

以平衡滲析法分析Cr(VI)、Zn(II)與腐植酸錯合之穩定常數

Stability Constants Determination of Cr(VI), Zn(II) Complexes
With Humic Acid by Equilibrium Dialysis

黃汝賢* 余光昌**

摘 要

自然水中的腐植物質易與金屬離子錯合，影響了金屬離子在水域中之分佈。本研究之主要目的係探討腐植酸與Cr(VI)、Zn(II)之錯合反應之穩定常數(Stability Constants) K，先利用平衡滲析法(Equilibrium Dialysis)分離原水中的錯合離子與自由離子，再用四種模式Scatchard Plot、Langmuir Plot、Double Reciprocal Plot及Hill Plot等求解穩定常數。Cr(VI)與腐植酸在pH 6及pH 8時之穩定常數經試驗得知分別約為 $10^{4.7}$ 及 $10^{5.2}$ (由Hill Plot求得之K略高為 $10^{5.1}$ 及 $10^{5.6}$)，Zn(II)與腐植酸在pH 6及pH 8時之穩定常數則分別為 $10^{5.8}$ 及 $10^{6.2}$ (由Hill Plot求得之K略高約為 $10^{6.6}$ 及 $10^{6.7}$)，顯示pH值為錯合穩定常數值之重要影響因素。

一、前 言

腐植質乃是自然水與土壤中常見之主要有機物質，其與自然土壤中的金屬結合所引起之污染問題，早已是土壤及地質學家所研究的課題之一。而在環境工程領域內，對腐植酸與金屬的錯合反應則另有一種看法；工廠排放出來之高濃度重金屬廢水，常污染自然水域，可能係因其與腐植質錯合，因而增加了溶解度，並減少重金屬氫氧化物之形成。至於腐植質與金屬結合能力的比較，Gjessi⁽¹⁾曾歸納出：同一組金屬對腐植酸之錯合能力乃隨原子序之增大而增大。本研究主要目的係在探求腐植酸與重金屬鉻及鋅錯合的穩定常數(Stability Constant)，並以四種不同的模式Scatchard Plot, Langmuir Plot, Double Reciprocal Plot, Hill Plot加以分析推求。

分離錯合離子及自由離子，係求取腐植酸與重金屬錯合穩定常數的重要步驟之一。Saar and Weber⁽²⁾曾提出一些方法藉以分離與黃酸(Fulvic Acid)錯合之金屬離子，包括：液相層析(Liquid Chromatography)、超過濾(Ultrafiltration)、平衡滲析(Equilibrium Dialysis)、離子選擇電極法(Ion-Selective Electrode Potentiometry)、氫離子電位法(Hydrogen-Ion Potentiometry)、Anodic Stripping Voltammetry及螢光法(Fluorescence)等。本研究採用平衡滲析法，乃因其整個化學平衡不易受干擾且水樣因

*國立成功大學環境工程研究所副教授

**國立成功大學環境工程研究所研究生

沒有錯合劑或電解質的加入而不會變質。但平衡滲析也有其存在的缺點，如金屬離子可能被膜所吸附⁽²⁾，水樣也可能被膜上殘留的污染物所污染⁽²⁾，亦可能無法完全分離。腐植酸分子量的測試以膠凝體過濾法 (Gel Filtration) 得之。

本研究分別在 pH 6 及 pH 8 求取腐植酸與鉻及鋅之穩定常數，以推定 pH 值變化對其之影響。

二、試驗材料及方法

平衡滲析試驗乃係藉滲析袋分離不同大小分子，其原理為袋內外因濃度差所引起之擴散而於小分子達到平衡後分析之。其材料及方法如下：

(一)材料

(1)滲析袋 (Dialysis Bags)：採用 1000 MWCO (Molecular Weight Cutoff) Spectra / Por 6 之滲析袋 (Spectrum Industries, Los Angeles, CA)。

(2)膠凝體 (Gel)：採用 Pharmacia Fine Chemicals 出品之 Sephadex G-75 Superfine，可求出分子量大小自 10,000 至 70,000 之間。

(3)率定之標準試劑 (Calibration Standards)：採用 Pharmacia Fine Chemicals 出品之低分子量率定之標準試劑。其特性如下：

蛋白質	分子量
ribonuclease A	13,700
chymotrypsinogen A	25,000
ovalbumin	43,000
albumin	67,000
blue dextran 2000	

(4)腐植酸貯存液：以美國 Aldrich 公司出品的 Humic Acid 配製。將 1 克的腐植酸加入於含 1 N NaOH 之 100 ml 的二段水中，攪拌數小時並待溶解後再稀釋成 1000 mg/l 的貯存液。

(5)鉻、鋅貯存液：分別將含鉻、鋅各 1 克之 $K_2Cr_2O_7$ 、 $ZnCl_2$ 加入於含 1N HNO_3 之 100 ml 的二段水中攪拌並待完全溶解後，再稀釋成 1000 mg/l 的貯存液。

(二)設備

(1)膠凝體的填充管：採用 Pharmacia 公司出版的 K 26 / 70 的填充管，其內直徑 26 mm，管長 70 cm。

(2)抽水機：採用 Pharmacia Peristaltic Pump P-1 抽水機。

(3)收集器：採用 Pharmacia FRAC - 100 的收集器。

(三)滲析袋之處理⁽³⁾

(1)滲析袋先浸沒於加溫後的二段水，然後反覆沖洗，以去除袋上的保護劑 (Preservatives)。

(2)然後，把沖洗乾淨的滲析袋浸沒於溫度 60°C 且 0.1 % Na_2S 的二段水約 15 分鐘。

(3)浸完 Na_2S 溶液後，以溫的二段水沖洗乾淨。

(4)再浸入於溫度 60°C 且含有 3 % H_2SO_4 的二段水約 5 分鐘。

- (5)再一次以溫的二段水沖洗乾淨。
- (6)最後把乾淨的滲析袋浸入二段水，等待使用。

四、滲析袋使用方法⁽³⁾

(1)將裝有 25 ml 0.001 M KNO₃ 的滲析袋浸入含重金屬與腐植酸之 500 ml 原水中，並使袋內外水位高相同。

(2)調整袋內外之 pH 一致。

(3)室溫下操作。

(4)經48小時的靜置後，在袋內採樣，以原子吸收光譜儀測定重金屬濃度，此濃度即為原水自由離子濃度。

(五)膠凝體過濾法之操作

(1)先估計即將填充的膠凝體體積。

(2)再計算所需之膠凝體乾重（每克 Sephadex G-75 Superfine 膠凝體膨脹後體積為15ml）。

(3)再將膠凝體緩慢加入於三倍，膠凝體膨脹後體積之緩衝液。

(4)靜置並膨脹24小時後，再充分攪拌使其懸浮。

(5)靜置且經20分鐘之沈降，再去除上層多餘之緩衝液。

(6)以吸管吸除雜質。

(7)再度使膠凝懸浮，並再調整緩衝液至適當濃度。

(8)填充管內先倒入 10 ~ 20 公分高之緩衝液。

(9)傾倒填充管約保持45度，再慢慢倒入膠凝體溶液以避克氣泡之生成。

(10)讓膠凝體自然壓密，且以緩衝液操作 1 至 2 天，使膠凝體穩定。

(11)穩定後，待緩衝液離膠凝體上層面約 1 公分左右後，緩慢加入 1 ml 的率定試劑或水樣。

(12)待率定試劑或水樣完全進入膠凝體內，迅速加入緩衝液約 5 公分高。

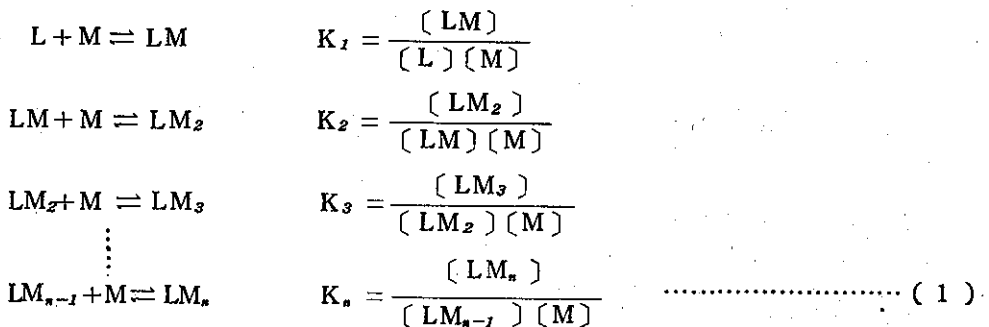
(13)調整抽送緩衝液的抽水機流速為 2 ~ 5 ml/cm²-hr。

(14)於收集器開始定時收集溶離液。

三、理論推導

前言中所述四種推求穩定常數的方法，Scatchard Plot、Langmuir Plot、Double Reciprocal Plot、Hill Plot 均係由畫圖去推求，以下是四種方法方程式的推導⁽⁴⁾。

在金屬 (M) 與腐植酸 (L) 之錯合反應中，由於腐植酸係高分子有機物質，因此將形成 LM、LM₂、LM₃、……、LM_n 等之錯合物，其反應式及穩定常數 K 之表示如下：



錯合程度可用形成函數 (Formation Function) ν 來表示。

$$\nu = \frac{\text{結合位置}}{\text{高分子化合物濃度}} = \frac{[M_s]}{[L_t]} = \frac{[LM] + 2[LM_2] + \dots + n[LM_n]}{L + [LM] + \dots + [LM_n]} \quad \dots (2)$$

M_s : 錯合金屬濃度

L_t : 總配合基 (Total Ligand) 濃度

ν 的物理意義係表示與配合基錯合的金屬平均數目。

為便於數據的整理，將(1)式代入(2)式而得(3)式。

$$\begin{aligned} \nu &= \frac{K_1[L][M] + 2K_1K_2[L][M]^2 + \dots + nK_1K_2 \dots K_n [L][M]^n}{[L] + K_1[L][M] + \dots + K_1K_2 \dots K_n [L][M]^n} \\ &= \frac{K_1[M] + 2K_1K_2[M]^2 + \dots + nK_1K_2 \dots K_n [M]^n}{1 + K_1[M] + \dots + K_1K_2 \dots K_n [M]^n} \quad \dots (3) \end{aligned}$$

(3)式即為著名的 Adair's Equation

M 表示自由金屬離子濃度，為總金屬離子濃度減去錯合金屬離子濃度： $M = M_t - M_s$

M_t : 總金屬離子濃度

如果配合基上的錯合位置數目是一致且獨立，則形成函數 ν 可以下式表示：

$$\nu = \frac{nK_o[M]}{1 + K_o[M]} \quad \dots (4)$$

K_o : 微視結合係數 (Microscopic Binding Constant)

當配合基上錯合位置數目並不一致，則 ν 如下所示

$$\begin{aligned} \nu &= \frac{n_1K_1[M]}{1 + K_1[M]} + \frac{n_2K_2[M]}{1 + K_2[M]} + \dots + \frac{n_jK_j[M]}{1 + K_j[M]} \\ &= \sum \frac{n_jK_j[M]}{1 + K_j[M]} \quad \dots (5) \end{aligned}$$

n_j : 第 j 種錯合位置數目

K_j : 第 j 種錯合穩定常數

(4)式經整理後可得

$$\frac{\nu}{M} = nK_o - \nu K_o \quad \dots (5)$$

此即為 Scatchard Plot 的第一種方程式，以 $\frac{\nu}{M}$ 為縱座標， ν 為橫座標，可得 $-K_o$ 為斜率，這樣便可求得 K_o 。

另外，定義 θ 為錯合位置數目佔全部位置數目的比率即

$$\theta = \frac{\text{錯合位置數目}}{\text{總位置}} = \frac{[M_s]}{n[L_t]} = \frac{\nu}{n} \quad \dots (6)$$

將(6)式代入(5)式可得

$$\frac{\theta}{M} = K_0 - \theta K_0 \quad \dots\dots\dots (7)$$

此為 Scatchard Plot 的第二種方程式，以 $\frac{\theta}{M}$ 為縱座標，以 θ 為橫座標，可得 $-K_0$ 為斜率，求得 K_0 。

Langmuir Plot 的方程式的推求可由(4)式整理

$$\nu = \frac{nK_0 [M]}{1 + K_0 [M]} \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$\frac{[M]}{\nu} = \frac{1 + K_0 [M]}{nK_0} \quad \dots\dots\dots (8)$$

$$\frac{[M]}{\nu} = \frac{[M]}{n} + \frac{1}{nK_0} \quad \dots\dots\dots (9)$$

(9)式即為 Langmuir Plot 的方程式，以 $\frac{[M]}{\nu}$ 為縱座標， $[M]$ 為橫座標， $\frac{1}{n}$ 為斜率， $\frac{1}{nK_0}$ 為截距，求得截距後，將可求得 K_0 。

另外，由(2)式中 $\nu = \frac{M_b}{L_t}$ 代入(9)式，可得

$$\frac{M}{M_b} = \frac{M}{nL_t} + \frac{1}{nL_t K_0} \quad \dots\dots\dots (10)$$

(10)式即為 Langmuir Plot 的第二種方程式，以 M/M_b 為縱座標， M 為橫座標， $1/nL_t$ 為斜率， $1/nL_t K_0$ 為截距，求得截距後，便可得 K_0 。

Double Reciprocal 的方程式的求法，亦是由(4)式整理而得，

$$\nu = \frac{nK_0 [M]}{1 + K_0 [M]} \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$\begin{aligned} \frac{1}{\nu} &= \frac{1 + K_0 [M]}{nK_0 [M]} \\ &= \frac{1}{n} + \frac{1}{nK_0 [M]} \quad \dots\dots\dots (11) \end{aligned}$$

(11)式即為 Double Reciprocal 的方程式，同樣地，如果 ν 以 M_b/L_t 表示時，代入(11)式得

$$\frac{1}{M_b} = \frac{1}{nL_t} + \frac{1}{nL_t K_0 M} \quad \dots\dots\dots (12)$$

(11)、(12)式即為 Double Reciprocal 之方程式，分別以 $1/\nu$ 及 $1/M_b$ 為縱座標， $1/M$ 為橫座標，可求得 K_0 。

當一個錯合位置被佔，應可加速下一個位置的錯合，因此 n 個金屬之錯合可視為一步完成，這是 Hill Plot 的基本理論⁽⁴⁾，即

$$L + nM \stackrel{K^*}{\rightleftharpoons} M_n L \quad \dots\dots\dots (13)$$

於是 $\nu = \frac{nK^* [M]^n}{1 + K^* [M]^n} \quad \dots\dots\dots (14)$

$$\theta = \frac{K^* [M]^n}{1 + K^* [M]^n} \quad \dots\dots\dots (15)$$

$$\frac{\theta}{1 - \theta} = K^* [M]^n$$

$$\log \left(\frac{\theta}{1 - \theta} \right) = \log K^* + n \log M \quad \dots\dots\dots (16)$$

(16)式即為 Hill Plot 的方程式，以 $\log \left(\frac{\theta}{1 - \theta} \right)$ 為縱座標，以 $\log M$ 為橫座標， $\log K^*$ 即為截距並可求得 K^* ，必須注意的是 $K^* = K_1 K_2 K_3 K_4 \dots K_n$ ， $K_1, K_2, K_3 \dots K_n$ 由(1)式所定義。

把以上四種方法整理成表，如下表所示⁽⁴⁾：

方法	方程式	座標	
		Y	X
Scatchard	$\nu/M = nK_0 - \nu K_0$ 或 $\theta/M = K_0 - \theta K_0$	ν/M θ/M	ν θ
Reciprocal	$M/\nu = M/n + 1/nK_0$ 或 $M/M_0 = M/nL_0 + 1/nL_0 K_0$	M/ν M/M_0	M M
Double	$1/\nu = 1/n + 1/nK_0 M$	$1/\nu$	$1/M$
Reciprocal	或 $1/M_0 = 1/nL_0 + 1/nL_0 K_0 M$	$1/M_0$	$1/M$
Hill	$\log \left(\frac{\theta}{1 - \theta} \right) = \log K^* + n \log M$	$\log \frac{\theta}{1 - \theta}$	$\log M$

四、結果與討論

(一) 腐植酸分子量之測定

在膠凝體過濾法測定腐植酸之試驗完成後，測得總填充床體積 (V_t)、空隙體積 (V_0) 及腐植酸溶離體積 (V_e) 分別為 313 ml、112 ml 及 180 ml，可求得腐植酸之 K_{av} ($K_{av} = V_e - V_0 / V_t - V_0$) 值為 0.34，再由 Sephadex G-75 Superfine 之低分子量率定曲線圖，查出分子量為 20000。

(二) Cr(VI)、Zn(II) 與腐植酸之錯合穩定常數 (K)

Cr(VI)、Zn(II) 與腐植酸之 K 值的測定係分別在配製成 $10^{-6} \sim 10^{-5}$ M 鉻、 2×10^{-6} M 腐植酸及 $5 \times 10^{-5} M \sim 10^{-4} M$ 鋅、 10^{-6} M 腐植酸之原水中，藉平衡滲析法試驗所得之數據經由四種圖解法繪如圖一至圖四後，可據以求得。當 pH 為 6 及 8 時，該兩重金屬之 K 值經計

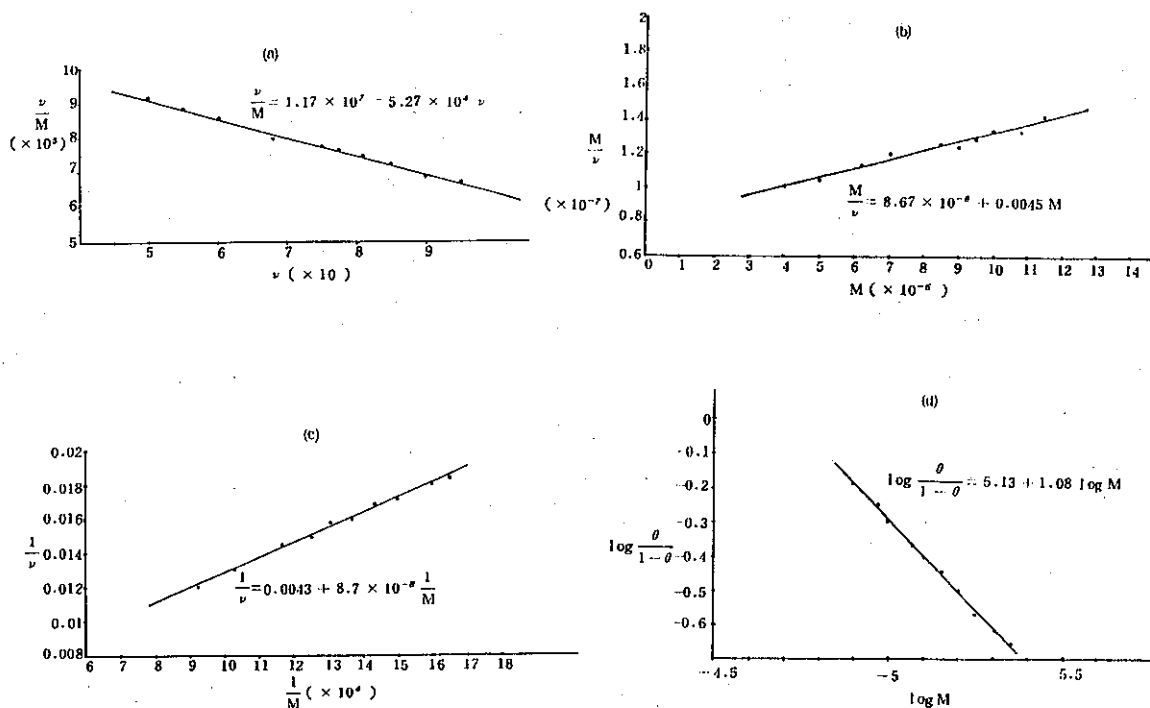
算並彙整列如下表：

重金屬	N*	pH	Scatchard Plot之 logK	Langmuir Plot之 logK	Double Reciprocal Plot之 logK	Hill Plot之 log K
Cr(VI)	222	6	4.72	4.70	4.69	5.13
Cr(VI)	264	8	5.19	5.17	5.20	5.64
Zn(II)	1	6	5.77	5.80	5.70	6.57
Zn(II)	2**	8	6.17	6.18	6.10	6.69

* N 表示每個腐植酸分子之結合位置數目

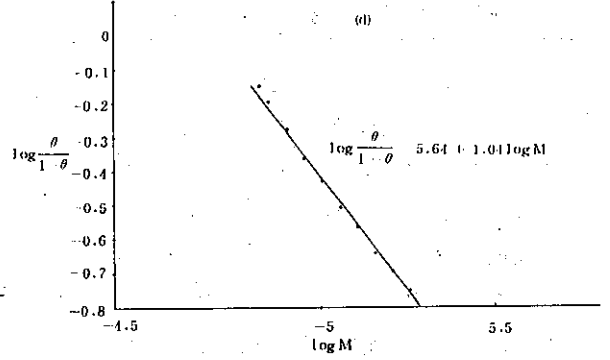
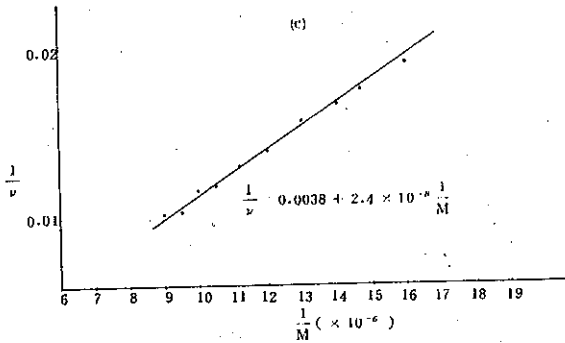
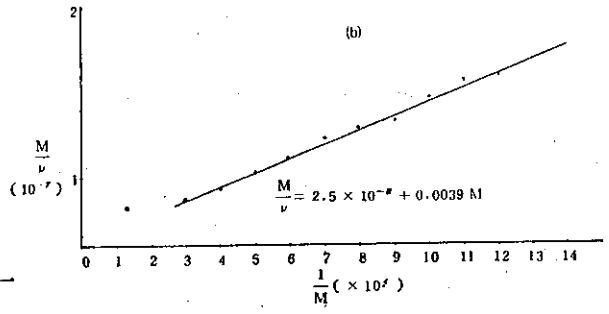
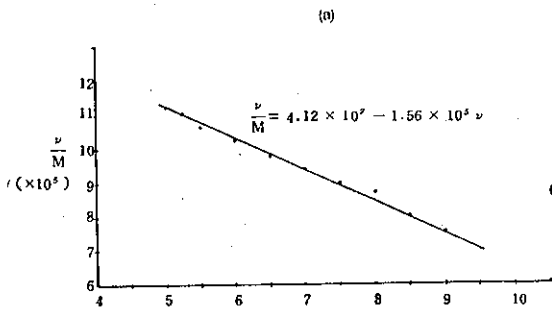
** 此值約 1.6 以 2 來計

上表結果中之 Zn(II) 與 Aldrich 公司出品之腐植酸之穩定常數比 Morel⁽⁵⁾ 一書中所整理的為大。由表中可發現 N 隨 pH 值之增加而增加，K 值也變大，與 Shapiro⁽⁶⁾ 所述一致，Shapiro 指出：腐植酸之錯合容量隨 pH 值之增大而增加，主要原因乃因為腐植酸在 pH 值升高時會解離出更多的酚基和羧基，使得可提供電子對的配位基增加。上表亦可明顯看出由 Hill Plot 所得之穩定常數比 Scatchard Plot 求出者高，由 Fitch⁽⁴⁾、Sanders⁽⁷⁾ 之報告中指出：Hill Plot 求得之結合位置乃係巨視 (Macroscopic)，可信度較差，而 Scatchard Plot 所得之結合位置因係微視 (Microscopic)，可信度較佳。



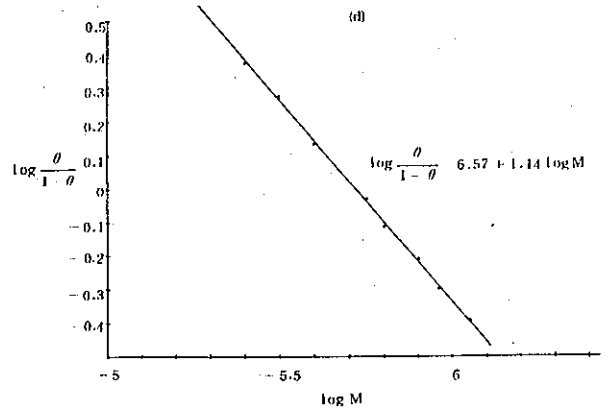
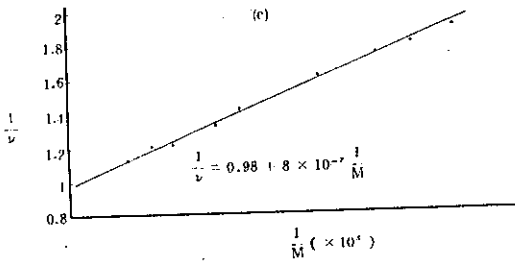
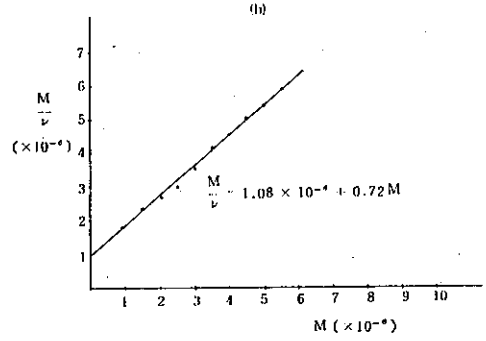
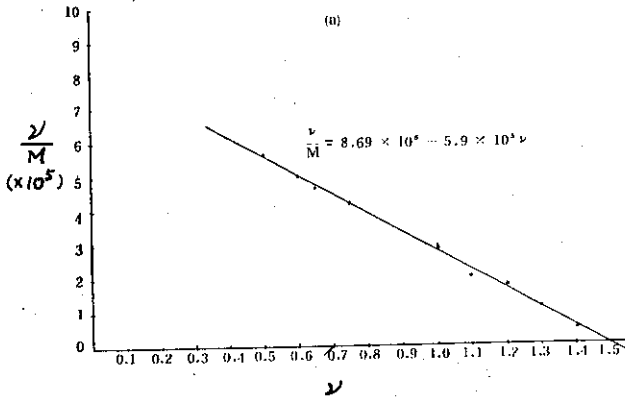
圖一 pH 為 6 時之 Cr(VI) 與腐植酸錯合平衡常數之圖解求法

- (a) Scatchard Plot
- (b) Langmuir Plot
- (c) Double Reciprocal Plot
- (d) Hill Plot



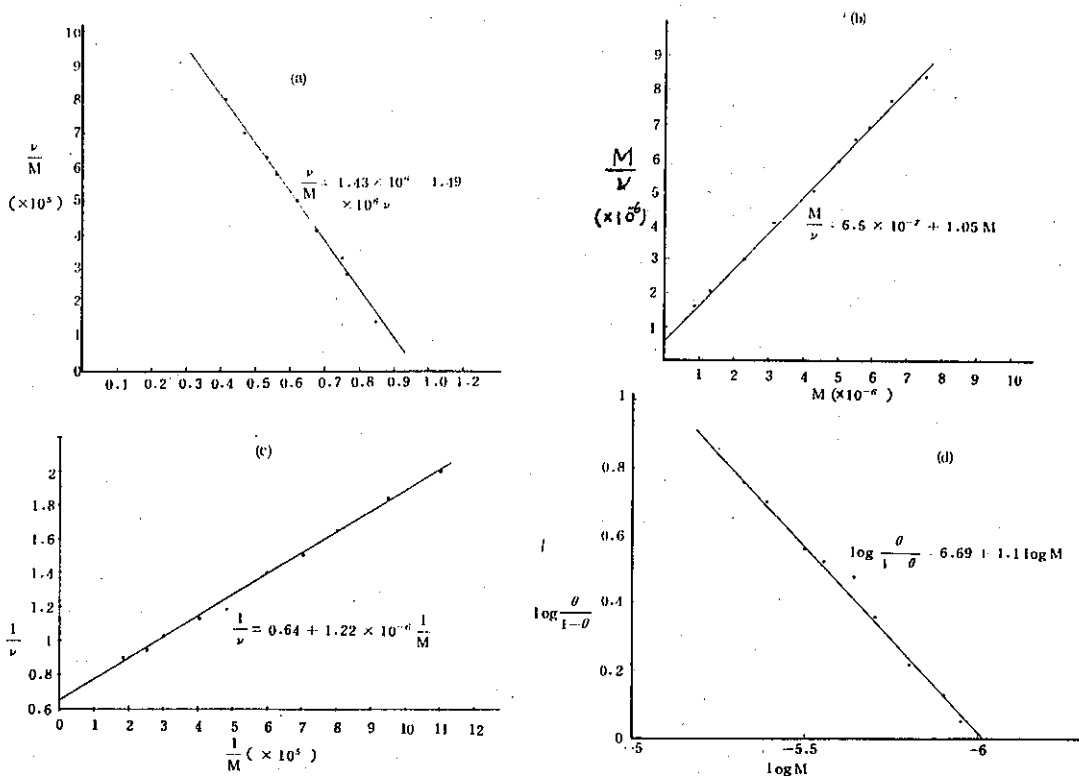
圖三 pH 為 8 時之 Cr(VI) 與腐植酸錯合平衡常數之圖解求法

- (a) Scatchard Plot (b) Langmuir Plot
(c) Double Reciprocal Plot (d) Hill Plot



圖三 pH 為 6 時之 Zn(II) 與腐植酸錯合平衡常數之圖解求法

- (a) Scatchard Plot (b) Langmuir Plot
(c) Double Reciprocal Plot (d) Hill Plot



圖四 pH為8時之Zn(II)與腐植酸錯合平衡常數之圖解求法

- (a) Scatchard Plot (b) Langmuir Plot
 (c) Double Reciprocal Plot (d) Hill Plot

五、結 論

(一) Cr(VI) 與腐植酸在N* 為 222，pH 為 6 時，四種穩定常數之 log 值分別為 S* 4.72，L* 4.70，D* 4.69，H* 5.13。

(二) Cr(VI) 與腐植酸在N為 264，pH 為 8 時，四種穩定常數之 log 值分別為 S. 5.19，L. 5.17，D. 5.20，H. 5.64。

(三) Zn(II) 與腐植酸在N為 1，pH 為 6 時，四種穩定常數之 log 值分別為 S. 5.77，L. 5.80，D. 5.70，H. 6.57。

(四) Zn(II) 與腐植酸在N為 2，pH 為 8 時，四種穩定常數之 log 值分別為 S. 6.17，L. 6.18，D. 6.10，H. 6.69。

(五) pH 值增加時，因每個腐植酸分子結合位置隨著增加 (N 增加)，致穩定常數 K 愈大。

(六) Zn(II) 與腐植酸之穩定常數 K 比 Cr(VI) 與腐植酸錯合穩定常數大約 10 倍。

(七) 由 Hill Plot 求出之穩定常數比 Scatchard Plot 求得的穩定常數大。

* : N : 表示每個腐植酸分子的結合位置數目

S : Scatchard Plot

L : Langmuir Plot

D : Double Reciprocal Plot

H : Hill Plot

參考文獻

- (1) Gjessi , E.T. , "Properties and Characteristics," in Physical and Chemical Characteristics of Aquative Humus , Ann Arbor Science , Ann Arbor, Michigan.
- (2) Saar , R.A.&Weber , J.H. , " Fulvic Acid : Modifier of Metal - Ion Chemistry," Environ. Sci. Technol. , 16 : 9 : 510 A ~ 517A, (Sep. 1982)
- (3) Truitt, R.E. & Weber, J.H. , "Determination of Complexing Capacity of Fulvic Acid for Copper(II) and Cadmium(II) by Dialysis Titration," Anal. Chem. , 53 : 2 : 337 - 342 , (Feb. 1981)
- (4) Fitch, A. & Stevenson , F.J. , " Comparison of Models for Determining Stability Constants of Metal Complexes With Humic Substances , " Soil Sci. Soc. Am. J. , Vol. 48 , PP. 1044 - 1050 , (1984)
- (5) Morel, F.M. M. , " Complexation , " Principles of Aquatic Chemistry , PP. 290 - 291 , (1983)
- (6) Shapiro , J. , " Effect of Yellow Acid on Iron and other Metals in Water , " Jour. AWWA , 56 : 8 : 1062 , (Aug. 1964)
- (7) Sanders , J.R. , " The Use of Adsorption Equations to Describe Copper Complexing by Humified Organic Matter," J. Soil Sci. . 31 : 633 - 641, (1980)

誌 謝

在研究進行期間，本所研究生高維德同學在 Gel Filtration 測定分子量技術方面熱心協助，在此特別致謝。