 圖(十五) 最佳化條件下不同金屬離子與單寧酸的反應情形



▲ 圖(十六)

除 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 外， Ag^{+} 的吸收值在380 nm到450 nm處高於其他金屬離子，在416 nm處為可見光範圍內吸收峰。因 Ag^{+} 與單寧酸的反應在可見光範圍有極佳的光譜吸收值，且肉眼可見 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 、 Ag^{+} 的反應顏色差異，因此本組希望能將此方法應用於對 Ag^{+} 、 Fe^{2+} 、 Au^{3+} 的檢測，故後續實驗將探討此方法對此三種金屬的反應情形及檢測效果。

亞鐵離子、銀離子、金離子對人體的危害

亞鐵離子:

如果誤服過量，可能造成肺及肝受損、休克、昏迷等。

銀離子:

皮膚接觸可能產生過敏反應，如腫脹及發炎，而誤服過量會造成銀質沉澱症

金離子:

主要症狀有腹瀉、嘔吐、肝臟損害、厭食、呼吸困難、腎臟損害等。

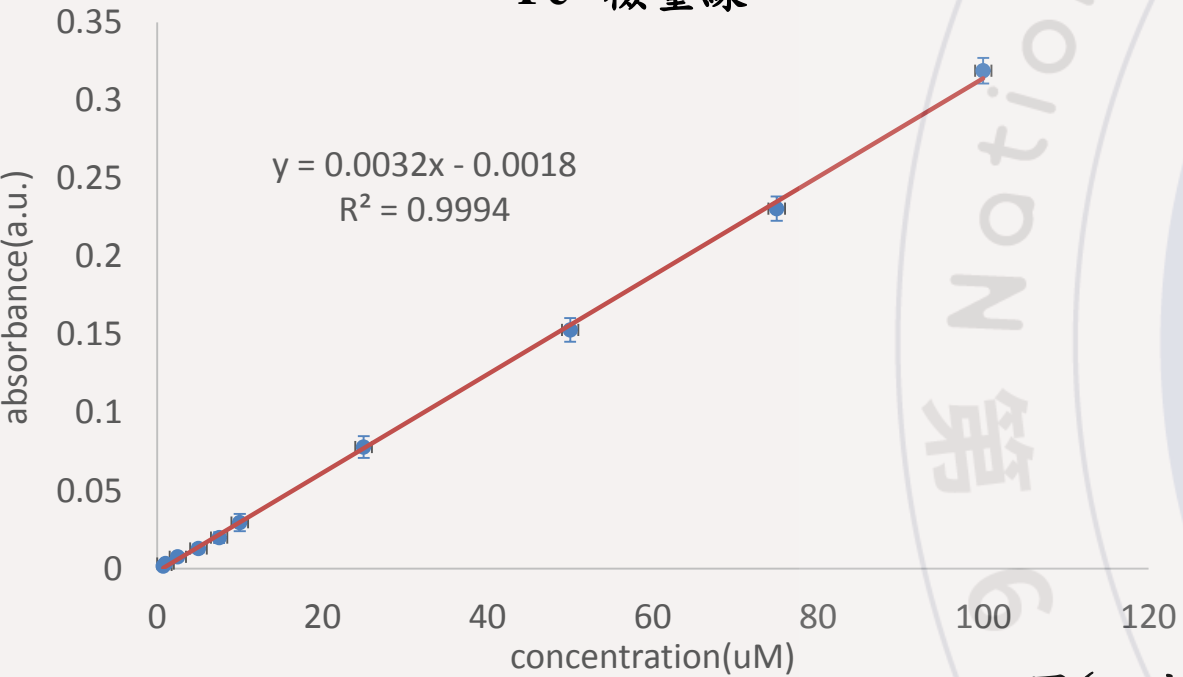
五、建立檢量線並得出偵測極限及定量極限

(一)、不同濃度Fe²⁺與單寧酸的反應情形



▲ 圖(十七)

Fe²⁺檢量線



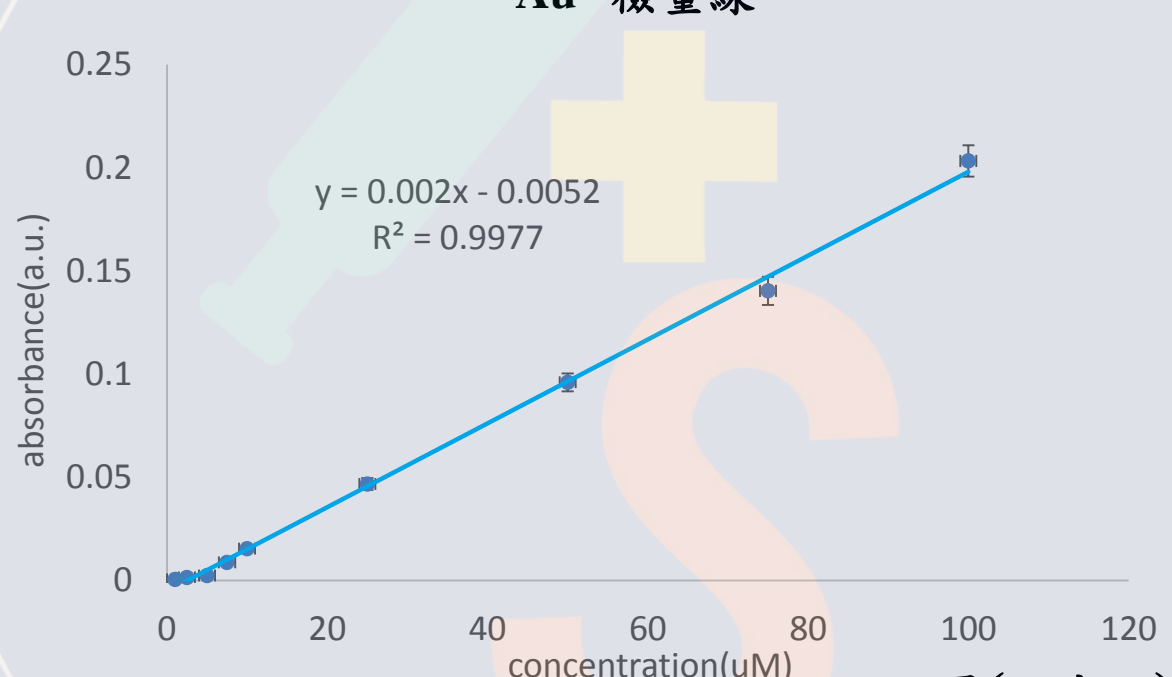
▲ 圖(二十)

(二)、不同濃度Au³⁺與單寧酸的反應情形



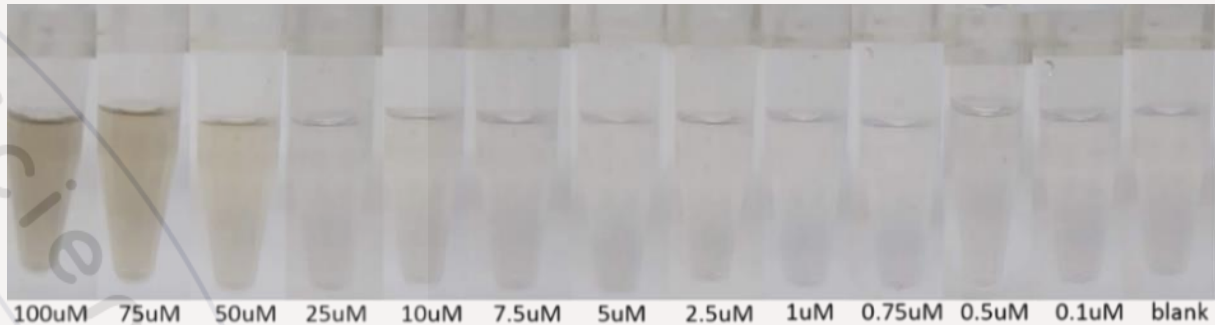
▲ 圖(十八)

Au³⁺檢量線



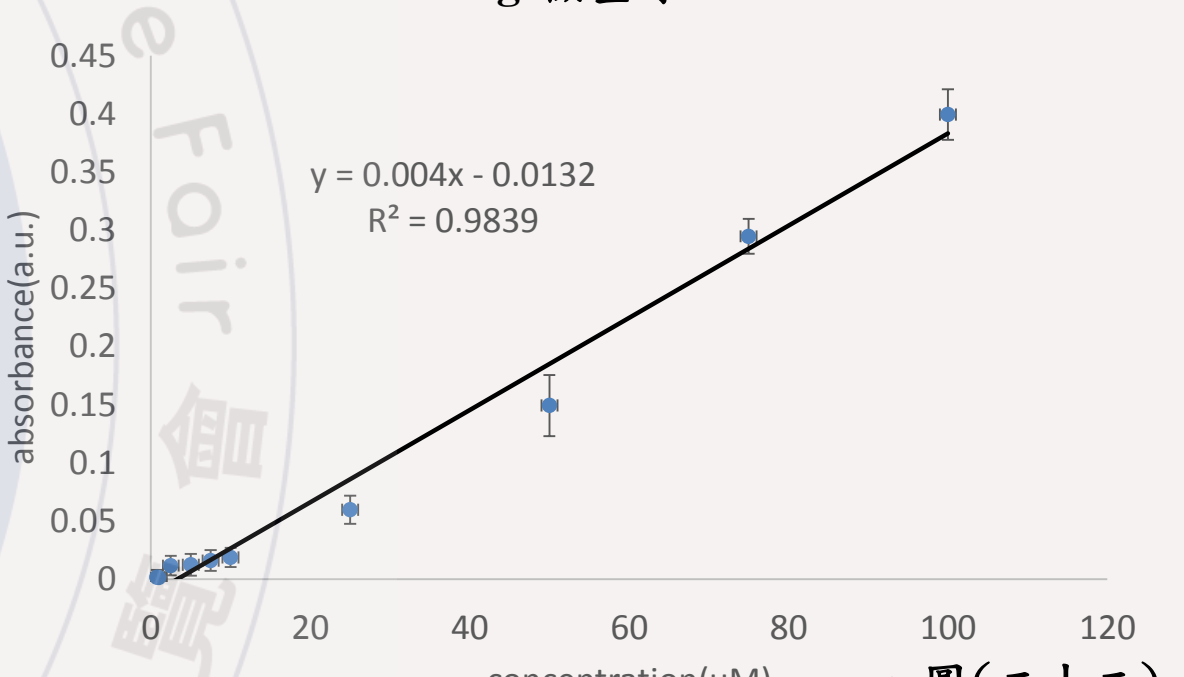
▲ 圖(二十一)

(三)、不同濃度Ag⁺與單寧酸的反應情形



▲ 圖(十九)

Ag⁺檢量線



▲ 圖(二十二)

根據環保署水質監測資訊網：
鐵離子含量超過**1.5 ppm**則為水質汙染
農業灌溉用水中鐵離子則不得超過**5 ppm**
飲用水中銀離子含量不可超過**0.05 ppm**

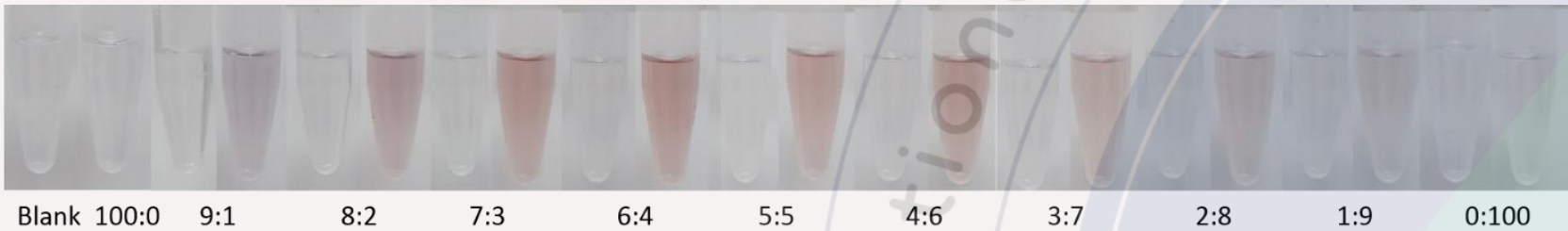
金屬離子	定量極限	偵測極限	偵測範圍
Fe ²⁺	0.75 μM	0.65 μM	100 μM ~ 0.75 μM
Au ³⁺	1 μM	0.75 μM	100 μM ~ 1 μM
Ag ⁺	0.75 μM	0.37 μM	100 μM ~ 0.75 μM

▲ 表(一) Fe²⁺、Au³⁺、Ag⁺之定量極限、偵測極限及偵測範圍

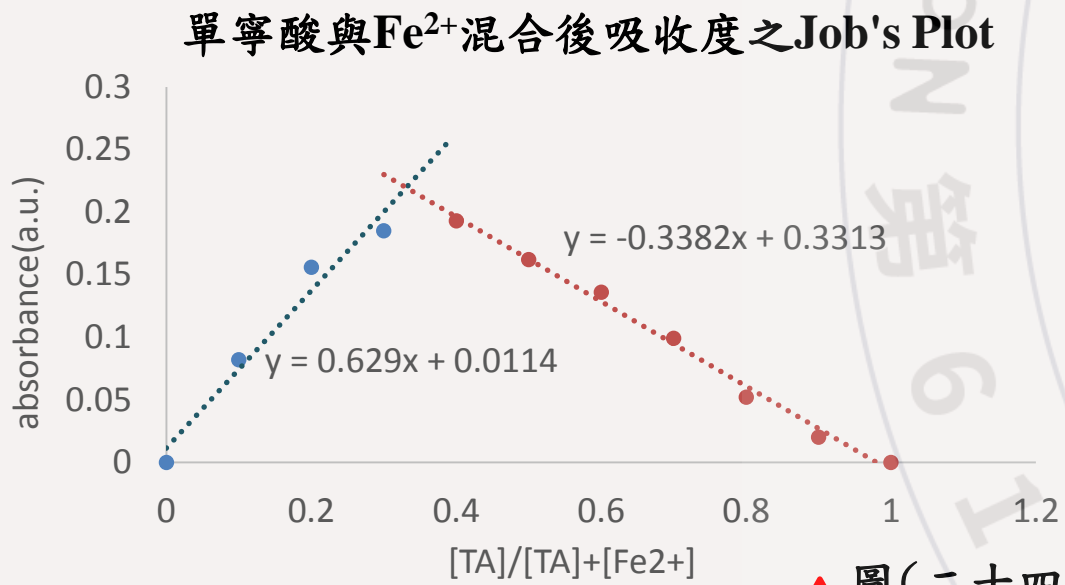
以此方法，Fe²⁺的偵測極限經換算後為**0.0364 ppm**，而Ag⁺則為**0.0399 ppm**，皆低於水質監測網的監測標準，表本方式可檢測Fe²⁺及Ag⁺之濃度是否造成水質汙染，即時把關水質。

六、探討單寧酸與亞鐵、金、銀離子配位比例

(一)、探討單寧酸與亞鐵離子的配位比例



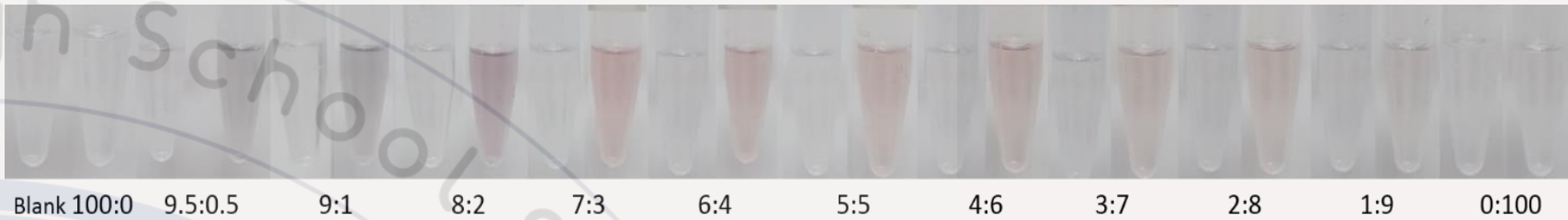
▲ 圖(二十三)



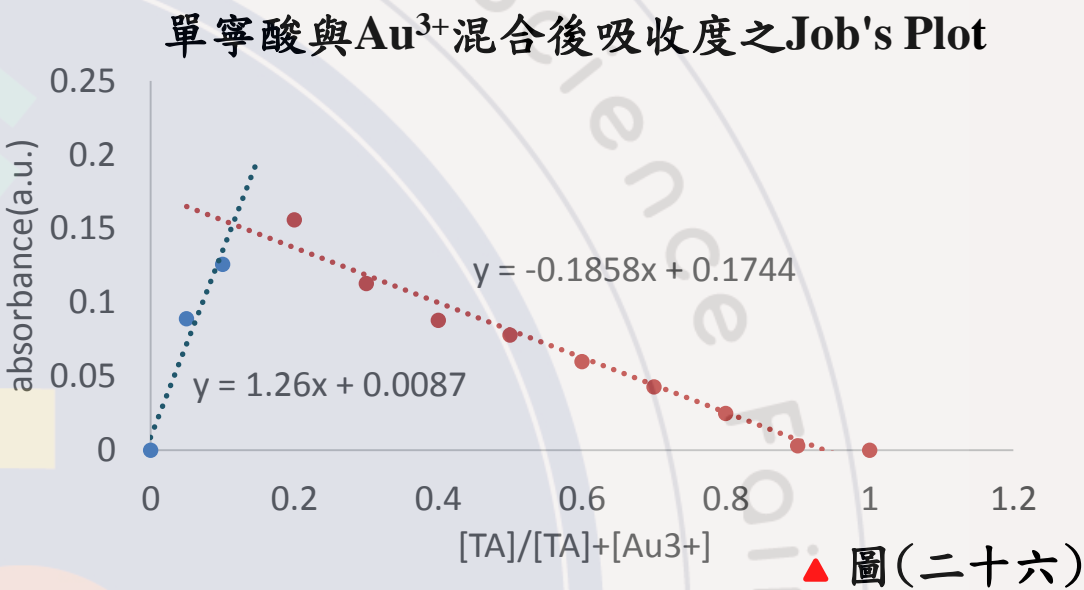
▲ 圖(二十四)

TA莫耳分率0.4處有轉折，表示TA和Fe²⁺反應時以**2:3**比例結合。

(二)、探討單寧酸與金離子的配位比例



▲ 圖(二十五)



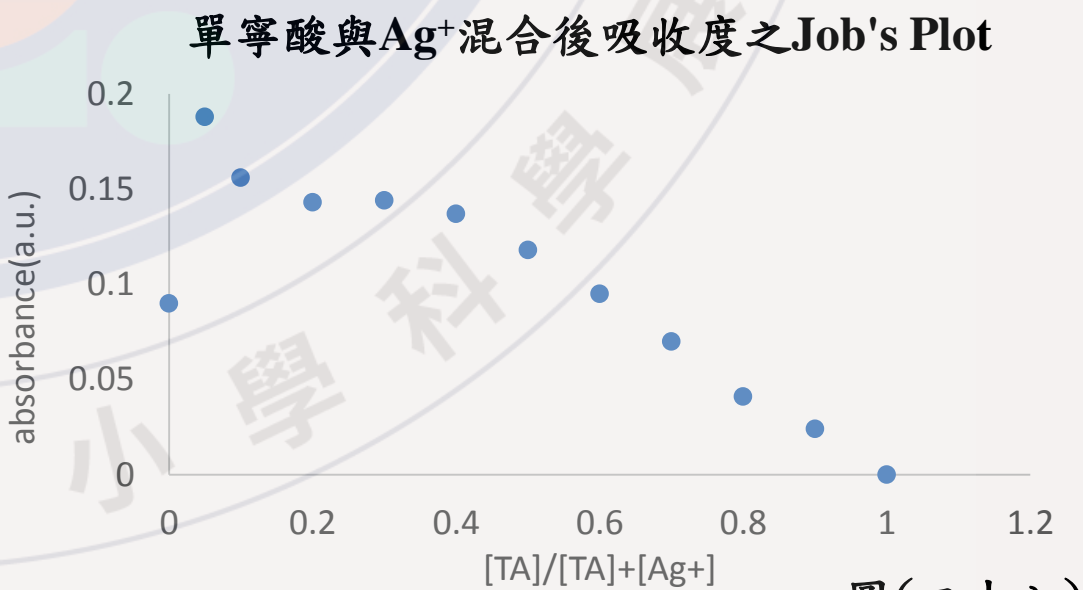
▲ 圖(二十六)

圖形在約0.2處有轉折，代表TA和Au³⁺反應時以**1:4**比例結合。

(三)、探討單寧酸與銀離子的配位比例



▲ 圖(二十七)



▲ 圖(二十八)

圖形在約0.3處有轉折，推測TA與銀離子反應約以**1:2**比例結合。

七、探討本研究開發之探針檢測水樣情形及添加回收率靈敏度

(一)、不同濃度的Fe²⁺與單寧酸於不同水樣的情形



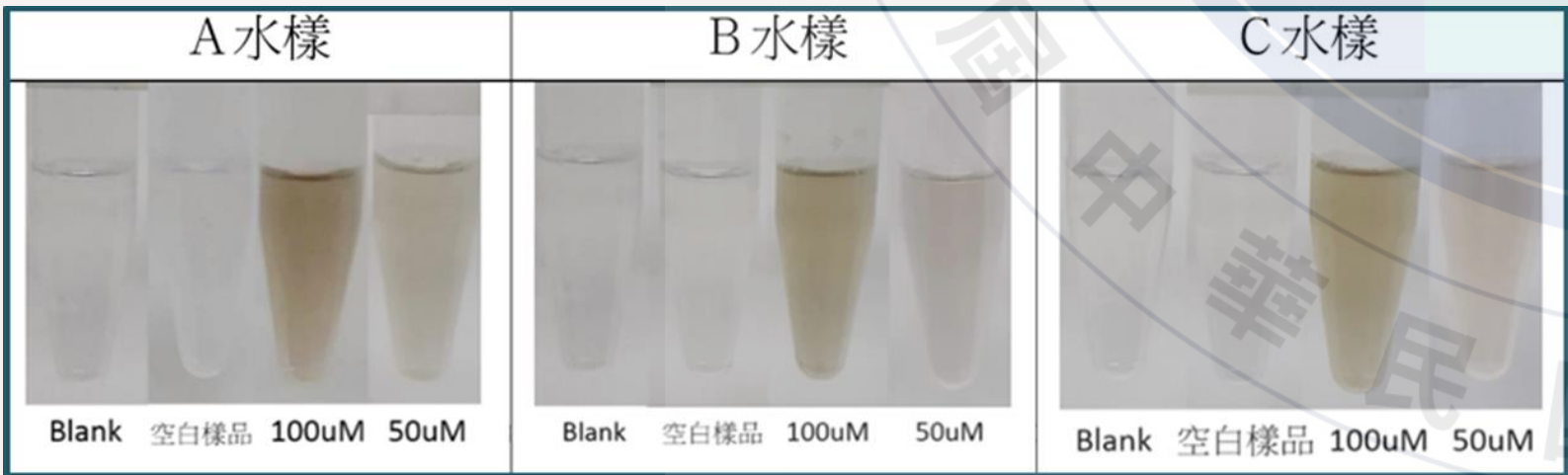
▲ 圖(二十九)

(二)、不同濃度的Au³⁺與單寧酸於不同水樣的情形



▲ 圖(三十)

(三)、不同濃度的Ag⁺與單寧酸於不同水樣的情形



▲ 圖(三十一)

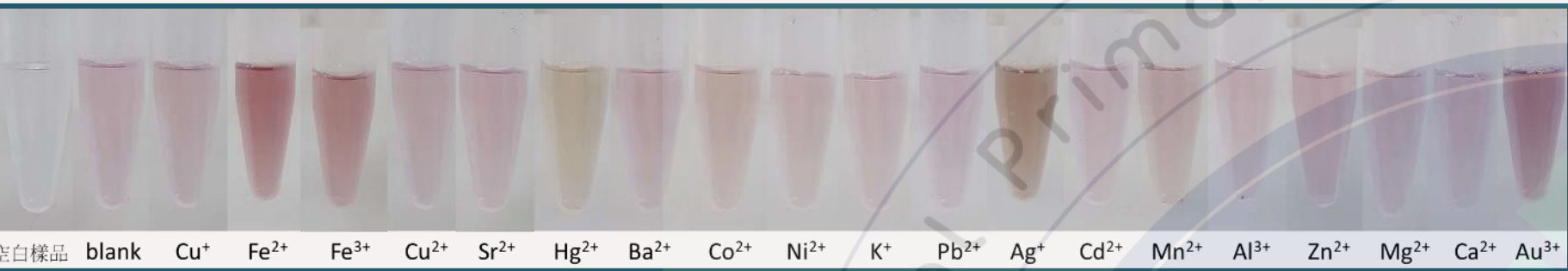
檢測物質	50μM Fe ²⁺	100μM Fe ²⁺	50μM Au ³⁺	100μM Au ³⁺	50μM Ag ⁺	100μM Ag ⁺
水樣代號						
A (溫泉水) 中回收率(%)	108.62	110.25	117.20	103.10	102.60	115.55
B (生態池水) 中回收率(%)	103.62	109.31	99.20	100.10	97.60	115.30
C (生態池水) 中回收率(%)	94.87	90.25	92.20	102.10	86.60	108.62

▲ 表(二) Fe²⁺、Au³⁺、Ag⁺於不同水樣中的添加回收率

水質檢測方法品質管制中提及添加回收率須介於80%~120%，本實驗之添加回收率介於117.2%~86.6%，表示於水樣中檢測Fe²⁺、Au³⁺、Ag⁺的添加回收率符合其規範及分析化學要求，即本方式可運用於水樣檢測。

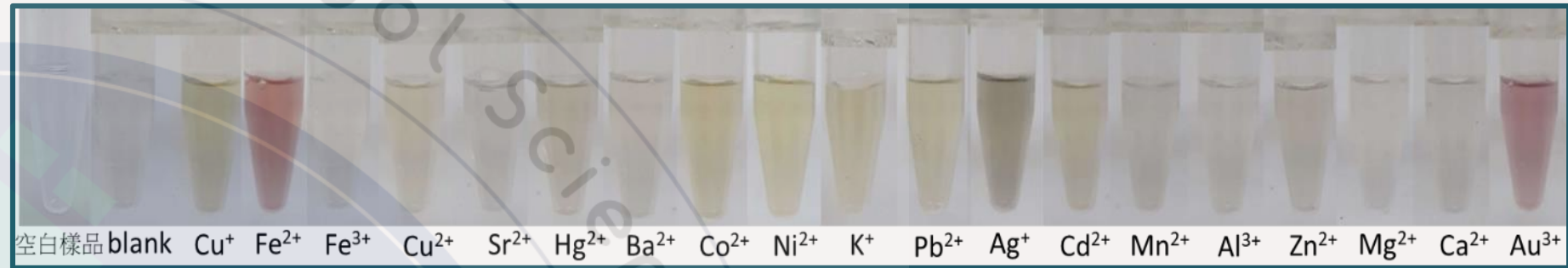
八、探討Au@TA、Ag@TA與不同金屬離子反應情形及吸收光譜

(一) Au@TA 與不同金屬離子反應十分鐘後情形

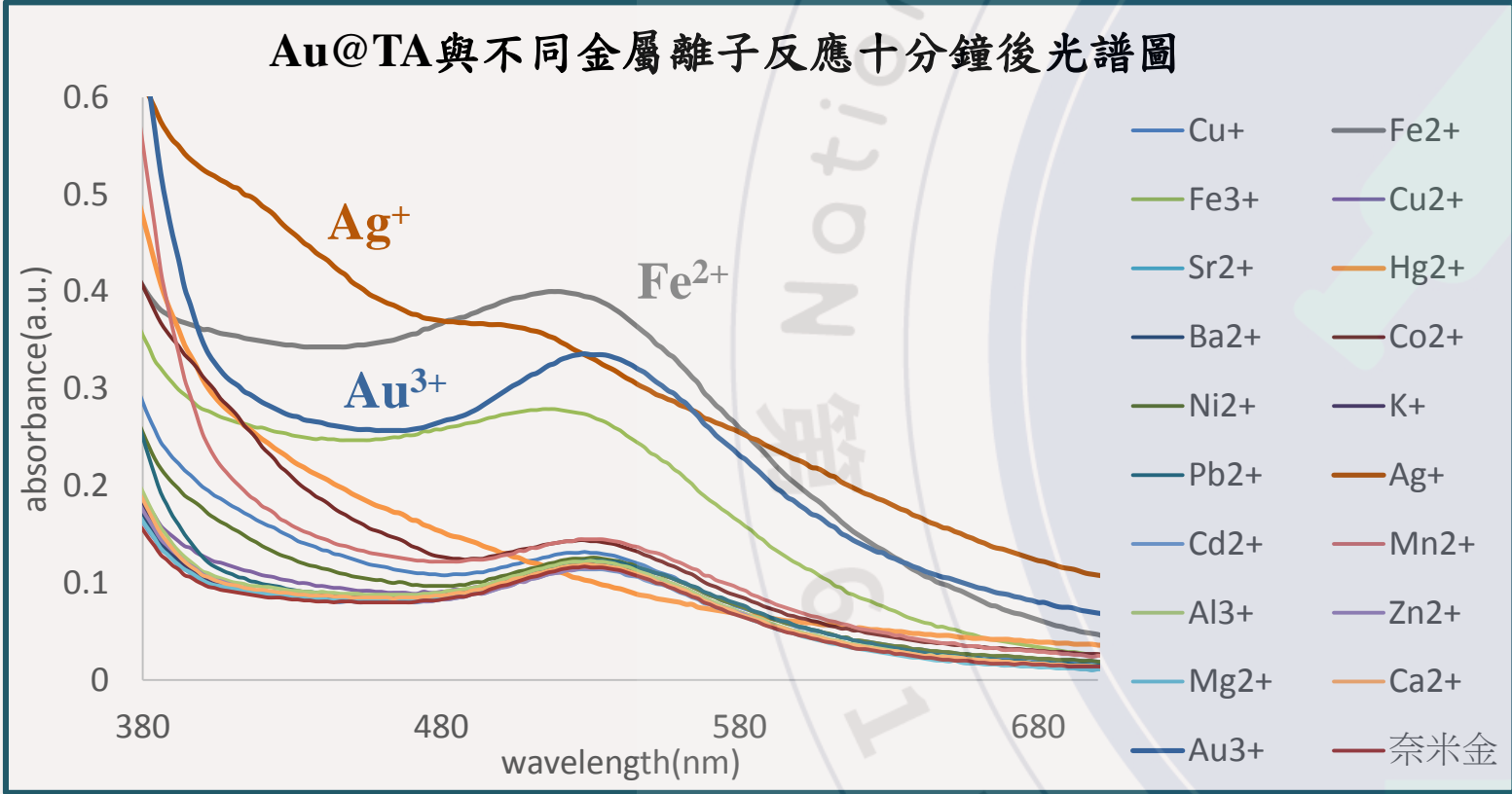


▲ 圖(三十二)

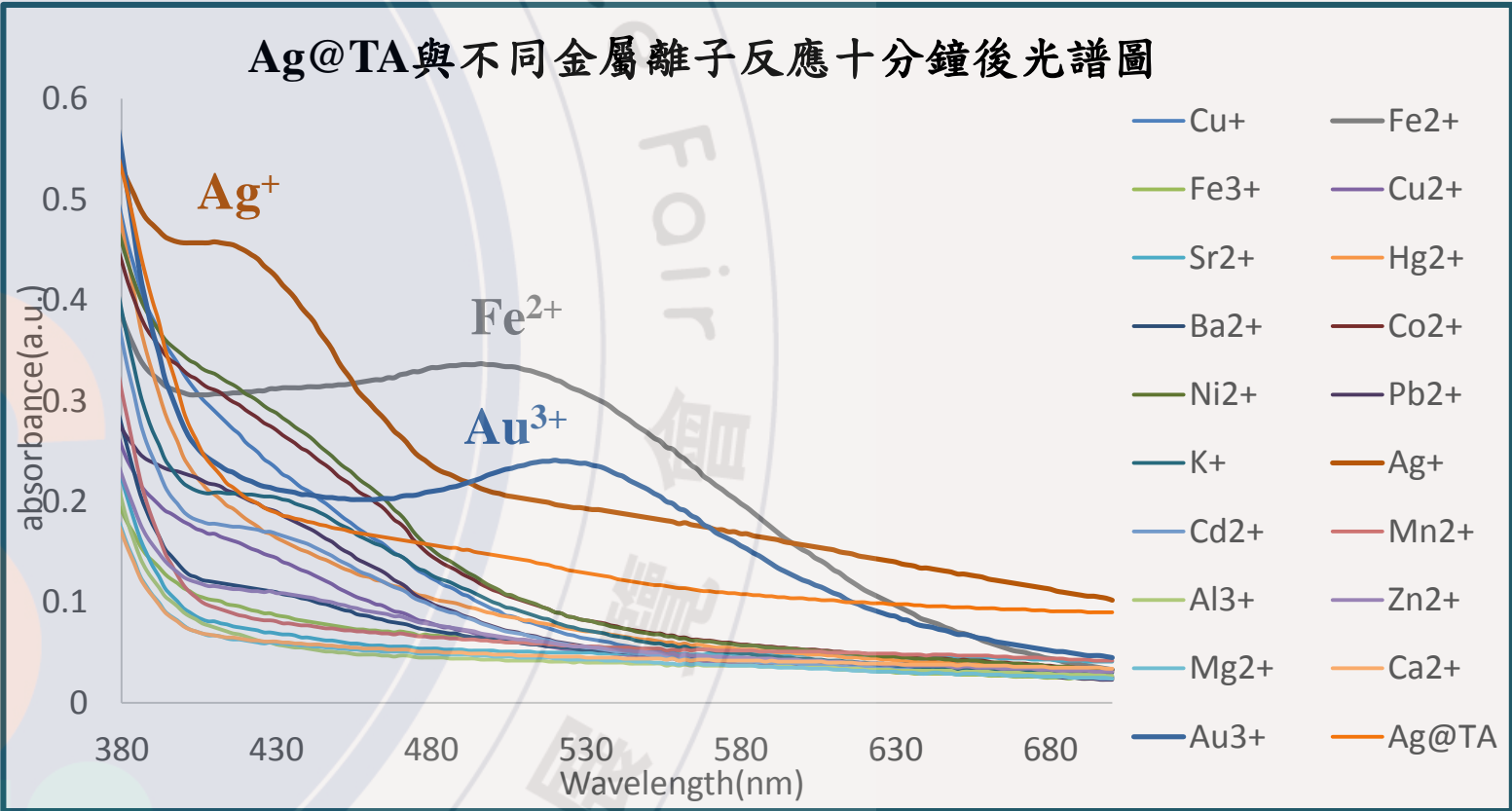
(二) Ag@TA 與不同金屬離子反應十分鐘後情形



▲ 圖(三十四)



▲ 圖(三十三)



▲ 圖(三十五)

- Au@TA與不同金屬離子的反應以 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Ag^+ 、 Au^{3+} 最明顯。從圖可知合成之Au@TA吸收峰約為532 nm， Ag^+ 在380~480 nm波段相較其他金屬最明顯， Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Au^{3+} 在波長520~540 nm亦有明顯的吸收峰。
- Hg^{2+} 的波形未有Au@TA的吸收峰，推測形成金汞齊化合物。

由圖可知 Fe^{2+} 、 Ag^+ 、 Au^{3+} 有較明顯的顏色變化， Fe^{2+} 呈淡紅色， Ag^+ 呈淡灰色， Au^{3+} 呈淡紫色。上述金屬離子的反應效果與以單寧酸進行實驗的反應效果相差不大，推測尚未找到最佳的Ag@TA製備，以致影響實驗結果。



伍、討論

- 一、鹼性環境能增加單寧酸解離與亞鐵離子螯合能力，而加熱可能影響單寧酸結構。
- 二、單寧酸與金屬構成複合體並形成配位複合物造成顏色變化。
- 三、上述內容中，討論了單寧酸與金屬離子的配位比例，但對其運作情形仍有待探討，我們將進行更多實驗及數據比對，同時也將繼續探討單寧酸與金屬離子的反應情形。

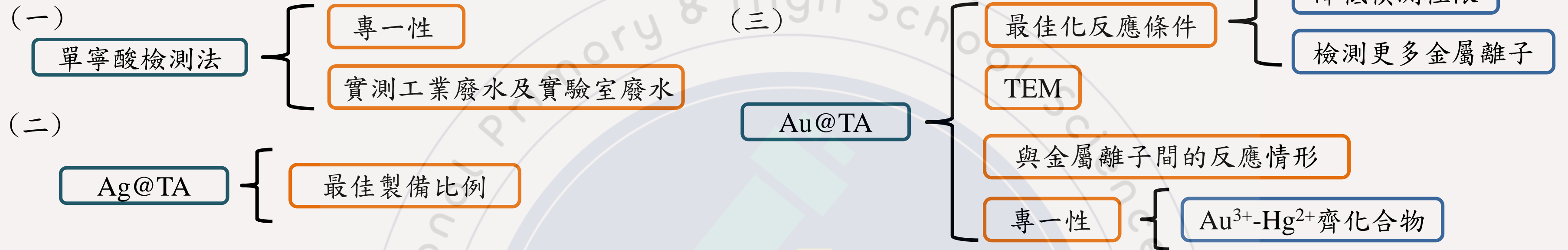


陸、結論與未來展望

一、結論

- (一)、單寧酸在不同酸鹼值下會有不同的顏色，因其分子結構改變導致顏色不同，可作為一酸鹼指示劑。
- (二)、由Job's Plot得知單寧酸與亞鐵離子約以2:3比例配位，和金約為1:4比例，與銀則為1:2之比例。
- (三)、由Au@TA與不同金屬離子反應情形發現 Au^{3+} 與 Hg^{2+} 之反應有別於其他金屬離子，未來可能可利用此特性專一檢測 Hg^{2+} 。
- (四)、從以上實驗，得知單寧酸與許多金屬離子皆會產生反應，反應情形以亞鐵離子、金離子和銀離子最明顯。以單寧酸作為化學探針可檢測到最低濃度至 $0.67\ \mu\text{M}$ 的亞鐵離子， $0.75\ \mu\text{M}$ 的金離子，和 $0.37\ \mu\text{M}$ 的銀離子，在較高濃度時，可直接以肉眼得知其濃度區間，其中鐵離子的檢測可藉由在含鐵離子溶液加入還原試劑後再進行檢測。本方法可成功檢測至環保署管制的水中銀離子濃度和鐵離子濃度，表其可初步把關環境水質，彌補傳統檢測方式中儀器取得不便且價格高昂、程序繁瑣的不足。

二、未來展望



捌、參考資料

- [1]、Aikaita, J. , Gyliena, O. , Rekertas,R. , 1999 , Precipitation of heavy metal ions with tannic acid in solutions , [Journal of Agricultural and Food Chemistry](#) , 44(2) , p 599–606
- [2]、Zhaofeng Fu , Rui Chen , 2019 , Study of Complexes of Tannic Acid with Fe(III) and Fe(II) , Hindawi [Journal of Analytical Methods in Chemistry](#) , Volume 2019 , Article ID 3894571
- [3]、Tufail Ahmad , 2014 , Reviewing the Tannic Acid Mediated Synthesis of Metal Nanoparticles , Hindawi , Volume 2014 , Article ID 954206
- [4]、Alex L.Suherman , Eden E.L.Tanner , SabineKuss , Stanislav V.Sokolov , JenniferHolter , Neil P.Young , Richard G.Compton , 2018 , Voltammetric determination of aluminium(III) at tannic acid capped-gold nanoparticle modified electrodes , ScienceDirect , 265 , p 682–690
- [5]、Chi-Wei Liu , Yi-Ting Hsieh , Chih-Ching Huang , Zong-Hong Lin , 2008 , Detection of mercury(II) based on Hg²⁺-DNA complexes inducing the aggregation of gold nanoparticles , 19(19):2242-4-DOI: 10.1039/b719856f
- [6]、曾賢德。2010。金奈米粒子的表面電漿共振特性：耦合、應用與樣品製作。物理雙月刊。32 卷 2 期。P 126–135。
- [7]、林育任、謝君鈺，2019，以自組儀器探討單寧酸與鐵及鉛離子之作用並開發為檢測方法之研究，台灣 2010 年 國際科展環境工程科，國立臺灣科學教育館