

中華民國第 65 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高級中等學校組 環境學科

佳作

052607

綠意重構：葉綠素鐵對降解亞甲藍的友好新策略

學校名稱：臺中市立臺中第二高級中等學校

作者： 高二 林崢軒 高二 曾簡慶恩 高二 施柏緯	指導老師： 游曼彤
--	------------------

關鍵詞：FeIII-TAML、葉綠素鐵、有機染料

摘要

現今有機污染物遍布，在處理有機物的文獻中， Fe^{III} -TAML 催化劑配製不易且 Fenton 反應需在酸性環境下才有較佳的效果。有鑒於此，本研究以葉綠素鐵（將葉綠素 a 中心的鎂離子取代為鐵離子）取代 Fe^{III} -TAML 作為催化劑，探討是否能與之有相近的降解效果。本研究探討葉綠素 a 在不同環境下的穩定性，並評估葉綠素鐵對降解亞甲藍的影響。結果顯示，葉綠素 a 在暗室中較易保存。50ppm 亞甲藍液 3mL 在反應條件為 1000ppm 雙氧水 3mL、pH=10.3 緩衝溶液 8mL 中，加入葉綠素鐵 1mL，9 小時後，去除率高達 96.6%。本研究證實葉綠素鐵作為降解有機染料之催化劑的可行性，並提供處理鹼性廢水的新策略。

壹、前言

一、研究動機

某次生物實驗課時，我們使用亞甲藍液染色細胞核以利於觀測，然而使用後卻發現存放亞甲藍液的燒杯清洗不易，這使我們反思有什麼方法能使染料顏色變淡？於是我們好奇的查閱了有關染料降解的方法，意外找到 Fenton 反應與 TAML（四醯胺基大環配體）的相關文獻，進而聯想到之前生物講座上提到的葉綠素結構與 TAML 相似，經過仔細回想和查證，我們猜測葉綠素具有潛力作為天然的催化劑。基於這個猜想，我們想利用葉綠素與 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 結合進行有機染料的降解，希望能得到降解染料的創新方法。這不僅可能解決實驗室中染料清理的實際問題，更重要的是，若研究成功，將為染料降解提供一個更環保、更永續的解決方案。

二、研究目的

（一）催化劑的製備（葉綠素亞鐵/葉綠素鐵）

1. 探討改變 pH 值、溫度及照光與否對萃取後的葉綠素保存之影響。
2. 合成葉綠素亞鐵/葉綠素鐵（將葉綠素 a 中心離子置換成 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ）。

（二）染料的選擇

1. 找出葉綠素亞鐵/葉綠素鐵及不同染料在可見光區吸收光譜之特徵峰。
2. 亞甲藍於鹼性環境下是否會自行分解。

(三) 進行染料降解

1. 葉綠素亞鐵與葉綠素鐵對亞甲藍的去除率及降解效果比較。
2. 探討葉綠素鐵在不同 pH 值環境下對亞甲藍的去除率及降解效果。
3. 探討葉綠素鐵、葉綠素+鐵離子、鐵離子與葉綠素 a對亞甲藍的去除率及降解效果。
4. 探討葉綠素鐵在不同 H₂O₂ 比例下對亞甲藍的去除率及降解效果。

三、文獻回顧

(一) 染料 (Dye)：

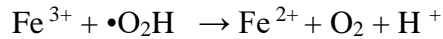
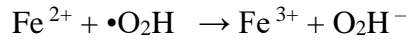
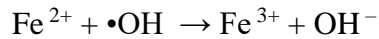
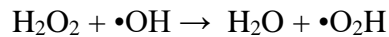
染料是日常生活不可或缺的一個角色，它常應用於美術創作、紡織產業及印刷工程，為了提高染料的著色能力或穩定性，大多經過洗滌、漂白等處理，產生的染料廢水為高色度、高化學需氧量 (Chemical oxygen demand, COD) 且造成嚴重的水污染問題，根據「楊萬發. 台灣地區水污染防治現況」，紡織、染整及人纖工業排放的廢水約佔工業廢水污染總量的 15.49 %，是水污染的主要來源之一。

(二) 染料污水的處理方法：

1. 物理處理法：例如活性碳吸附法，能有效去除污染物，但其設備成本高，且回收處理也需要高成本。這種方法較適用於需要高效去除特定污染物的情況。
2. 微生物處理法：此方法成本較低，但處理時間較長且效率較差。大多數染料的毒性會抑制微生物的呼吸，影響其活性，導致微生物分解染料的效率下降。因此，微生物處理法較適用於污染物濃度較低且毒性較小的廢水處理。
3. 化學處理法：為了改善放流水的水質，化學氧化法必須考慮增設高級處理程序，如臭氧反應、UV/TiO₂ 法和 Fenton 反應等，以降低放流水中的色度和化學需氧量 (COD)。其中，Fenton 淨水法是一種有效的化學處理技術，利用亞鐵離子和過氧化氫生成高氧化性的氫氧自由基，能夠有效分解染料分子，降低廢水的色度和 COD 值。

(三) Fenton 淨水法：

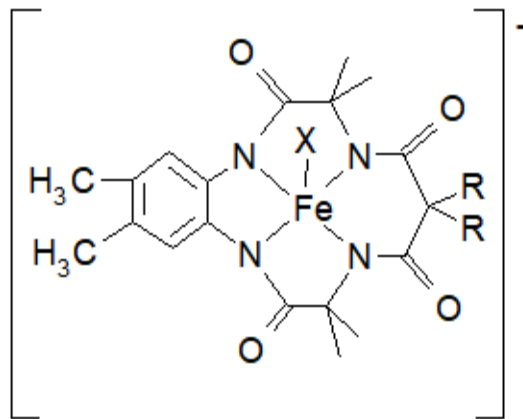
1. Fenton 淨水法是一種化學淨水技術，Fenton 試劑在氧化過程中主要反應物為亞鐵離子及雙氧水，過程中產生的氫氧自由基會依強氧化劑的特性去破壞污染物結構，其反應機制可能為：



此外，根據 gallard et al. 之研究， Fe^{3+} 可以與過氧化氫形成三價鐵錯合物，再還原成 Fe^{2+} 以進行 Fenton 反應，故我們將亞鐵離子與鐵離子皆納入實驗設計中。

2. 傳統 Fenton 法的最佳條件與限制，由「嘉義市第 38 屆中小學科學展覽會—Fenton 反應之變因探討及廢水處理~以嘉義市下水道水樣為例」文獻得知，去除有機廢水時，在 pH 值=4 之條件下，其去除率可達 63.8%，然而 pH 值=6.6 去除率只有 40.8%，故傳統 Fenton 反應需在酸性下，去除染料才有較佳的效果。

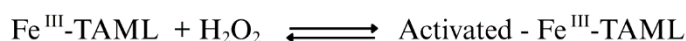
(四) 鐵-四醯胺基大環配體催化劑 (Fe^{III} -TAML)



(圖一) 原型 Fe^{III} -TAML 催化劑 (此由第一作者參考文獻一繪製)

鐵-四醯胺基大環配體(Fe^{III} -TAML)是由卡內基梅隆大學 Collins 研究團隊開發合成的創新環境淨化催化技術。該催化系統通過氧化自由基機制，有效處理複雜污染物，在水處理領域具有顯著優勢。與傳統 Fenton 反應相比， Fe^{III} -TAML 催化劑能在中性至鹼性 pH 環境(pH 7-10)下高效運作，且低濃度催化劑即可實現污染物降解，應用範圍包括環境賀爾蒙、工業廢水中的染料等。研究顯示，該催化技術已發展 7 代，在污水處理、環境修復等領域潛力巨大。未來有望成為更環保、高效的水污染治理技術。

在之前的研究中， Fe^{III} -TAML 催化劑分解污染物的機制已經被研究清楚，並可以描述成：



圖(二) 由第一作者參考文獻一繪製

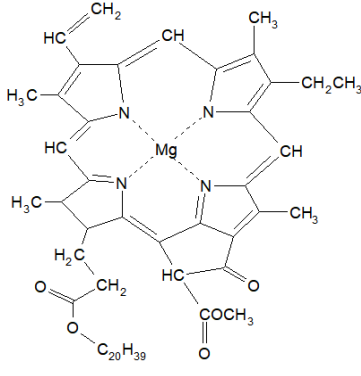
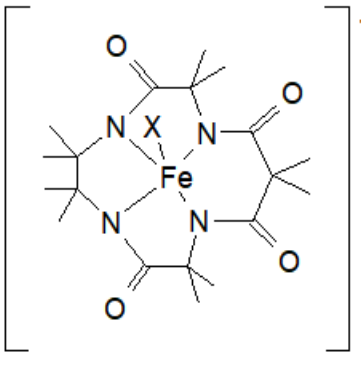
(五) 葉綠素 a

葉綠素主要由葉綠素 a 和葉綠素 b 組成，兩者在陸生植物中的比例約為 3：1。由於葉綠素 a 普遍存在於各類植物中，因此本研究將以葉綠素 a 作為主要探討對象，暫時忽略葉綠素 b 的影響。因菠菜中葉綠素 a 含量大約為 3%，相較其他蔬菜含量較高，故本實驗採用菠菜取得葉綠素 a。由文獻可知，葉綠素 a 的可見光吸收光譜在波長=664nm 會有特徵峰。另根據「屏東縣第 64 屆國中小學科學展覽會 - 哇!脫鎂!—使用金屬離子置換葉綠素 a 與螢光反應之探討」可知在酸性環境下，葉綠素 a 的中心 Mg^{2+} 被去除，導致顏色變為黃褐色，且脫鎂葉綠素 a 在紫外光（波長 =365nm）照射下不會產生紅色螢光反應，在脫鎂葉綠素 a 中加入其他金屬離子，可進行葉綠素 a 中心金屬置換。

(六) 葉綠素 a 和 $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TAML}$ 催化劑(第六代) 的結構以及我們的實驗設計構想

由表(一)比較，我們的構想是因卡內基梅隆大學 Collins 研究團隊的 $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TAML}$ 催化劑(第六代)和葉綠素 a 有相似的結構，我們想利用較簡單的合成步驟將葉綠素 a 的中心金屬替換成 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ，形成類 $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TAML}$ 催化劑(第六代)，探討是否能和 $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TAML}$ 催化劑達到相近的染料降解效果，並解決 $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TAML}$ 催化劑藥品取得不易且製作過程繁雜以及傳統 Fenton 法需在酸性環境下才能有較佳去除率的弊端。













表(一)、 $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TAML}$ 催化劑(第六代)與葉綠素 a 的比較

比較項目	葉綠素 a	$\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TAML}$ 催化劑(第六代)
結構式		
中心金屬離子	Mg^{2+}	Fe^{3+}

註：左圖參考文獻二、右圖參考文獻一 皆由第一作者繪製

貳、研究器材及藥品

一、器材

微量吸管	UV365 紫外光	電子秤	滴管	離心機	冰沙機
					
篩網	紫外線燈	分光光度計	比色管	pH 計	鋁箔紙
					

表(二) 研究過程自行拍攝

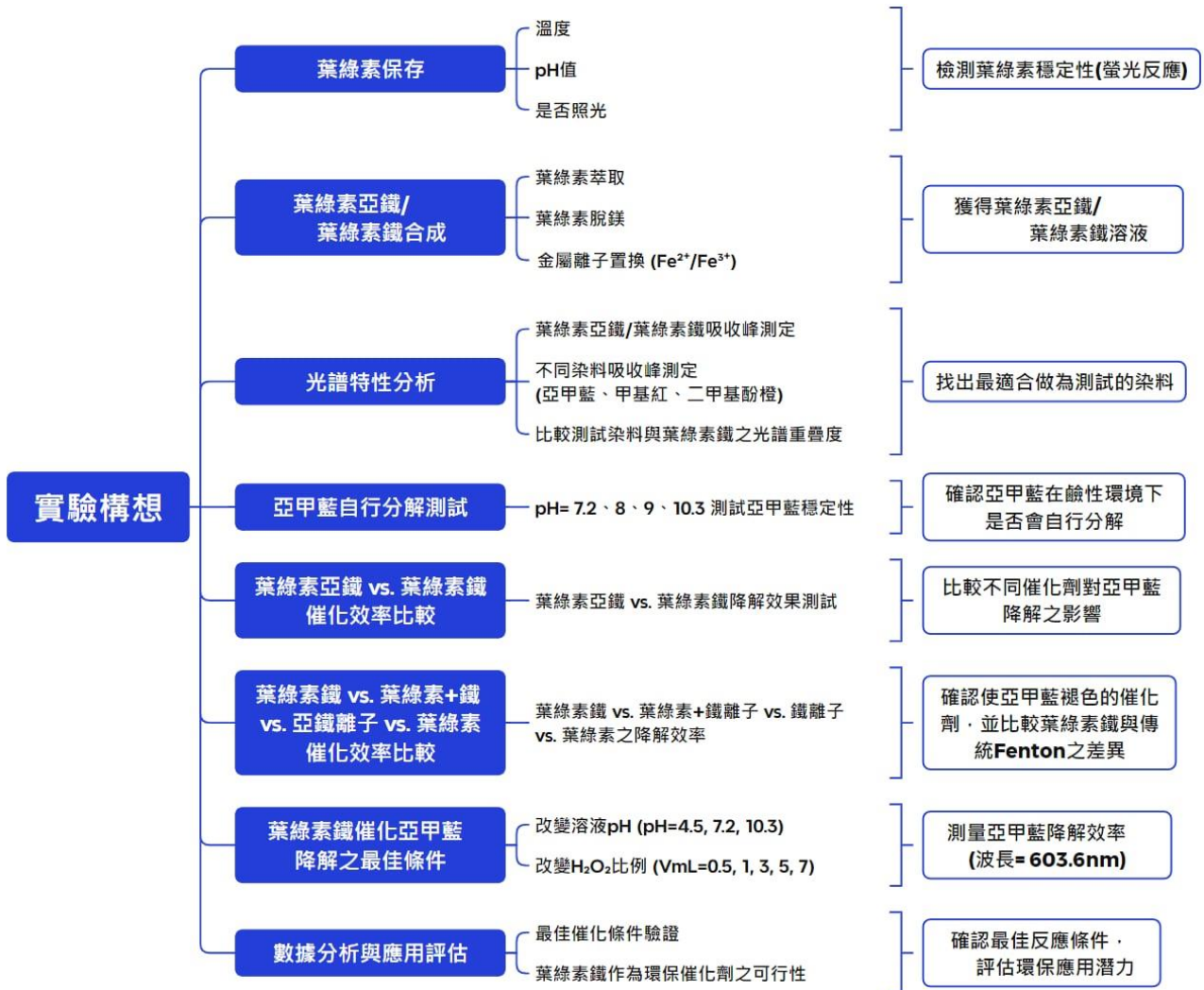
二、藥品

亞甲藍	甲基紅	二甲基酚橙	氫氧化鈉	乙醇	碳酸氫鈉
					
硫酸	氯化鐵	硫酸亞鐵	磷酸二氫鉀	菠菜	
					

表(三) 研究過程自行拍攝

參、研究過程與方法

一、實驗流程圖



圖(三) 此由第三作者自行整理繪製

二、研究步驟

(一) 探討改變 pH 值、溫度及照光與否對萃取後的葉綠素保存之影響

1. 實驗構想：我們想知道葉綠素是否會因 pH 值、溫度及照光而失去活性，並找出存放葉綠素的方法。根據「屏東縣第 64 屆國中小學科學展覽會 - 哇!脫鎂!—使用金屬離子置換葉綠素 a 與螢光反應之探討」可知，紫外光照射葉綠素後會產生紅色螢光，於是我們將不同條件下的葉綠素，照射紫外光，並以肉眼觀察。
2. 定義：將紫外光照射後顏色區分為兩種情況。
 - (1)有螢光反應：存在葉綠素 a。
 - (2)無螢光反應：不存在葉綠素 a。
3. 實驗步驟：
 - (1) 將 10g 菠菜葉子放置於冰沙機並加入 100mL 95% 乙醇 (選用菠菜是因為葉綠素含量較多，而乙醇可以更好的提取葉綠素)，冰沙機(強度：弱)啟動 30 秒。
 - (2) 將上述步驟含葉綠素的液體以篩網進行初步過濾，再將濾液置於離心機 (轉速：3000) 中，離心 30 秒。
 - (3) 將上述離心後之葉綠素溶液以 pH 計檢測後(pH=6.9)，取出 50mL，以逐滴加入的方式滴入 0.01M 之硫酸數滴，調整溶液的 pH 值至 4.5。
 - (4) 分別取 pH=6.9 的溶液及 pH=4.5 的溶液各 5mL 置於樣本瓶中。
 - (5) 比較在以下條件下放置一週後溶液的螢光反應。
 - ① pH=6.9 / pH=4.5
 - ② 室溫 / 冰箱冷藏
 - ③ 有包覆鋁箔紙 / 無包覆鋁箔紙

(二) 合成葉綠素亞鐵/葉綠素鐵 (將葉綠素 a 中心離子置換成 Fe^{2+} / Fe^{3+})

1. 原液配製：為了讓後續實驗及測量值較為準確，我們先配製了葉綠素 a 與乙醇的混合液(以下簡稱原液)。
 - (1) 將 30g 菠菜葉子放置於冰沙機並加入 300mL 95%乙醇，冰沙機(強度：弱)啟動 30 秒。
 - (2) 將上述步驟含葉綠素的液體以篩網進行初步過濾，再將濾液置於離心機 (轉速：3000) 中，離心 30 秒。
 - (3) 將離心過後的溶液置於已清洗過的棕色藥瓶中。

2. 葉綠素脫鎂：

- (1) 取 200mL 原液以逐滴加入的方式滴入 0.01M 之硫酸數滴，調整溶液的 pH 值至 4.5，進行葉綠素脫鎂。
- (2) 由 2023 年屏東國中小科展葉綠素中心金屬取代顯示，靜置一週，以紫外光照射確認是否有螢光反應，若無螢光反應表示 Mg^{2+} 已脫去。但由「2014 年科展葉綠素萃取與銅的取代」顯示，當溶液中含有 H_2O 時，橘色螢光也會消失。故我們改採用分光光度計檢測可見光吸收光譜，利用波長特徵峰來判斷葉綠素 a 是否有改變。

3. 配製葉綠素亞鐵與葉綠素鐵：

- (1) 依照表(四)將金屬離子與原液依照體積比=1:15 (單位:mL)放入樣本瓶中，搖晃 3 秒。
- (2) 將溶液置於冰箱中保存。

表(四)、葉綠素 a 加金屬離子之溶液配製

	原液 (15mL)	Fe^{2+}/Fe^{3+} (1mL)
葉綠素亞鐵 (酸化)	pH=4.5 的葉綠素 a	0.01M $FeSO_4$ (aq)
葉綠素鐵 (酸化)	pH=4.5 的葉綠素 a	0.01M $FeCl_3$ (aq)
葉綠素亞鐵 (未酸化)	pH=6.9 的葉綠素 a	0.01M $FeSO_4$ (aq)
葉綠素鐵 (未酸化)	pH=6.9 的葉綠素 a	0.01M $FeCl_3$ (aq)

註：pH=4.5 的葉綠素 a (葉綠素 a 原液 + H_2SO_4 調整至 pH=4.5)

pH=6.9 的葉綠素 a (葉綠素 a 原液)

(三) 找出葉綠素亞鐵/葉綠素鐵及不同染料在可見光吸收光譜之特徵峰

1. 實驗構想：使用分光光度計測量葉綠素亞鐵/葉綠素鐵與各種染料在不同波長下的吸收值，以觀察其光譜特徵。
2. 透過比較葉綠素亞鐵/葉綠素鐵與染料的吸收光譜，分析其吸收值的重疊比例，進一步判斷哪些染料受葉綠素吸收測定的干擾最小。
3. 染料之配製比例如下：
 - (1) 50 ppm 亞甲藍液
 - (2) 0.0001M 甲基紅
 - (3) 0.0001M 二甲基酚橙 (註)

註：因在以分光光度計檢測後，發現 0.0001M 之二甲基酚橙溶液吸收度數值超過偵測範圍，故利用滴管以 3 滴蒸餾水：51 滴 0.0001M 二甲基酚橙來稀釋 0.0001M 二甲基酚橙，使體積達到比色管三分之二的容量，進行檢測。

4. 因二甲基酚橙、亞甲藍、甲基紅都符合染料的特徵峰與葉綠素亞鐵/鐵吸收峰重疊度小的條件，但二甲基酚橙會和金屬離子螯合，為了確認二甲基酚橙與金屬離子螯合後，是否會改變其特徵峰的波長，故做了二甲基酚橙加入金屬離子(Fe^{2+})與否之光譜圖比較。

(四) 亞甲藍於鹼性環境下是否會自行分解

1. 實驗構想：於「2014 年第 54 屆國中科展-彙而不費」中提到，亞甲藍液在 $\text{pH}=4\sim 9$ 時結構穩定，吸收度受 pH 值影響不大，而 $\text{pH}=9$ 以上，並無實驗數據，故我們設計了 $\text{pH}=7.2$ 、 $\text{pH}=8$ 、 $\text{pH}=9$ 、 $\text{pH}=10.3$ 的水溶液，重新確認亞甲藍在 $\text{pH}=10.3$ 是否會分解。
2. 實驗流程：
 - (1) 將蒸餾水滴入 0.01M NaOH 分別配製出 $\text{pH}=8$ 、 9 的水溶液。
 - (2) 配製 $\text{pH}=7.2$ 緩衝溶液：取 2.72 克的磷酸二氫鈉，溶於 500mL 蒸餾水中，再以 1M 氫氧化鈉溶液調整成 $\text{pH}=7.2$ ，並加蒸餾水使總體積為 1000mL ，形成 $0.01\text{M KH}_2\text{PO}_4 + 0.01\text{M NaKHPO}_4$ 。
 - (3) 配製 $\text{pH}=10.3$ 緩衝溶液：取 1.68 克的碳酸氫鈉，溶於 500mL 蒸餾水中，再以 1M 氫氧化鈉溶液調整成 $\text{pH}=10.3$ ，並加蒸餾水使總體積為 1000mL ，形成 $0.01\text{M NaHCO}_3 + 0.01\text{M Na}_2\text{CO}_3$ 。
 - (4) 分別將配製出的水溶液或緩衝溶液($\text{pH}=7.2$ 、 $\text{pH}=8$ 、 $\text{pH}=9$ 、 $\text{pH}=10.3$)加入亞甲藍液中以調整 pH 值，如表(六)。
 - (5) 將所有溶液分裝至樣本瓶，分別以分光光度計檢測 5 分鐘後，波長 = 603.6 nm 的吸收度。

(五) 葉綠素亞鐵與葉綠素鐵對亞甲藍的去除率及降解效果比較

1. 實驗構想：比較中心離子為 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 何者效率更佳，較佳者用來做後續實驗。
2. 實驗步驟：
 - (1) 依據研究結果與討論的表(七)，依順序將緩衝溶液 $\rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow$ 亞甲藍液 \rightarrow 葉綠素亞鐵/鐵 加入樣本瓶中。
 - (2) 每瓶搖晃 3 秒後，於桌面靜置 5 分鐘。
 - (3) 將所有樣本瓶分別以分光光度計檢測，在波長 = 603.6 nm 的吸收度。
 - (4) 將去除效率較佳的組別，時間改為 9 小時，分別以分光光度計檢測，在波長 = 603.6 nm 的吸收度。

(六) 探討葉綠素鐵在不同 pH 值環境下對亞甲藍的去除率及降解效果

1. 實驗構想：找出最適合葉綠素鐵進行染料降解反應的酸鹼環境。
2. 實驗步驟：(硫酸有使用到微量吸管吸取，其餘皆使用分度吸量管吸取)
 - (1) 依據研究結果與討論的表(八)，依順序將
緩衝溶液 → H_2O_2 → 亞甲藍液 → 葉綠素鐵 加入樣本瓶中。
 - (2) 每瓶搖晃 3 秒後，於桌面靜置 5 分鐘。
 - (3) 將所有樣本瓶分別以分光光度計檢測，在波長 = 603.6 nm 的吸收度。

(七) 探討葉綠素鐵、葉綠素+鐵、鐵離子與葉綠素 a 對亞甲藍的去除率及降解效果

1. 實驗構想：確認使亞甲藍褪色的催化劑是葉綠素鐵還是殘留於溶液中未接在葉綠素上的鐵離子或葉綠素 a，並比較與傳統 Fenton 反應加入 Fe^{3+} 的差異。
2. 實驗步驟：
 - (1) 依據研究結果與討論的表(九)，依順序將
緩衝溶液 → H_2O_2 → 亞甲藍液 → 催化劑 加入樣本瓶中。
 - (2) 每瓶搖晃 3 秒後，於桌面靜置 5 分鐘。
 - (3) 將所有樣本瓶分別以分光光度計檢測，在波長 = 603.6 nm 的吸收度。

(八) 探討葉綠素鐵在不同 H_2O_2 比例下對亞甲藍的去除率及降解效果

1. 實驗構想：我們猜測 H_2O_2 的劑量並非加越多越好，而是存在一個最佳條件，故我們觀察在不同 H_2O_2 比例下，葉綠素鐵對亞甲藍的降解效果，並找出加入過氧化氫的最佳體積。
2. 實驗步驟：
 - (1) 依據研究結果與討論的表(十)，依順序將
緩衝溶液 → H_2O_2 → 亞甲藍液 → 葉綠素鐵 加入樣本瓶中。
 - (2) 每瓶搖晃 3 秒後，於桌面靜置 5 分鐘。
 - (3) 將所有樣本瓶分別以分光光度計檢測，在波長 = 603.6 nm 的吸收度。

(九) 數據分析





1. 染料去除率(%) =
$$\frac{\text{對照組之吸收值} - \text{實驗組之吸收值}}{\text{對照組之吸收值}}$$
2. 比較各樣品之去除率(%)

肆、研究結果與討論

一、探討改變 pH 值、溫度及照光與否對萃取後的葉綠素保存之影響

表(五)、pH 值、溫度、照光與否 對萃取後葉綠素 a 之螢光反應

編號	1	2	3	4	5
pH 值	pH=6.9(未加酸)	pH=6.9(未加酸)	pH=4.5	pH=4.5	pH=4.5
溫度	室溫	室溫	室溫	室溫	冷藏
鋁箔紙	有	無	有	無	有
實際結果 (螢光反應)	有(紅)	無	有(粉)	有(紅)	有(粉)
推測 (葉綠素狀態)	葉綠素 a 未變質	葉綠素 a 變質	部分已脫鎂	幾乎未脫鎂	部分已脫鎂

 <p>左: 組別 1(有鋁箔) 右: 組別 2(無鋁箔) 圖(四)</p>	 <p>左: 組別 3(有鋁箔) 右: 組別 4(無鋁箔) 圖(五)</p>	 <p>左: 組別 4(無鋁箔) 右: 組別 5(冷藏) 圖(六)</p>	 <p>左: 組別 3(有鋁箔) 右: 組別 5(冷藏) 圖(七)</p>
---	---	---	--

註 1：組別 4 和組別 1 在未照射紫外光前，肉眼可觀察出其顏色有明顯差距，照射紫外光時，兩者的螢光反應在肉眼觀察下相同，皆呈紅色；冷藏環境中為暗室。

註 2：圖(四)～圖(七) 研究過程自行拍攝

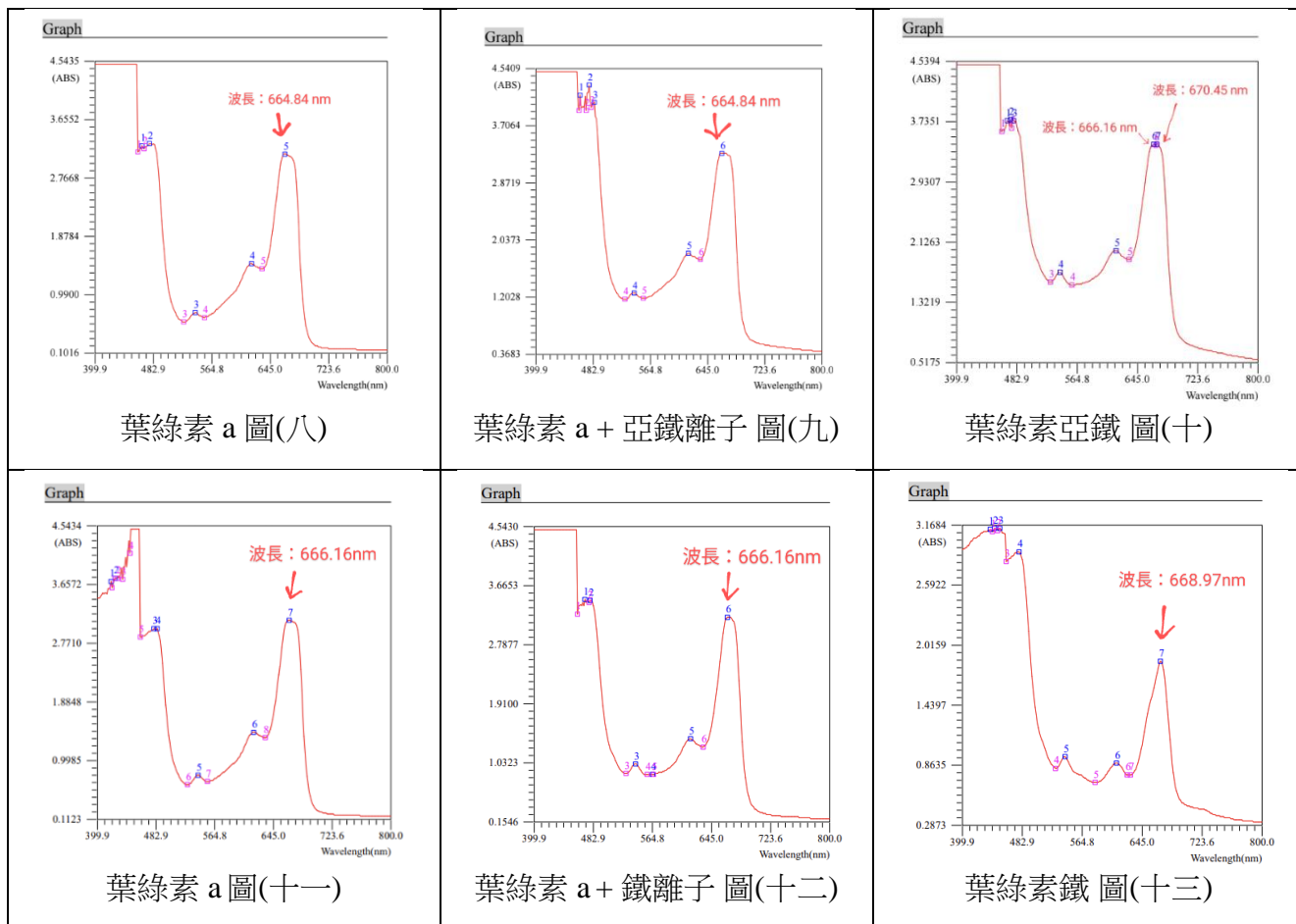
討論：

(一) 根據表(五)，由組別 1、組別 2 可知，在 pH= 6.9 (未加酸)條件下，葉綠素 a 在無照光(以鋁箔紙包覆)的情況下可保持穩定，且螢光反應(紅)明顯，相反，當暴露於陽光下(無鋁箔紙包覆)時，葉綠素 a 發生變質，以致螢光反應完全消失，顯示照光是影響葉綠素穩定性的關鍵因素。

(二) 由組別 3、組別 4 可知，當 pH 值降至 4.5 時，在室溫、照光(無鋁箔紙包覆)的條件下，因螢光反應呈紅色如(圖五-右)，可推知葉綠素 a 幾乎未脫去鎂離子。然而，在相同 pH 值條件下改為低溫或不照光(無鋁箔紙包覆)時，因螢光反應呈粉色如(圖七)，故可推知葉綠素 a 已完成部分脫鎂 (尚有螢光反應代表仍含有中心為 Mg^{2+} 的葉綠素 a)，顯示不照光(室溫或低溫)可促進葉綠素 a 的脫鎂反應。

(三) 根據實驗結果，後續的葉綠素 a 保存方式為冷藏及不照光。

二、合成葉綠素亞鐵/葉綠素鐵 (將葉綠素 a 中心離子置換成 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$)



註1: 圖(九)和圖(十二)為葉綠素 a 加金屬離子混和 5 分鐘後，測得之吸收光譜圖。

註2: 圖(十)和圖(十三)為葉綠素 a 加金屬離子後，置於冰箱保存兩天，測得之吸收光譜圖。

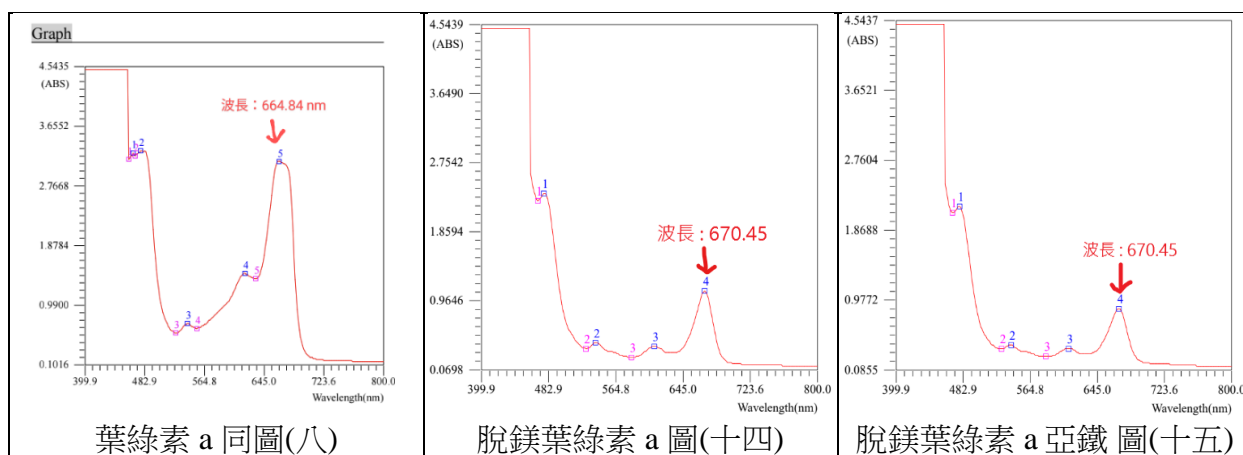
註3: 圖(十一)為圖(八)放置於冰箱保存兩星期後測得之吸收光譜，且皆為未酸化之葉綠素 a。

註4: 圖(八)~圖(十三)為三位作者實驗得出的數據圖

討論：

(一) 由圖(八)、圖(九)和圖(十一)、圖(十二)可知，葉綠素 a 和 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 混合後並不會立刻發生反應，特徵峰波長為 664.84nm 和 666.16nm；經過兩天後，加入 Fe^{2+} 的葉綠素 a，特徵峰由 664.84nm 紅移至 670.45nm 如圖(九)至圖(十)，而加入 Fe^{3+} 的葉綠素 a，特徵峰由 666.16nm 紅移至 668.97nm 如圖(十二)至圖(十三)，由此，我們推測葉綠素 a 的結構在兩天後已發生改變，但因沒有可確認分子結構的儀器，故無從得知葉綠素 a 確切的變化。在此，結構發生改變的葉綠素 a 我們先以葉綠素亞鐵及葉綠素鐵稱之。

- (二) 由圖(八)和圖(十一)可知，當葉綠素 a 放置於冰箱保存兩星期後，特徵峰有紅移的現象。葉綠素的特徵峰雖會隨時間(二個星期)有紅移的現象，但葉綠素結構發生改變後(經過二天)的特徵峰所在波長變化量較大，故最終我們**假設特徵峰紅移是因葉綠素已與 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 螯合**。為了確認使用的催化劑特徵峰相同，故本實驗使用的葉綠素亞鐵及葉綠素鐵在實驗前，皆經分光光度計確認特徵峰位置後，再繼續進行。
- (三) 我們曾以赤血鹽/黃血鹽試圖檢測出樣本瓶內是否殘留 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ，但因溶液中葉綠素比例過高，無法利用顏色判讀是否有普魯士藍沉澱，故無法採用。

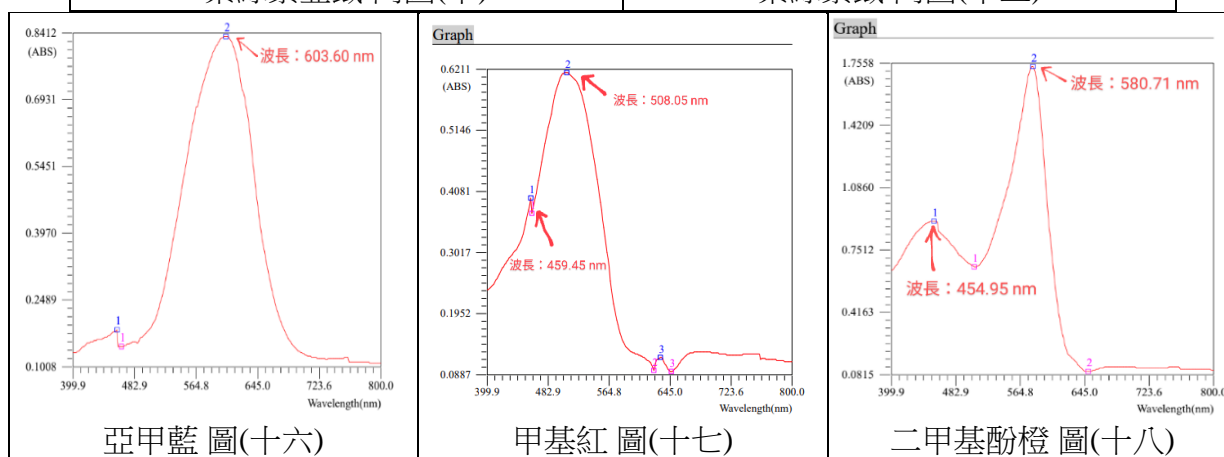
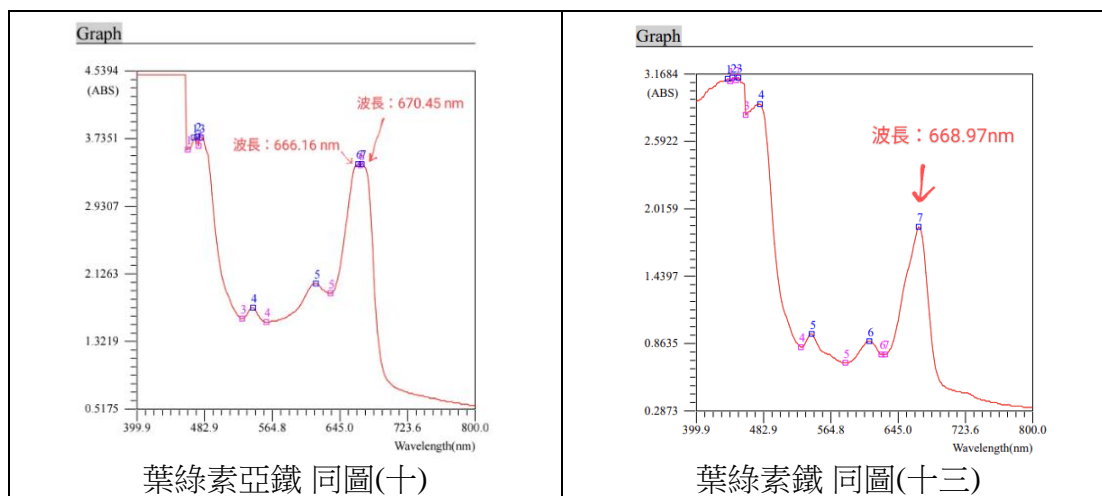


註：圖(十四)~圖(十五)為三位作者實驗得出的數據圖

- (四) 將 pH=6.9 的葉綠素 a 圖(八) 加入 H_2SO_4 至 pH=4.5 圖(十四)，光譜圖特徵峰改變成波長=670.45nm，由文獻得知加酸會使 Mg^{2+} 脫去，故酸化的葉綠素 a 我們稱之為脫鎂葉綠素 a。在酸化葉綠素 a 後再加入 Fe^{2+} ，兩天後，測得光譜圖為圖(十五)，特徵峰位於 670.45nm 與脫鎂葉綠素 a 之特徵峰相同，因此我們無法確定脫鎂葉綠素 a 是否接上亞鐵離子，故我們決定不使用脫鎂葉綠素 a 來製備葉綠素亞鐵及葉綠素鐵，而是採用未酸化之葉綠素 a (pH=6.9) 來製備。

三、找出葉綠素亞鐵/葉綠素鐵及不同染料在可見光區吸收光譜之特徵峰

(一) 找出和葉綠素亞鐵/葉綠素鐵特徵峰重疊度最小(最易觀測)的染料

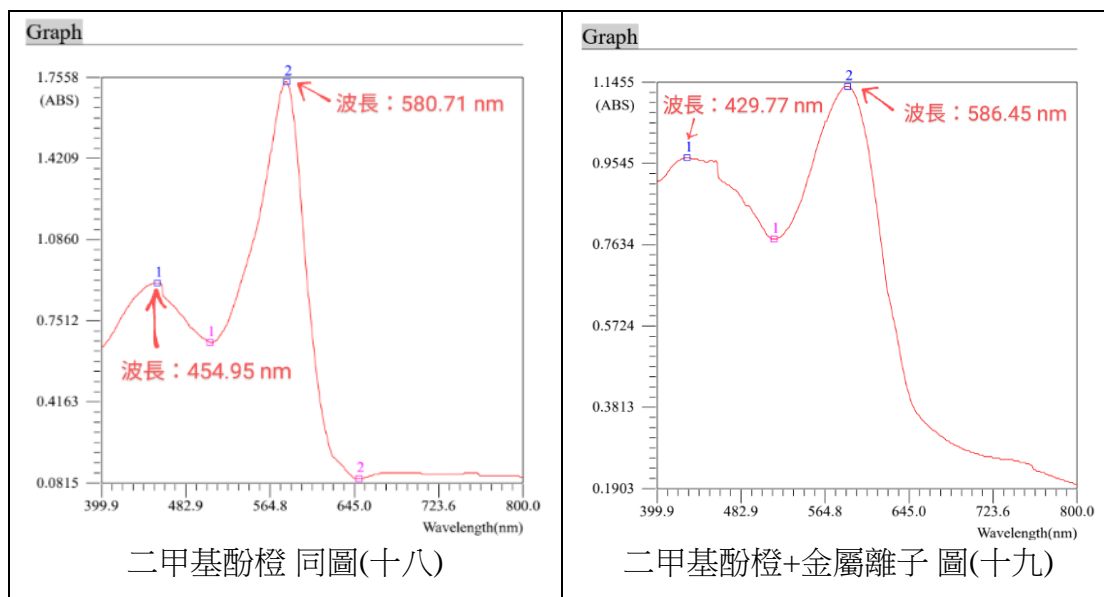


註：圖(十六)～圖(十八)為三位作者實驗得出的數據圖

討論：

由上述五張圖，我們發現亞甲藍、甲基紅與二甲基酚橙三種染料皆符合特徵峰與葉綠素亞鐵/葉綠素鐵特徵峰重疊度小的條件，初步得知這些染料皆可應用於此實驗，但因葉綠素亞鐵/鐵在波長=603.60、508.05、580.71nm時，仍有吸收值，故本研究的每個實驗條件，皆會對應一個對照組(未加入 H_2O_2)進行比對，並計算出染料的去除率(%)。

(二) 二甲基酚橙加入金屬離子與否之光譜圖比較



註：圖(十九)為三位作者實驗得出的數據圖

討論：

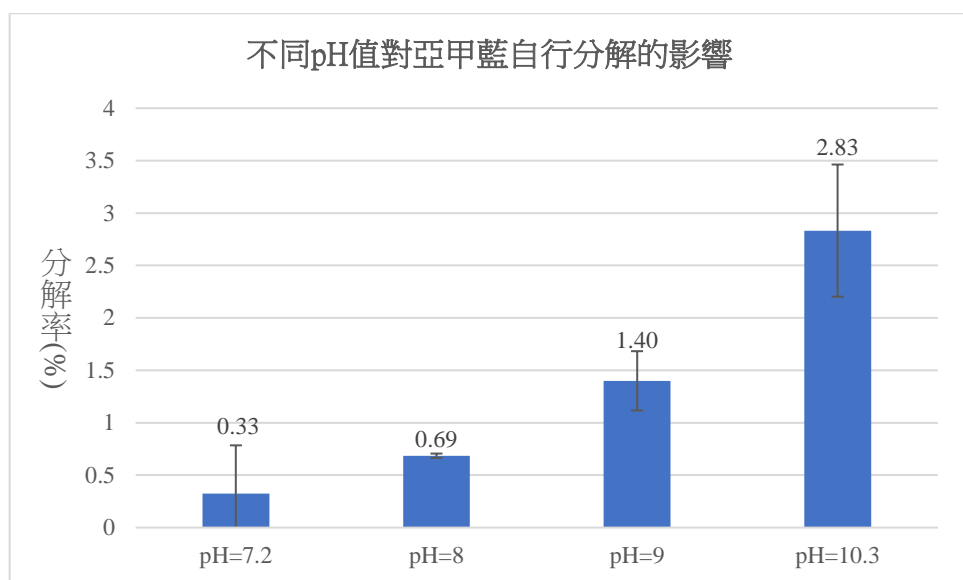
根據上方兩張圖可知，二甲基酚橙在加入金屬離子後會影響吸收光譜，推測造成光譜圖改變是因其已與金屬離子發生螯合反應。

由於葉綠素亞鐵在波長 = 603.6nm (亞甲藍之特徵峰波長)，吸收值約為 1.8286；在波長 = 508.05nm 時 (甲基紅之特徵峰波長)，吸收值約為 1.9525，故葉綠素亞鐵對亞甲藍特徵峰之吸收度干擾較小，故我們最終選擇以亞甲藍作為本實驗之染料。

四、亞甲藍於鹼性環境下是否會自行分解

表(六)、不同 pH 值對亞甲藍自行分解的影響

組別	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 pH=7.2	總體積	分解率(%)
1	3mL	12mL	15mL	0.33
	50ppm 亞甲藍	NaOH 水溶液 pH=8	總體積	分解率(%)
2	3mL	12mL	15mL	0.69
	50ppm 亞甲藍	NaOH 水溶液 pH=9	總體積	分解率(%)
3	3mL	12mL	15mL	1.40
	50ppm 亞甲藍	蒸餾水 pH=10.3	總體積	分解率(%)
4	3mL	12mL	15mL	2.83



註：去除率 (%) =
$$\frac{\text{Abs 第 0 分鐘} - \text{Abs 第 5 分鐘}}{\text{Abs 第 0 分鐘}} \times 100\%$$

圖(二十)、亞甲藍的自行分解率與 pH 值之關係圖 (由三位作者共同繪製)

討論：

(一) 根據表(六)結果顯示，我們可以發現亞甲藍液在 pH=7.2、8、9、10.3 的環境下，其分解率呈現上升趨勢。因此，為了避免亞甲藍在實驗過程中自行分解影響到後續實驗分析，每組實驗都會有一個相同條件的但未加入 H_2O_2 的對照組，

並將後續實驗之去除率定義為：
$$\frac{\text{對照組Abs} - \text{實驗組Abs}}{\text{對照組Abs}} \times 100\%。$$

五、葉綠素亞鐵與葉綠素鐵對亞甲藍的降解效果比較

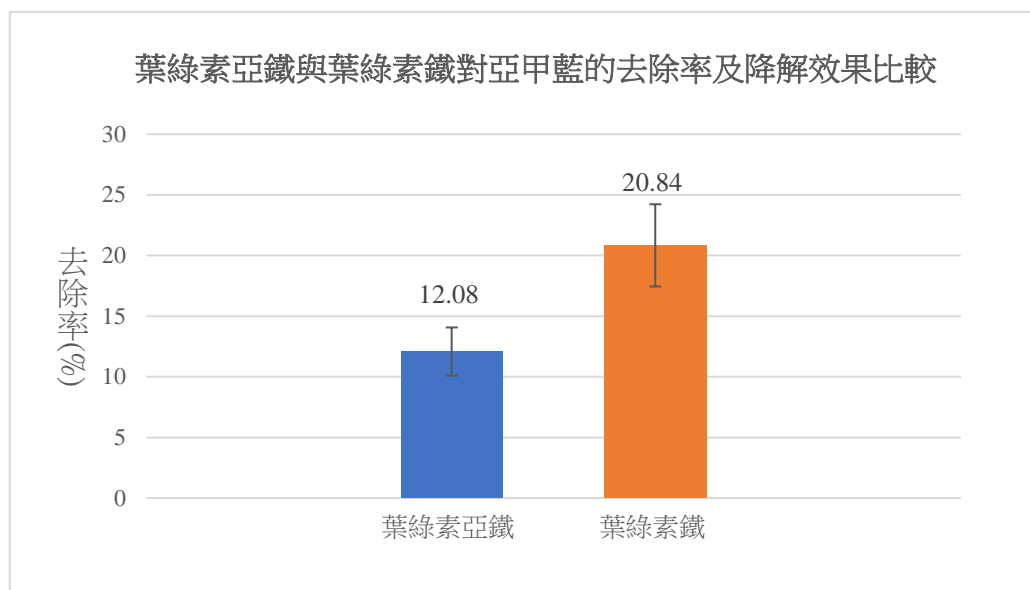
表(七)、葉綠素亞鐵與葉綠素鐵對亞甲藍液去除率之影響

組別	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 pH=10.3	葉綠素亞鐵	1000ppm H_2O_2	總體積	去除率(%)
1	3mL	8mL	1mL	3mL	15mL	12.08
2	3mL	11mL	1mL	0mL	15mL	
	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 pH=10.3	葉綠素鐵	1000ppm H_2O_2	總體積	去除率(%)
3	3mL	8mL	1mL	3mL	15mL	20.84
4	3mL	11mL	1mL	0mL	15mL	

註 1: 組別 2、4 為未加過氧化氫之對照組；組別 1、3 為加過氧化氫之實驗組

註 2: 去除率 (%) = $\frac{\text{對照組 Abs} - \text{實驗組 Abs}}{\text{對照組 Abs}} \times 100\%$

註 3: 將組別 3、組別 4 的時間改為 9，去除率為 96.6%



圖(二十一)、亞甲藍去除率與葉綠素亞鐵/鐵之關係圖 (由三位作者共同繪製)

討論：

根據表(七)結果顯示，在 50 ppm 亞甲藍、pH=10.3 緩衝溶液、1000 ppm H_2O_2 =3mL 的條件下，反應 5 分鐘，葉綠素鐵的去除率可達 20.84%；時間改為 9 小時，去除率則高達 96.6%，而葉綠素亞鐵反應 5 分鐘後，去除率為 12.08%，顯示葉綠素鐵比葉綠素亞鐵更適合作為在 pH=10.3 環境下進行染料降解反應之催化劑。

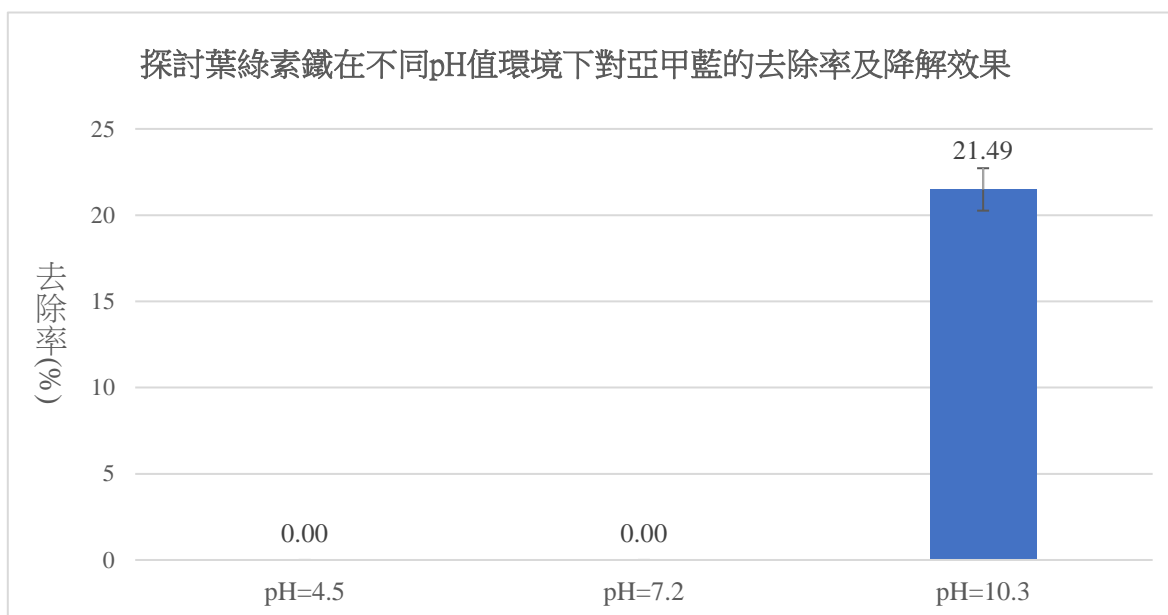
六、探討葉綠素鐵在不同 pH 值環境下對亞甲藍的去除率及降解效果

表(八)、葉綠素鐵在不同 pH 值下對亞甲藍去除率之影響

組別	pH 值	50ppm 亞甲藍	葉綠素鐵	0.01M 硫酸	蒸餾水	1000ppm H ₂ O ₂	去除率(%)
1	4.5	3mL	1mL	0.05mL	7.95mL	3mL	0
2	4.5	3mL	1mL	0.05mL	10.95mL	0mL	
		50ppm 亞甲藍	葉綠素鐵	緩衝溶液 pH=7.2	蒸餾水	1000ppm H ₂ O ₂	去除率(%)
3	7.2	3mL	1mL	8mL	0mL	3mL	0
4	7.2	3mL	1mL	11mL	0mL	0mL	
		50ppm 亞甲藍	葉綠素鐵	緩衝溶液 pH=10.3	蒸餾水	1000ppm H ₂ O ₂	去除率(%)
5	10.3	3mL	1mL	8mL	0mL	3mL	21.49
6	10.3	3mL	1mL	11mL	0mL	0mL	

註 1: 組別 2、4、6 為未加過氧化氫之對照組；組別 1、3、5 加過氧化氫之實驗組

註 2: 去除率 (%) = $\frac{\text{對照組 Abs} - \text{實驗組 Abs}}{\text{對照組 Abs}} \times 100\%$



圖(二十二)、亞甲藍去除率與 pH 值之關係圖 (由三位作者共同繪製)

討論：

根據表(八)結果顯示，在不同 pH 值環境下進行反應 5 分鐘時，葉綠素鐵對亞甲藍的降解效果存在明顯差異。在 pH = 4.5 及 7.2 的條件下，去除率為 0 %，而在 pH = 10.3 的條件下，去除率為 21.49 %，顯示此反應在鹼性環境下，降解亞甲藍的效果較佳。因此，以葉綠素鐵作為催化劑的反應較適合在鹼性的環境下進行。

七、探討葉綠素鐵、葉綠素+鐵、鐵與葉綠素 a 對亞甲藍的去除率及降解效果

表(九)、不同催化劑對亞甲藍去除率之影響

組別	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 pH=10.3	葉綠素鐵	1000ppm H ₂ O ₂	總體 積	去除率
1	3mL	8mL	1mL	3mL	15mL	21.48
2	3mL	11mL	1mL	0mL	15mL	
	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 pH=10.3	葉綠素+鐵離子	1000ppm H ₂ O ₂	總體 積	去除率
3	3mL	8mL	1mL	3mL	15mL	12.3
4	3mL	11mL	1mL	0mL	15mL	
	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 pH=10.3	鐵離子	1000ppm H ₂ O ₂	總體 積	去除率
5	3mL	8mL	1mL	3mL	15mL	12.12
6	3mL	11mL	1mL	0mL	15mL	
	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 pH=10.3	葉綠素 a	1000ppm H ₂ O ₂	總體 積	去除率
7	3mL	8mL	1mL	3mL	15mL	0.00
8	3mL	11mL	1mL	0mL	15mL	

註 1: 組別 2、4、6、8 為未加過氧化氫之對照組

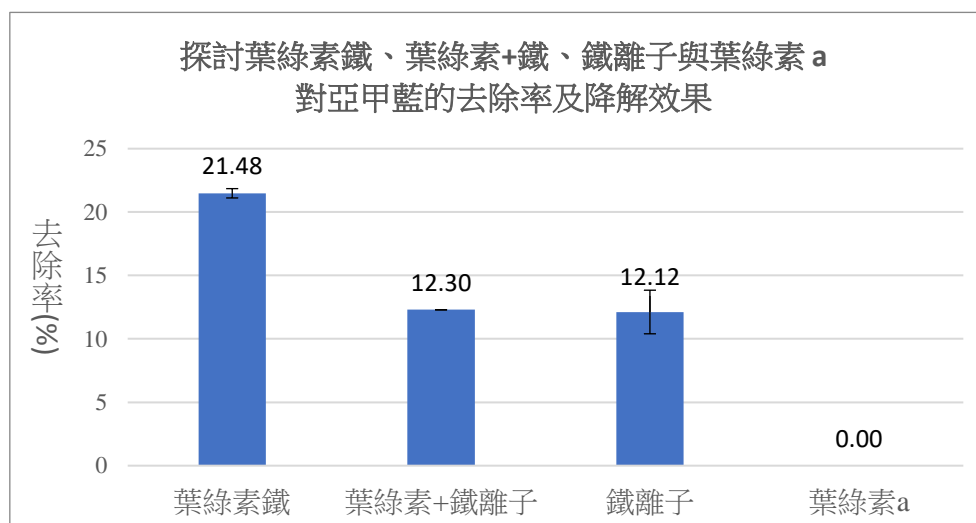
組別 1、3、5、7 為加過氧化氫之實驗組

註 2: 去除率 (%) = $\frac{\text{對照組 Abs} - \text{實驗組 Abs}}{\text{對照組 Abs}} \times 100\%$

註 3: 葉綠素+鐵離子: (葉綠素: 0.01M FeCl₃ = 15mL:1mL 混合)

鐵離子: (蒸餾水: 0.01M FeCl₃ = 15mL:1mL 混合)

葉綠素 a: (葉綠素: 蒸餾水 = 15mL:1mL 混合)



圖(二十三)、亞甲藍去除率與催化劑種類之關係圖 (由三位作者共同繪製)

討論：

- (一) 根據表(九)，在 $\text{pH} = 10.3$ 的條件下，不同催化組合對 50 ppm 亞甲藍的降解效果存在顯著差異。其中，當葉綠素的中心粒子被鐵離子替換，形成葉綠素鐵，其催化降解能力最為顯著，反應 5 分鐘後，去除率為 **21.48%**，顯示主要使亞甲藍降解的催化劑為葉綠素鐵。
- (二) 相較之下，當葉綠素與鐵離子共存，且鐵離子尚未與葉綠素 a 螯合時，催化效率顯著下降，反應 5 分鐘後的去除率為 12.3%，遠低於葉綠素鐵的降解效果，顯示葉綠素與鐵離子共存並無法有效提升催化效率。
- (三) 當使用鐵離子作為催化劑時，反應的去除率為 12.12%，顯示鐵離子在鹼性下本身雖具有一定的催化降解能力，但仍低於葉綠素鐵。
- (四) 直接以葉綠素 a 作為反應之催化劑時，反應的去除率為 0%，顯示葉綠素 a 在鹼性下本身不具有催化降解能力。
- (五) 本實驗結果顯示，在 $\text{pH} = 10.3$ 的鹼性條件下，葉綠素鐵的催化降解效果最佳，相比之下，使用鐵或葉綠素與鐵離子共存時，催化效果較為有限。因此，葉綠素鐵在鹼性環境下可作為降解有機染料的潛在催化劑，未來可進一步探討其應用於其他有機污染物降解的可行性。

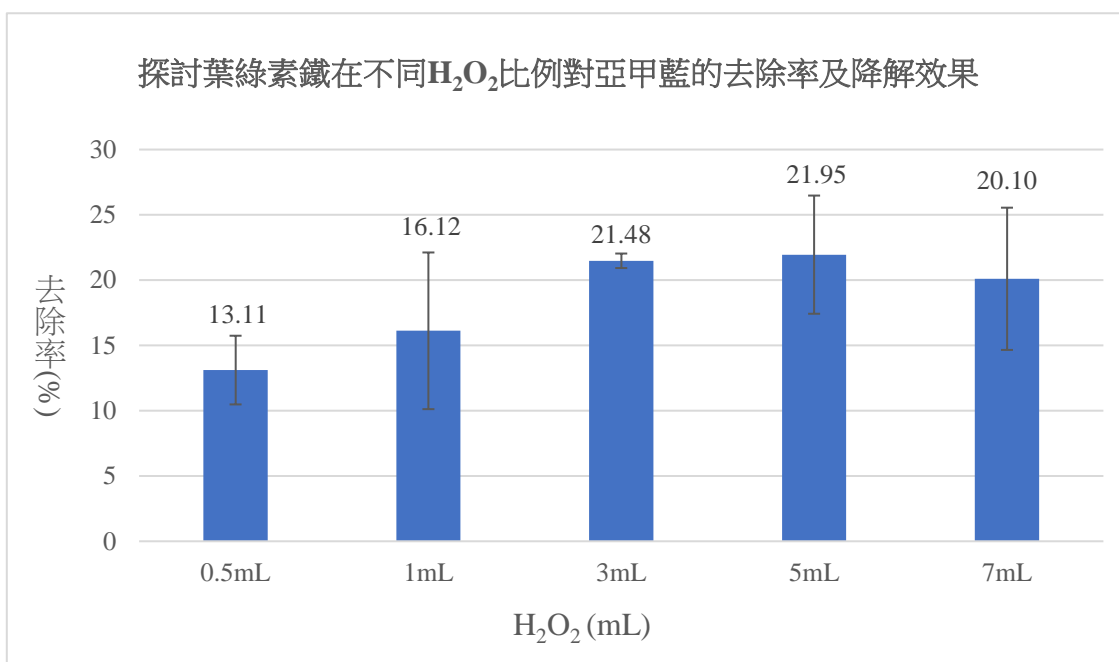
八、探討葉綠素鐵在不同 H_2O_2 比例對亞甲藍的去除率及降解效果

表(十)、 H_2O_2 的比例對亞甲藍去除率之影響

組別	50ppm 亞甲藍	緩衝溶液 $\text{pH}=10.3$	葉綠素鐵	1000ppm H_2O_2	總體積	去除率 (%)
1	3mL	11mL	1mL	0mL	15mL	
2	3mL	10.5mL	1mL	0.5mL	15mL	13.11
3	3mL	10	1mL	1mL	15mL	16.12
4	3mL	8mL	1mL	3mL	15mL	21.48
5	3mL	6mL	1mL	5mL	15mL	21.95
6	3mL	4mL	1mL	7mL	15mL	20.10

註 1：組別 1 為未加過氧化氫之對照組，其餘為實驗組

$$\text{註 2: 去除率 (\%)} = \frac{\text{對照組 Abs} - \text{實驗組 Abs}}{\text{對照組 Abs}} \times 100\%$$



圖(二十四)、亞甲藍去除率與 H_2O_2 體積之關係圖 (由三位作者共同繪製)

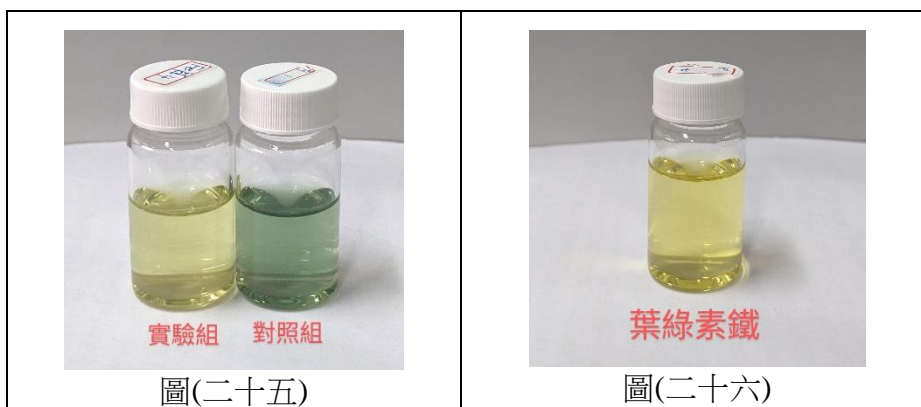
討論：

根據表(十)結果顯示，當 H_2O_2 加入的體積在 3mL 以前時，增加 H_2O_2 的量可使去除率上升，但 H_2O_2 的體積在 3mL ~ 7mL 時，去除率則無明顯變化。

伍、結論

- 一、光照會使葉綠素變質，以致螢光反應消失。
- 二、不照光(室溫或低溫)可促進葉綠素 a 的脫鎂反應。
- 三、葉綠素 a 與 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 不會立即反應，但兩天後在可見光區吸收光譜的特徵峰紅移，顯示葉綠素 a 的結構已經改變。
- 四、因葉綠素 a 比例過高，無法以加入赤血鹽或黃血鹽生成之普魯士藍的顏色來確認樣品中是否有殘留的 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 。
- 五、葉綠素 a 與脫鎂葉綠素 a + 亞鐵離子的特徵峰皆位於 670.45nm，故無法確定脫鎂葉綠素 a 是否成功與亞鐵離子螯合。
- 六、亞甲藍、甲基紅、二甲基酚橙的吸收峰與葉綠素亞鐵/葉綠素鐵的重疊度小，但二甲基酚橙會與金屬離子螯合而影響吸收光譜。而與甲基紅相比，亞甲藍對葉綠素亞鐵的吸收光譜重疊度較低，故我們採用亞甲藍作為染料。
- 七、亞甲藍在 pH 值 = 10.3 的緩衝溶液時，測得 5 分鐘後，分解率為 2.83%，顯示其在鹼性環境下有略為分解的趨勢，為避免影響後續實驗之吸收度，故本研究之去除率計算皆是與相同實驗條件但未加入 H_2O_2 的對照組相比。

- 八、在 pH 值 = 10.3 的緩衝溶液中，以葉綠素亞鐵作為催化劑反應 5 分鐘後，去除率為 12.08%。而以葉綠素鐵作為催化劑反應 5 分鐘後，去除率可達 20.84%，若將反應時間改為 9 小時，去除率可高達 96.6%。顯示葉綠素鐵比葉綠素亞鐵更適合作為此反應之催化劑。
- 九、葉綠素鐵在鹼性環境下降解效果較佳，在 pH 值 = 10.3 時，去除率可至 **21.49%**，顯著高於 pH 值 = 7.2 時以及 pH 值 = 4.5 時，去除率 0%。
- 十、葉綠素鐵在 pH 值 = 10.3 時，去除率為 21.48%，明顯高於其餘催化劑，所以可知葉綠素鐵確實是使亞甲藍降解的主要催化劑。由此顯示，葉綠素鐵作為催化劑可進一步加速亞甲藍降解，並改善傳統 Fenton 反應在鹼性環境下去除率不佳的限制，因此以葉綠素鐵作為催化劑具潛在應用價值，值得進一步研究。
- 十一、進行降解有機染料的同時，會有氣泡產生，我們推測此氣泡可能為氧氣且以葉綠素鐵作為催化劑進行染料降解的機制與 Fe^{III} -TAML 相似。
- 十二、改變 $\text{H}_2\text{O}_2(\text{aq})$ 加入的體積在 3mL 以下時，隨著加入體積增加，去除率有增加的趨勢，而在 $\text{H}_2\text{O}_2(\text{aq})$ 加入的體積為 3mL ~ 7mL 時，增加 H_2O_2 加入的體積，對去除率則無顯著差異。
- 十三、未來展望：
- (一) 開發新型葉綠素金屬催化劑
參考 Fe^{III} -TAML 的結構優化策略，葉綠素鐵未來可以透過不同的金屬取代或修飾配位環境，提升其催化活性與穩定性，進一步拓展應用範圍。
 - (二) 提升催化穩定性與適用範圍
研究是否能在葉綠素結構中引入特定官能基，並進一步優化其結構，使其能在更廣的 pH 值範圍作用，並增加催化效率，以適應不同類型的污水處理需求。
 - (三) 擴展應用與提升可持續性
測試葉綠素鐵對其他染料或有機污染物的降解效果，評估其實際應用價值。同時，我們發現完全反應後，樣本瓶內溶液的顏色(圖二十五)和葉綠素鐵溶液的黃色(圖二十六)雷同，推測其有重複利用的可能，故可進一步研究回收與重複使用技術，以發展更可持續的催化系統，降低環境影響。



註：圖(二十五)、圖(二十六)實驗過程自行拍攝

陸、參考文獻資料及其他

- 一、許志弘. (2022). 開發簡化合成步驟的四醯胺基大環配體含鐵催化劑及其對廢水中染料的分解效率. 淡江大學化學學系碩士班學位論文
- 二、A+醫學百科 <http://cht.a-hospital.com/w/%E8%91%89%E7%B6%A0%E7%B4%A0>
- 三、張芳淑. (1995). *Fenton* 法之原理與應用. 淡江大學水資源及環境工程研究所博士論文
- 四、屏東縣第 64 屆中小學科學展覽會. (2023). 哇!脫鎂!—使用金屬離子置換葉綠素 *a* 與螢光反應之探討. 屏東縣國中小學科學展覽會研究報告
https://sci.ptc.edu.tw/Pthsci64/Upfile/Works/1710305137_025526_56.pdf
- 五、鄧閎澤, 林昱佑, 賴晨瑋. (2023). 氧酶吐氣—探討不同物質對過碳酸鈉水溶液製氧能力的影響. 新北市永和區秀朗國民小學獨立研究報告
<https://gifted.ntpc.edu.tw/Outer/Research1/7A5347306556647252424475624C616D78336B7A597579755446762B627958376E6A54663256563059544B2F4D6E44417672537968773D3D>
- 六、何倚帆, 陳穎宣. (2014). 開發葉綠素檢驗微量重金屬的方法. 中華民國第 54 屆中小學科學展覽會研究報告, 花蓮縣立國風國民中學
<https://www.ntsec.edu.tw/science/detail.aspx?a=21&cat=12032&sid=12055>
- 七、蘇邗, 郭家豪, 張元誠. (2014). 彙而不費
高雄市立立德國民中學, 第 54 屆中小學科學展覽會研究報告
<https://www.ntsec.edu.tw/science/detail.aspx?a=21&cat=52&sid=12068&print=1>
- 八、潘欣汝, 劉嘉穎, 林美慧, 林晏羽, 宋依融. (2005). 氧多起來—探討不同植物對雙氧水分解生成氧氣的影響. 臺中縣豐原市葫蘆墩國民小學, 中華民國第四十六屆中小學科學展覽會研究報告 <https://www.ntsec.edu.tw/science/detail.aspx?a=21&cat=43&sid=2125>

九、鄧婉妤. (2004). 以 *Fenton* 法結合 *Ferrite Process* 處理含 *EDTA* 與重金屬之廢水 (Doctoral dissertation, 撰者).

十、作者不詳. (2020). 芬頓反應之變因探討及廢水處理~以嘉義市下水道水樣為例
嘉義市第 38 屆中小學科學展覽會

https://cyjesf.eduweb.tw/cyjesf38/Upfile/Works/1584934179_028090_89.pdf

十一、楊萬發. 台灣地區水汙染防治現況

<https://reurl.cc/rEdG71>

【評語】 052607

本作品將葉綠素 a 中的鎂離子取代為鐵離子，探討其作為替代催化劑降解有機染料亞甲藍的效果。實驗設計完整，研究動機明確，背景與基礎紮實，實驗步驟清楚有邏輯，並有考慮重複性與統計上的精確度。其研究成果發現在鹼性條件（pH 10.3）時，雙氧水搭配葉綠素鐵可在 9 小時內去除 96.6%之 50 ppm 亞甲藍，顯示葉綠素鐵具取代傳統 Fenton 法催化劑的潛力。

相關建議與問題如下：

1. 緩衝溶液中的磷酸鹽或碳酸鹽是否會將 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 由葉綠素中萃取出來？
2. 為什麼在 pH4.5，室溫下不照光下葉綠素穩定？
3. 為什麼照光可穩定葉綠素中的 Mg^{2+} ？
4. 表中不可有空格，可填入-，並標註-的含意。
5. 為何葉綠素鐵在酸性下無催化性？

作品海報

綠意重構：

葉綠素鐵對降解亞甲藍的友好新策略



摘要

現今有機污染物遍布，在處理有機物的文獻中，Fe^{III}-TAML催化劑配製不易，而Fenton反應需在酸性環境下才有較佳的效果。有鑒於此，本研究以**葉綠素鐵（將葉綠素a中心的鎂離子取代為鐵離子）**取代Fe^{III}-TAML作為催化劑，**探討是否能與之有相近的降解效果**。本研究探討葉綠素a在不同環境下的穩定性，並評估葉綠素鐵對降解亞甲藍的影響。結果顯示，葉綠素a在暗室中較易保存。50ppm亞甲藍液3mL在反應條件為1000ppm雙氧水3mL、pH=10.3緩衝溶液8mL中，加入葉綠素鐵1mL，9小時後，去除率高達96.6%。本研究證實葉綠素鐵作為降解有機染料之催化劑的可行性，並提供處理鹼性廢水的新策略。

壹、前言

一、研究動機

某次生物實驗課時，我們使用亞甲藍液染色細胞核以利於觀測，然而使用後卻發現存放亞甲藍液的燒杯清洗不易，這使我們反思有什麼方法能使染料顏色變淡？於是我們好奇的查閱了有關染料降解的方法，意外找到Fenton反應與TAML(四醯胺基大環配體)的相關文獻，進而聯想到之前生物講座上提到的**葉綠素結構與TAML相似**，經過仔細回想和查證，我們猜測葉綠素具有潛力作為天然的催化劑。基於這個猜想，我們想**利用葉綠素與Fe²⁺/ Fe³⁺結合進行有機染料的降解**，希望能得到**降解染料的創新方法**。這不僅可能解決實驗室中染料清理的實際問題，更重要的是，若研究成功，將為染料降解提供一個更**環保**、更**永續**的解決方案。

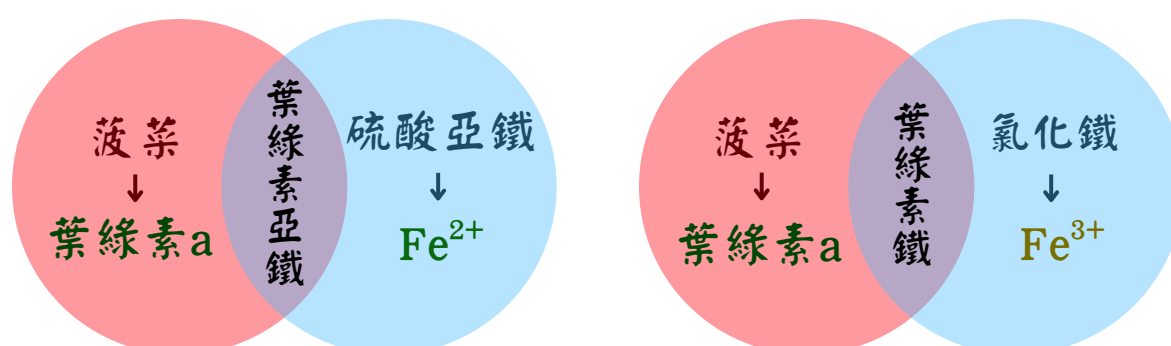
二、研究目的

催化劑的製備 (葉綠素亞鐵 / 葉綠素鐵)

溫度 pH值 是否照光

甚麼環境適合保存葉綠素a

葉綠素亞鐵 葉綠素鐵



催化劑的製備 圖(一)

染料的選擇

葉綠素亞鐵 亞甲藍
葉綠素鐵 甲基紅
 二甲基酚橙

獲得葉綠素亞鐵/鐵和各種染料的吸收波峰

透過染料的特徵峰與葉綠素亞鐵/鐵的吸收值大小比較，找出適合實驗的染料

染料的選擇 圖(二)

進行染料降解

催化劑 pH值 反應條件

葉綠素亞鐵 4.5
葉綠素鐵 7.2
金屬離子vs.錯合物 10.3

過氧化氫比例

反應時間

找出染料降解的最佳條件

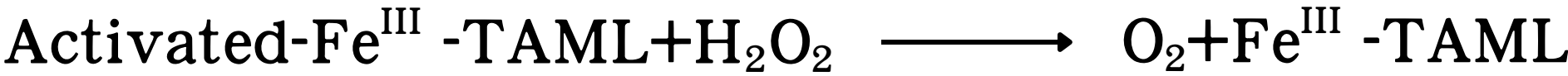
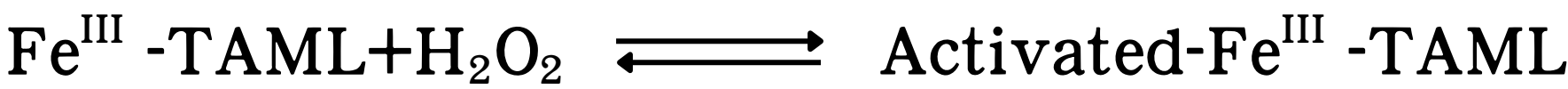
進行染料降解 圖(三)

註：上圖皆由三位作者自行繪製

貳、實驗原理

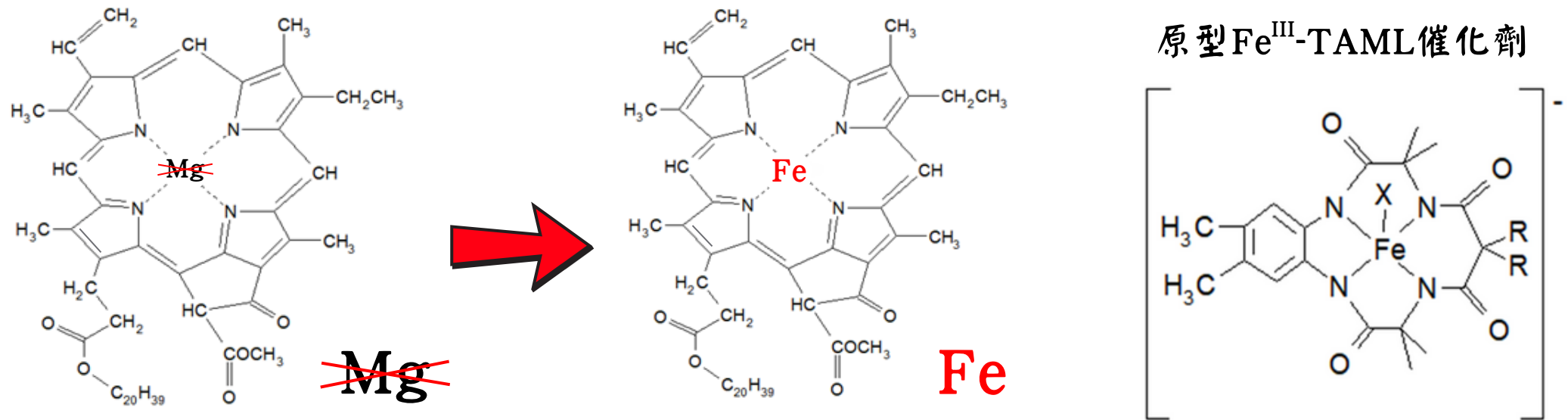
一、鐵-四醯胺基大環配體催化劑(Fe^{III}-TAML) 與 葉綠素亞鐵/鐵 催化劑

Fe^{III}-TAML由鐵(III)和四醯胺基大環配體(TAML)組成，能有效處理有機污染物。其結構能在中性至鹼性環境下反應。反應中，**過氧化氫會活化Fe^{III}-TAML，並透過活化的Fe^{III}-TAML破壞有機污染物的結構**。而活化Fe^{III}-TAML也會再次與過氧化氫反應，生成未活化Fe^{III}-TAML並產生氧氣。



註：此反應機制參考自文獻1

透過金屬離子的不同配位能力，將葉綠素a的中心鎂離子替換為配位能力更強的鐵離子，藉此模擬 Fe^{III}-TAML（鐵-四醯胺基大環配位體催化劑）之反應機制。



中心金屬置換示意圖、原型Fe^{III}-TAML催化劑 圖(四)

註：上圖皆由第一作者參考文獻一及文獻二進行繪製

二、葉綠素a的螢光反應

葉綠素分子吸收光能後，其能量主要有三種去向，且這三者之間存在競爭關係：

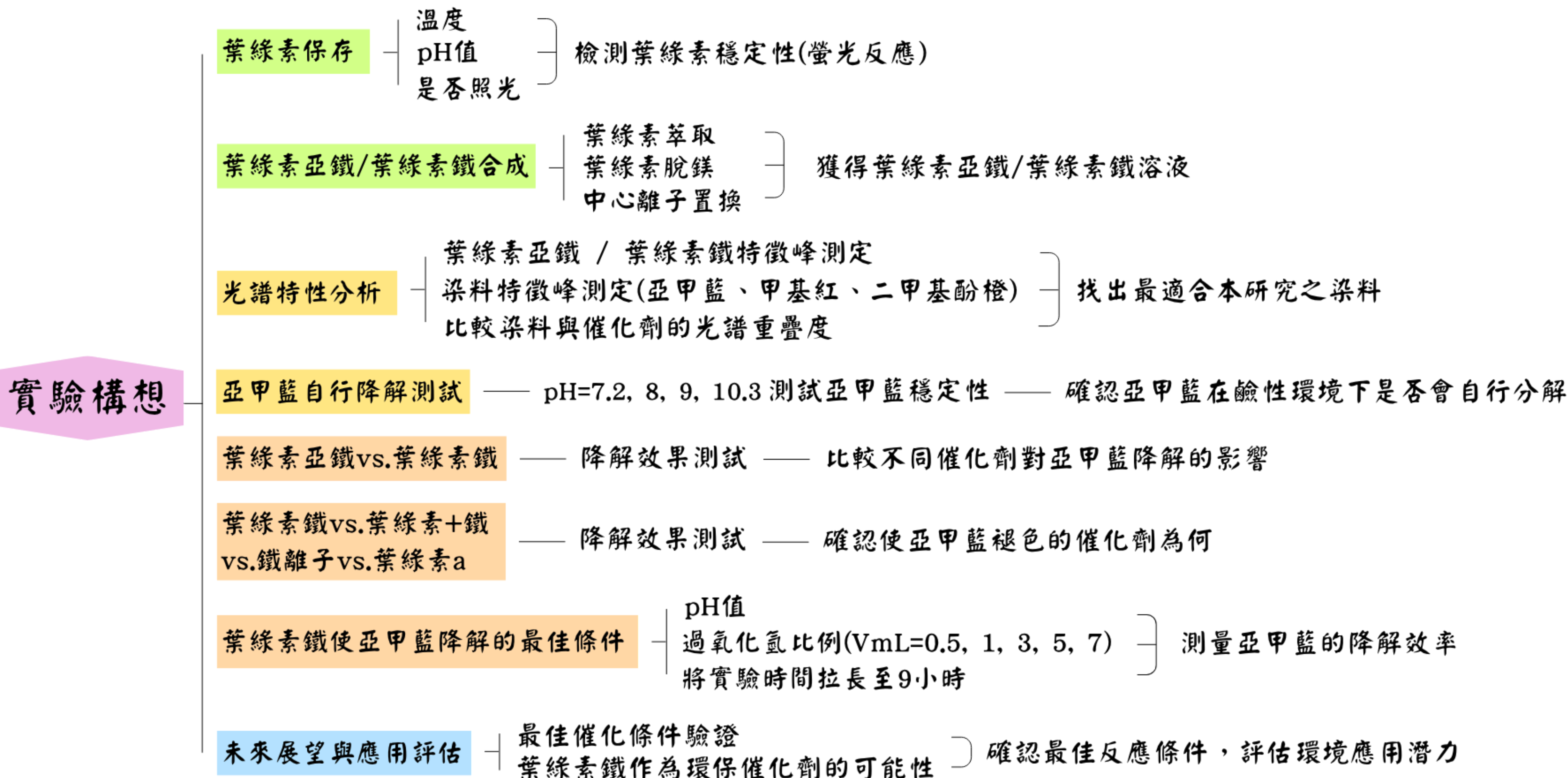
- 1.光化學反應：吸收的光能被用於驅動光合作用中的光反應。
- 2.非光化學淬滅：當吸收的光能超過光合作用的需求時，多餘的能量會以熱的形式消散。
- 3.葉綠素螢光：少部分吸收的光能會以波長較長的光重新發射出來，即為葉綠素螢光。

由於這三個過程共享吸收的光能，科學家可以間接獲知植物光合作用的光化學效率以及非光化學淬滅的效率。

我們**利用其中最易觀測的葉綠素螢光來檢測葉綠素的狀態及是否成功保存**。

參、研究過程及方法

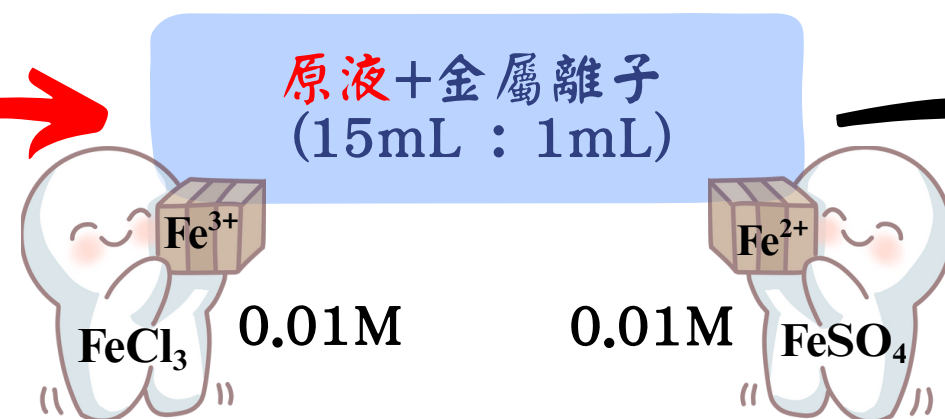
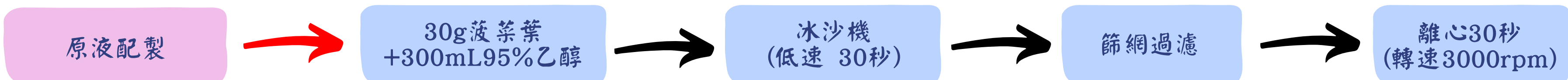
一、實驗流程圖



實驗流程圖 圖(五)

註：上圖由三位作者自行繪製

二、合成葉綠素亞鐵/葉綠素鐵(將葉綠素a中心離子置換成Fe²⁺/Fe³⁺)







催化劑製備流程圖 圖(六)

註：上圖由三位作者自行繪製

肆、研究結果與討論

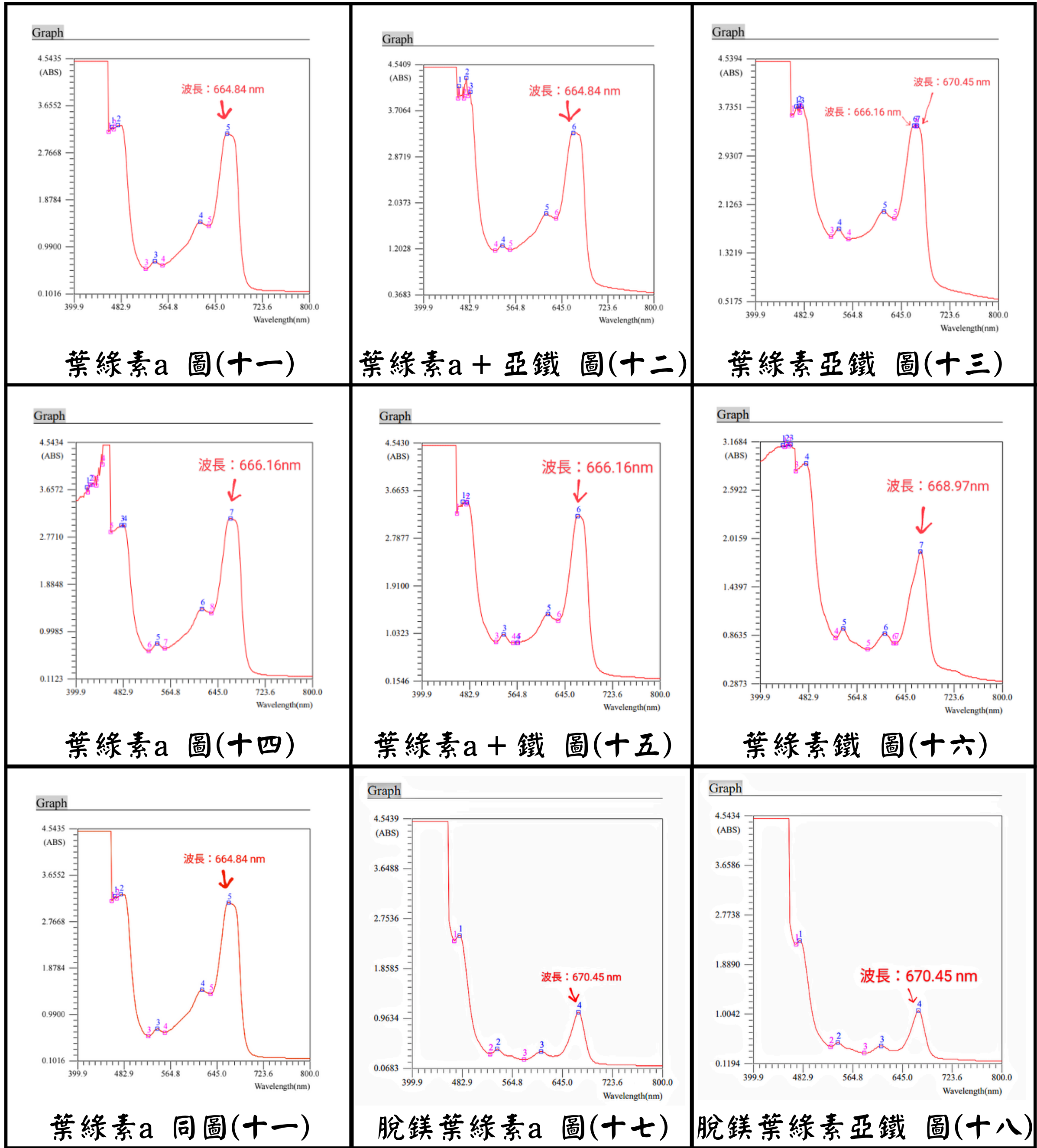
一、探討改變pH值、溫度及照光與否對萃取後的葉綠素保存之影響

編號	1	2	3	4	5
pH 值	pH=6.9(未加酸)	pH=6.9(未加酸)	pH=4.5	pH=4.5	pH=4.5
溫度	室溫	室溫	室溫	室溫	冷藏
鋁箔紙	有	無	有	無	有
實際結果 (螢光反應)	有(紅)	無	有(粉)	有(紅)	有(粉)
推測 (葉綠素狀態)	葉綠素 a 未變質	葉綠素 a 變質	部分已脫鎂	幾乎未脫鎂	部分已脫鎂
<div><div><p>左: 組別 1(有鋁箔) 右: 組別 2(無鋁箔) 圖(七)</p></div><div><p>左: 組別 3(有鋁箔) 右: 組別 4(無鋁箔) 圖(八)</p></div><div><p>左: 組別 4(無鋁箔) 右: 組別 5(冷藏) 圖(九)</p></div><div><p>左: 組別 3(有鋁箔) 右: 組別 5(冷藏) 圖(十)</p></div></div>					

討論:

- 由組別1、組別2可知，在pH=6.9(未加酸)條件下，葉綠素a在無照光(以鋁箔紙包覆)的情況下可保持穩定，且螢光反應(紅)明顯，相反，當暴露於陽光下(無鋁箔紙包覆)時，葉綠素a發生變質，以致螢光反應完全消失，顯示照光是影響葉綠素穩定性的關鍵因素。
 - 由組別3、組別4可知，當pH值降至4.5時，在室溫、照光(無鋁箔紙包覆)的條件下，因螢光反應呈紅色 如(圖八-右)，可推知葉綠素a幾乎未脫去鎂離子。然而，在相同pH值條件下改為低溫或不照光(無鋁箔紙包覆)時，因螢光反應呈粉色 如(圖十)，故可推知葉綠素a已完成部分脫鎂(尚有螢光反應代表仍含有中心為Mg²⁺的葉綠素a)，顯示不照光(室溫或低溫)可促進葉綠素a的脫鎂反應。
- 根據實驗結果，後續的葉綠素a保存方式為冷藏及不照光。
- 註: 圖(七)至圖(十)皆由三位作者於研究過程自行拍攝。

二、合成葉綠素亞鐵/葉綠素鐵(將葉綠素a中心離子置換成Fe²⁺/Fe³⁺)



討論:

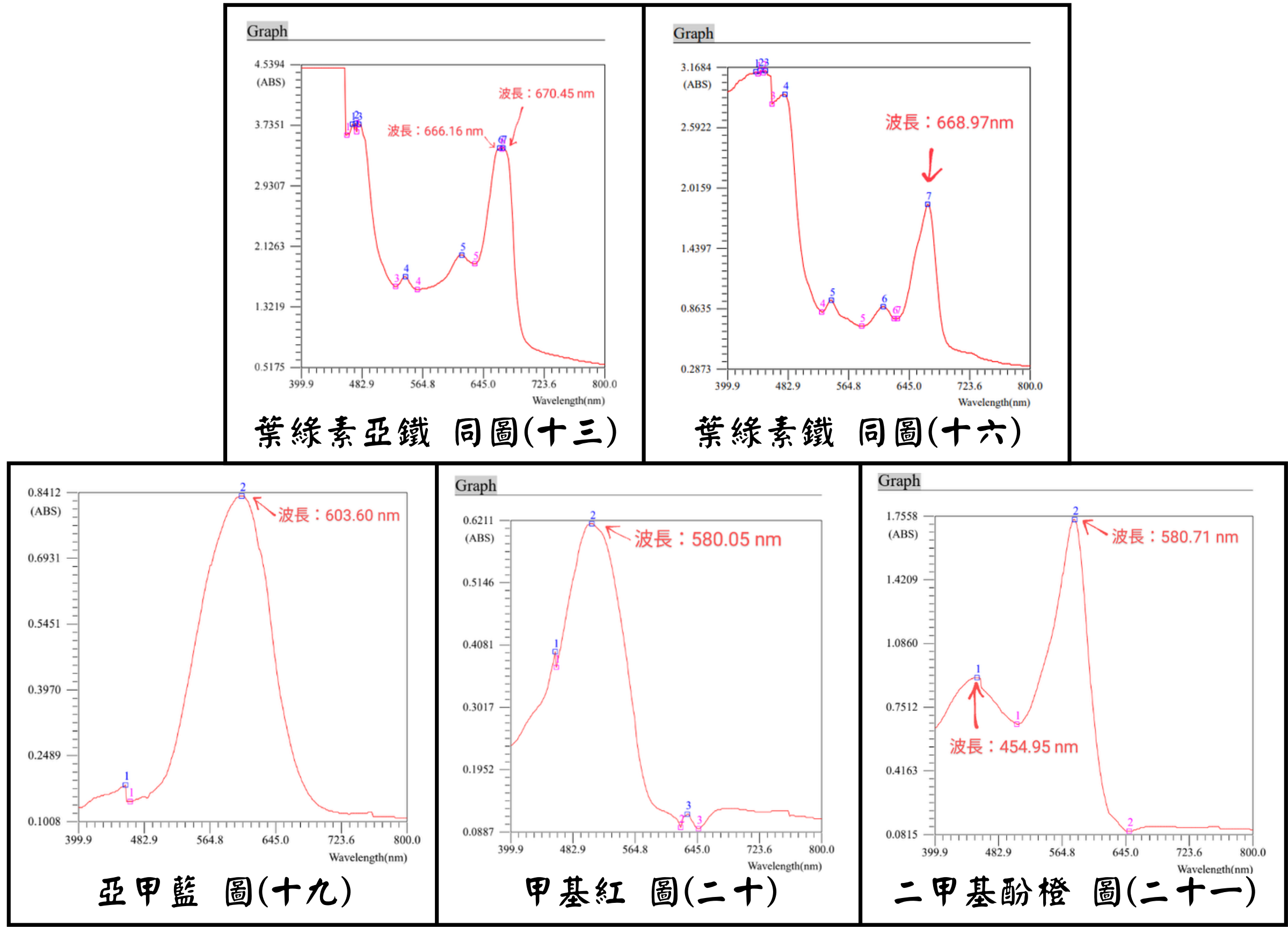
- 由圖(十一)至圖(十二)以及圖(十四)至圖(十五)可知，葉綠素a和Fe²⁺/Fe³⁺混合後並不會立刻發生反應；兩天後，由圖(十三)及圖(十六)特徵峰皆有明顯的紅移現象，我們推測葉綠素a的結構在兩天後已發生改變，但因沒有可確認分子結構的儀器，故無從得知葉綠素a確切的變化。在此，結構發生改變的葉綠素a我們先以葉綠素亞鐵及葉綠素鐵稱之。
- 我們曾以赤血鹽/黃血鹽試圖檢測出樣本瓶內是否殘留Fe²⁺/Fe³⁺，但因溶液中葉綠素比例過高，無法利用顏色判讀是否有普魯士藍沉澱，故無法採用。
- 將pH=6.9的葉綠素a同圖(十一)加入H₂SO₄至pH=4.5圖(十七)，光譜圖特徵峰改變成波長=670.45nm，由文獻得知加酸會使Mg²⁺脫去，故酸化的葉綠素a我們稱之為脫鎂葉綠素a。在酸化葉綠素a後再加入Fe²⁺，兩天後，測得光譜圖為圖(十八)，特徵峰位於670.45nm與脫鎂葉綠素a之特徵峰相同，因此我們無法確定脫鎂葉綠素a是否接上亞鐵離子，故我們決定不使用脫鎂葉綠素a來製備葉綠素亞鐵及葉綠素鐵，而是採用未酸化之葉綠素a(pH=6.9)來製備。

- 註1: 圖(十二)和圖(十五)為葉綠素a加金屬離子混和5分鐘後，測得之吸收光譜圖。
註2: 圖(十三)和圖(十六)為葉綠素a加金屬離子後，置於冰箱保存兩天，測得之吸收光譜圖。
註3: 圖(十四)為圖(十一)放置於冰箱保存兩星期後測得之吸收光譜，且皆為未酸化之葉綠素a。
註4: 圖(十一)至圖(十八)皆為三位作者於實驗得出的數據圖

三、找出葉綠素亞鐵/葉綠素鐵及不同染料在可見光區吸收光譜之特徵峰

(一)找出和葉綠素亞鐵/葉綠素鐵特徵峰重疊度最小(最易觀測)的染料

(二)二甲基酚橙加入金屬離子與否之光譜圖比較

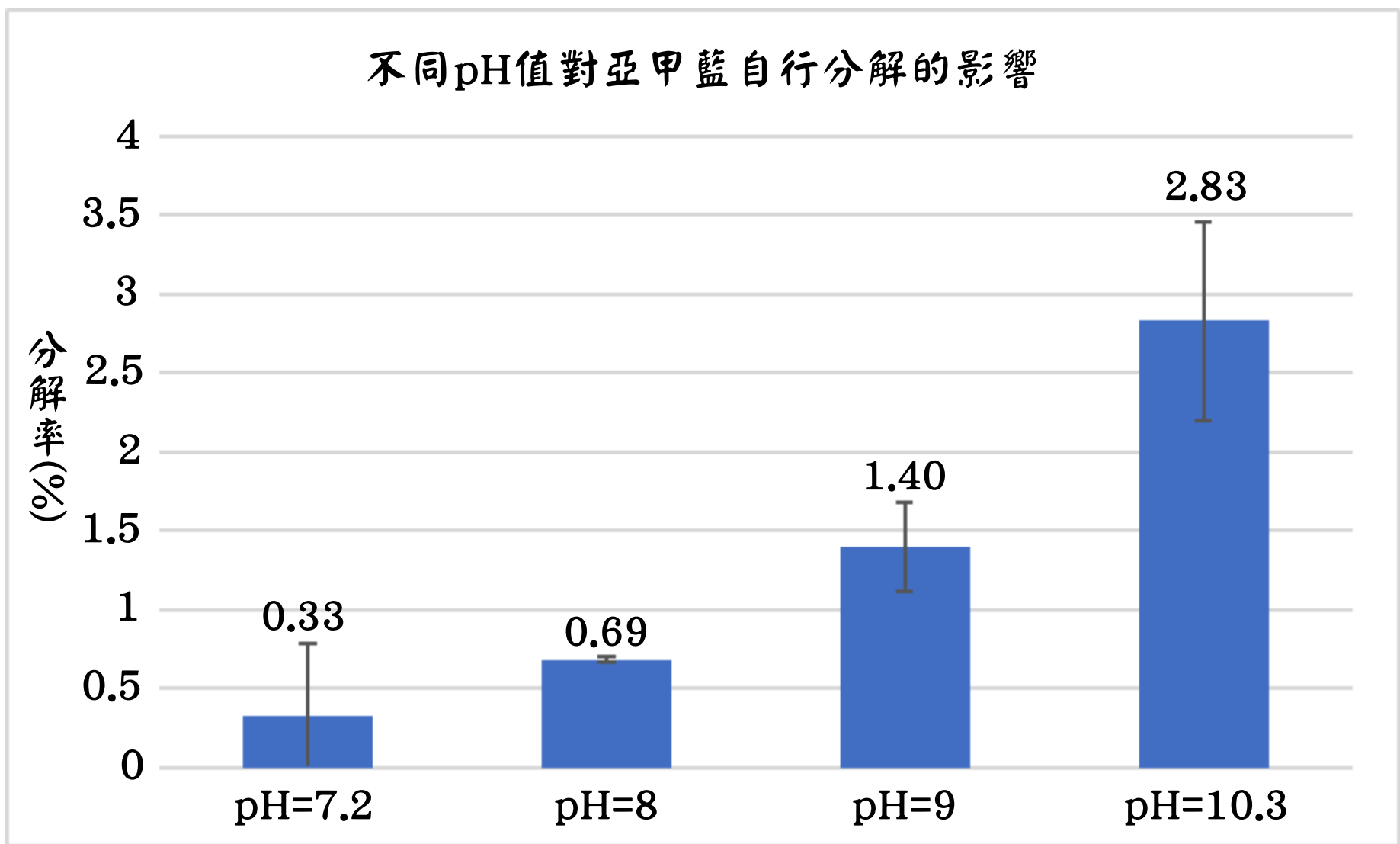


討論:

由上述五張圖，我們發現亞甲藍、甲基紅與二甲基酚橙三種染料皆符合特徵峰與葉綠素亞鐵/葉綠素鐵吸收值重疊度小的條件，初步得知這些染料皆可應用於此實驗。

註: 圖(十九)至圖(二十二)皆為三位作者於實驗得出的數據圖

四、亞甲藍於鹼性環境下是否會自行分解



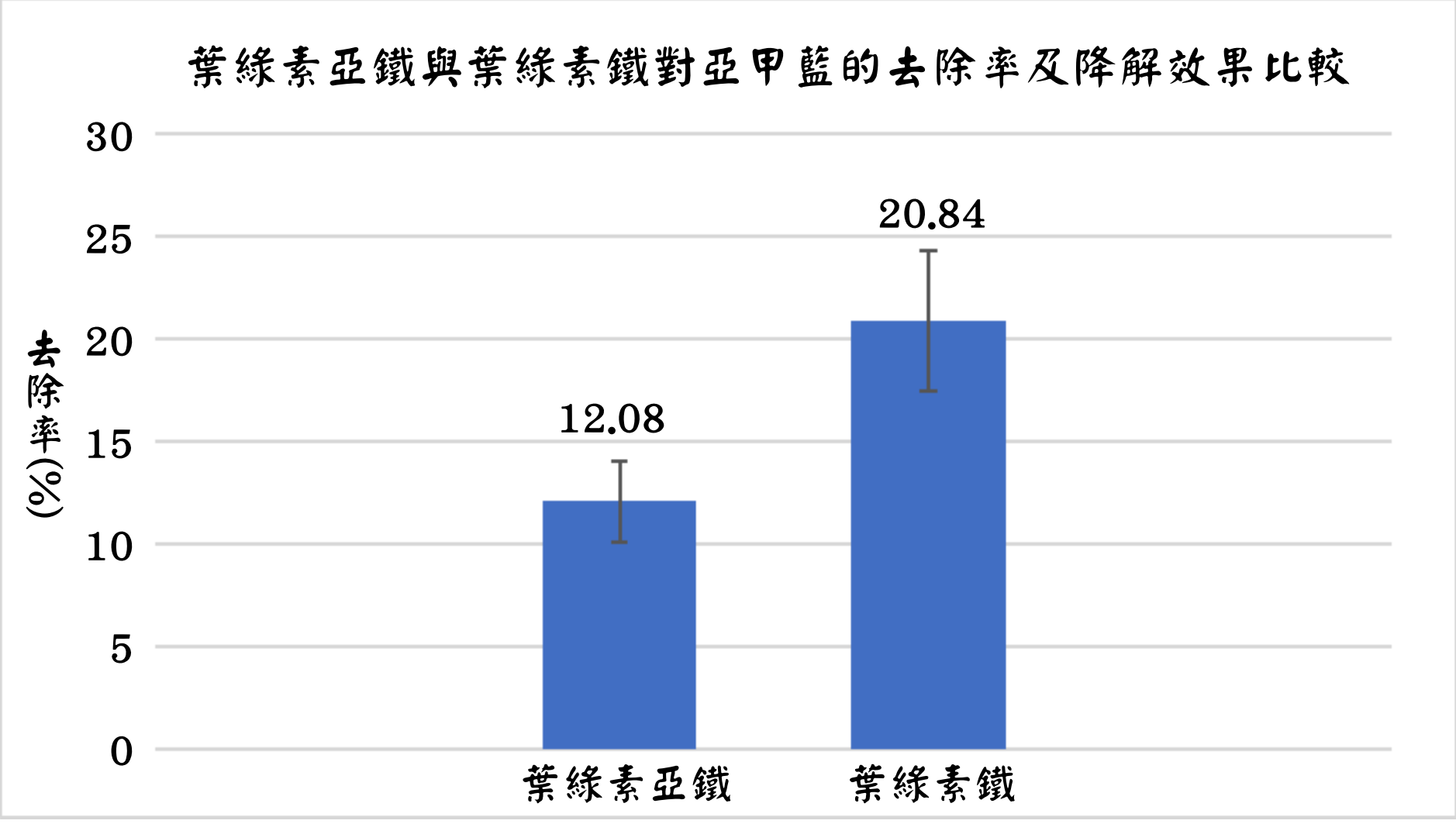
圖(二十三)

討論:

- 結果顯示，我們可以發現亞甲藍在pH=7.2, 8, 9, 10.3的環境下，其分解率呈現上升趨勢。
- 為了避免亞甲藍在實驗過程中自行分解以及葉綠素亞鐵/鐵(在波長=603.60、508.05、580.71nm時，仍有吸收值)的吸收值干擾，影響到後續實驗分析，本研究的每個實驗條件，皆會對應一個對照組(未加入H₂O₂)進行比對。
- 將後續實驗之去除率定義為：
$$\frac{\text{對照組Abs} - \text{實驗組Abs}}{\text{對照組Abs}}$$

註: 圖(二十三)由三位作者共同繪製

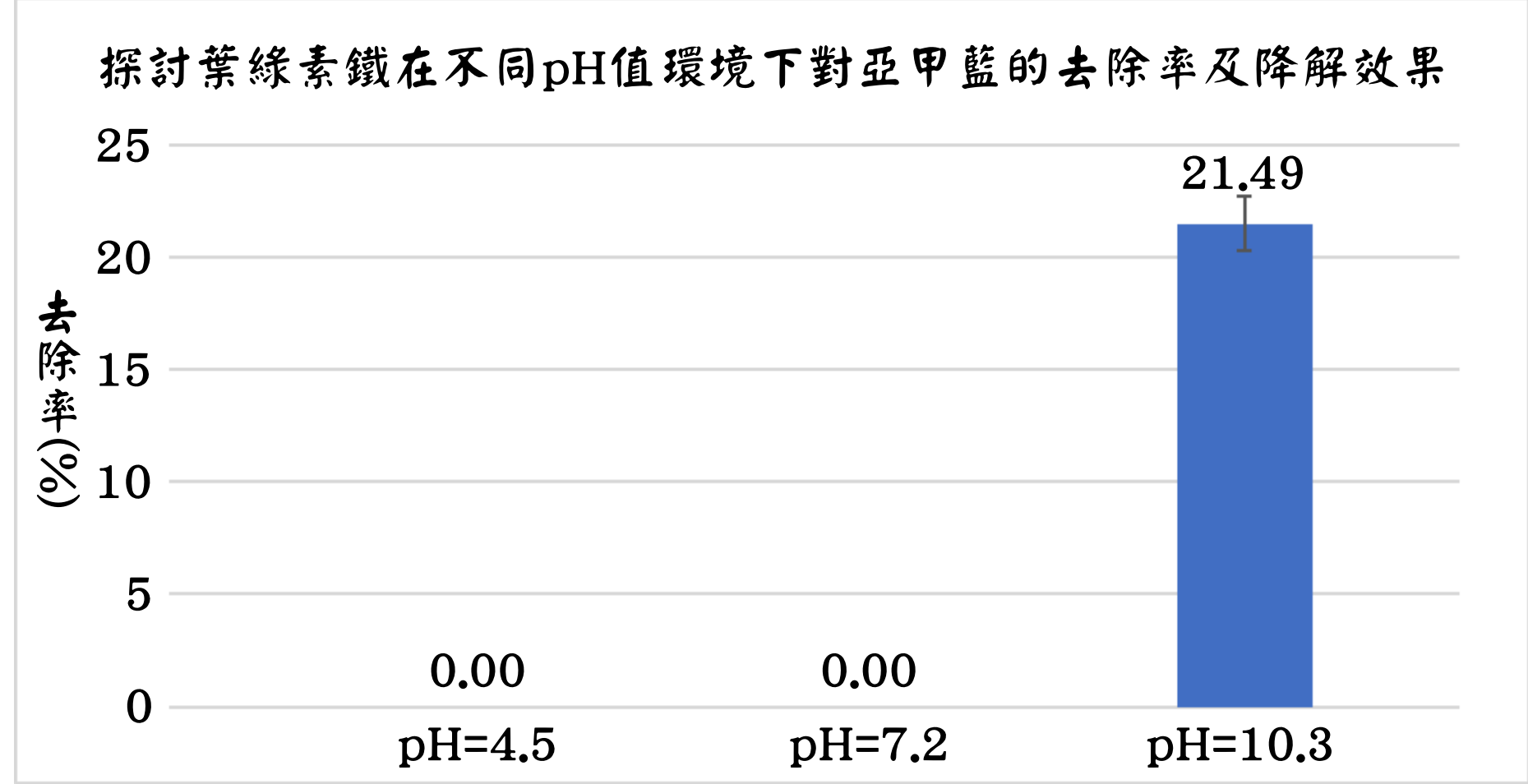
五、葉綠素亞鐵與葉綠素鐵對亞甲藍的去除率及降解效果比較



圖(二十四)

註: 圖(二十四)由三位作者共同繪製

六、探討葉綠素鐵在不同pH值環境下對亞甲藍的去除率及降解效果



圖(二十五)

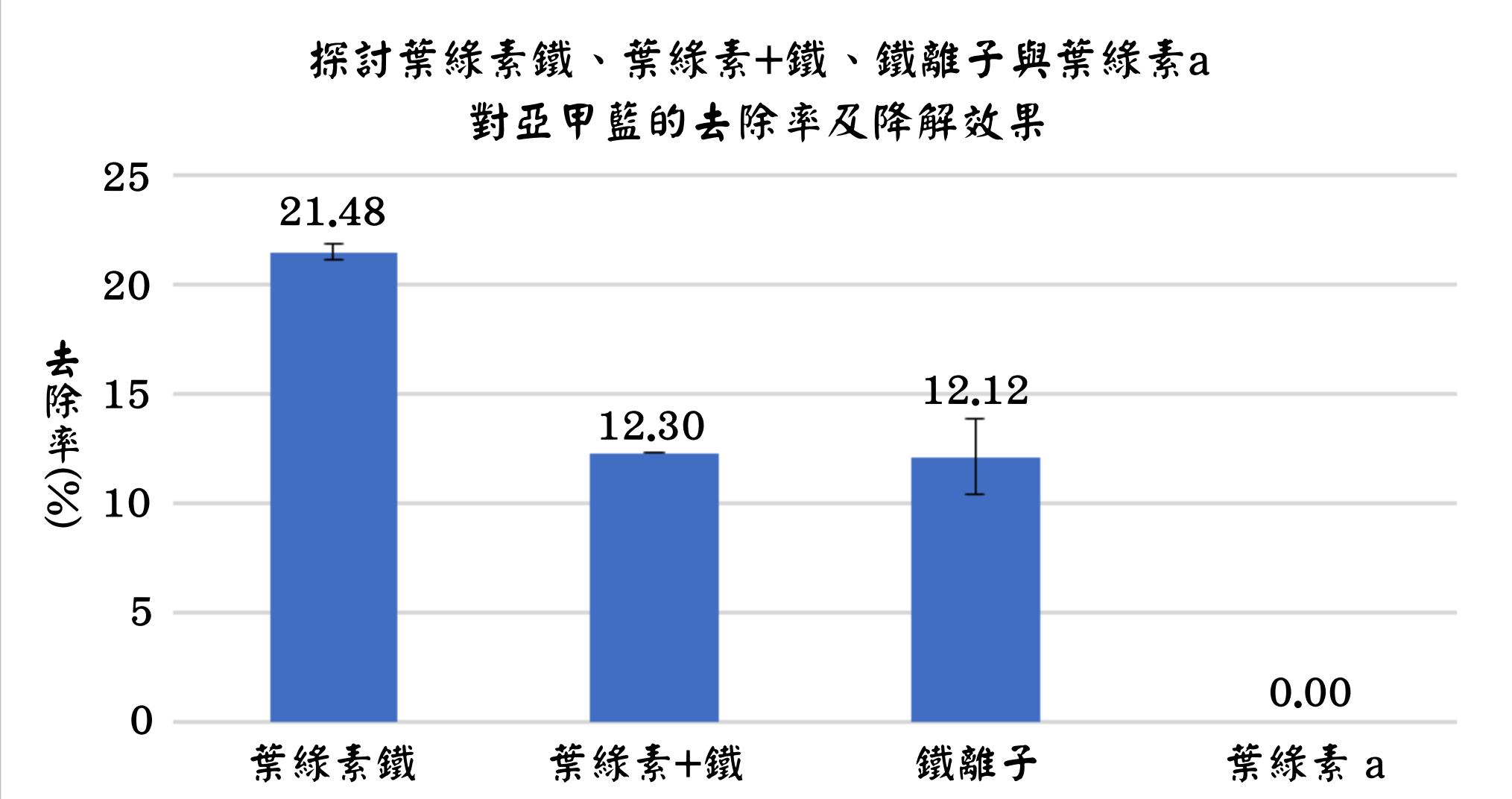
討論:

結果顯示，在50ppm亞甲藍液3mL、葉綠素鐵1mL、1000ppm雙氧水3mL的條件下，當環境為鹼性(pH值=10.3)時，反應五分鐘過後，葉綠素鐵對亞甲藍的降解效果明顯高於酸性及中性環境。因此，以葉綠素鐵作為催化劑的反應較適合在鹼性環境下進行。

註：pH=4.5 (加硫酸)
pH=7.2 (H_2PO_4^- 與 HPO_4^{2-} 緩衝溶液)
pH=10.3 (HCO_3^- 與 CO_3^{2-} 緩衝溶液)

註: 圖(二十五)由三位作者共同繪製

七、探討葉綠素鐵、葉綠素+鐵、鐵離子與葉綠素a對亞甲藍的去除率及降解效果



圖(二十六)

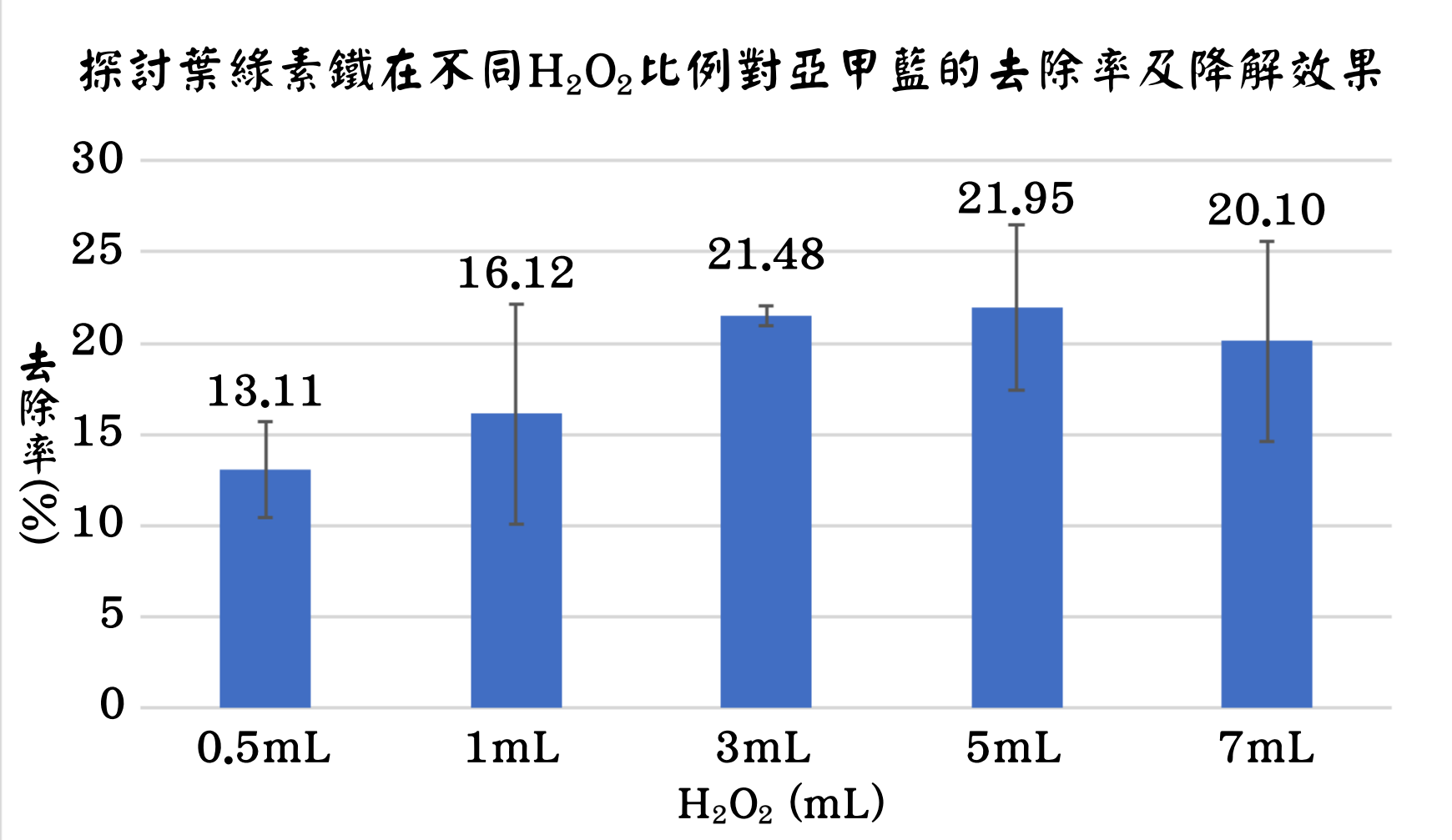
討論:

如圖所示，在50ppm亞甲藍液3mL、pH=10.3緩衝溶液8mL、催化劑1mL、1000ppm雙氧水3mL的條件下，反應五分鐘過後，可知：

- 1.葉綠素鐵的催化降解能力最佳。
- 2.葉綠素a與鐵離子的共存並無法有效提升催化效率，效果低於葉綠素鐵。
- 3.鐵離子雖具有一定的催化降解能力，但仍低於葉綠素鐵。
- 4.葉綠素a在鹼性環境下本身不具有催化降解能力。

註: 圖(二十六)由三位作者共同繪製

八、探討葉綠素鐵在不同H₂O₂比例對亞甲藍的去除率及降解效果



圖(二十七)

討論:

如圖所示，在50ppm亞甲藍液3mL、pH=10.3緩衝溶液8mL、葉綠素鐵1mL的條件下，反應五分鐘過後，可知：

- 1.H₂O₂的量並非愈多效果愈好。
- 2.當H₂O₂加入的體積在3mL以前時，增加H₂O₂的量可使去除率上升，H₂O₂的體積在3mL ~ 7mL時，去除率則無明顯變化。

註: 圖(二十七)由三位作者共同繪製

伍、結論

- 1.光照會使葉綠素變質；不照光(室溫或低溫)有利於葉綠素a保存。
- 2.葉綠素a與 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 不會立即反應，但兩天後在可見光區吸收光譜的特徵峰紅移。
- 3.因葉綠素a比例過高，無法以加入赤血鹽或黃血鹽生成之普魯士藍沉澱來確認樣品中是否有殘留的 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 。
- 4.亞甲藍、甲基紅、二甲基酚橙的吸收峰與葉綠素亞鐵/葉綠素鐵的重疊度小；二甲基酚橙會與金屬離子螯合而影響吸收光譜；亞甲藍相對甲基紅，葉綠素鐵在染料特徵峰的吸收值較低。
- 5.以葉綠素鐵作為催化劑在本研究中有較佳的降解效果。
- 6.本實驗中，亞甲藍去除率可達**96.6%**，反應條件為50ppm亞甲藍3mL、pH=10.3緩衝溶液8mL、1000ppm雙氧水3mL，加入葉綠素鐵1mL後，反應9小時。
- 7.改善了傳統Fenton反應在鹼性環境下去除率不佳的限制。

註：圖(二十八)由三位作者於實驗過程自行拍攝



實驗組與對照組顏色比對之示意圖
圖(二十八)

陸、未來展望

- 1.開發新型葉綠素金屬催化劑
參考 Fe^{III} -TAML 的結構優化策略，葉綠素鐵未來可以透過不同的金屬取代或修飾配位環境，提升其催化活性與穩定性，進一步拓展應用範圍。
- 2.提升催化穩定性與適用範圍
研究是否能在葉綠素結構中引入特定官能基，並進一步優化其結構，使其能在更廣的pH值範圍作用，並增加催化效率，以適應不同類型的污水處理需求。
- 3.擴展應用與提升可持續性
測試葉綠素鐵對其他染料或有機污染物的降解效果，評估其實際應用價值。同時，我們發現完全反應後，樣本瓶內溶液的顏色和葉綠素鐵溶液的顏色(黃色)雷同，推測其有重複利用的可能，故可進一步研究回收與重複使用技術，以發展更可持續的催化系統，降低環境影響。

柒、參考資料

- 1.許志弘。(2022). 開發簡化合成步驟的四醯胺基大環配體含鐵催化劑及其對廢水中染料的分解效率. 淡江大學化學學系碩士班學位論文
- 2.史燕玲。(2025). 選修化學IV-化學反應與平衡二. 翰林出版
- 3.郭凡菱, 施宥瑜。(2023). 哇!脫鎂!—使用金屬離子置換葉綠素a與螢光反應之探討. 屏東縣第64屆國中小學科學展覽會.屏東縣國中小學科學展覽會研究報告 <https://shorturl.at/paC0T>
- 4.蘇邗, 郭家豪, 張元誠。(2014). 棄而不費 高雄市立立德國民中學, 高雄市第54屆國中小學科學展覽會. <https://shorturl.at/17QHP>