

中国海洋大学教材建设基金资助

山东省研究生教育质量提升计划建设项目(SDYK16004)资助

化学海洋学实验

主 编 谭丽菊

副主编 李 铁 祝陈坚

中国海洋大学出版社

· 青 岛 ·

序

PREFACE

“化学海洋学实验”是“化学海洋学”理论课程的实践环节,是配合理论课程使用又相对独立的一门课程。

化学海洋学实验与其他化学实验相比,有不同的特点。实验内容面向海洋现场与过程,综合性强,部分实验以开放性、设计性的方式开设。书中设计的实验克服了海洋现场的现象与过程不易在实验室内或较短的实验周期内实现的难题。从海洋中的化学平衡和物质存在的形态和形式入手,综合物理化学实验和仪器分析实验的手段,形成了该课程的实验框架,比较全面地介绍了化学海洋学课程所包含的理论以及实际测试和计算方法。本书主要包括六大部分,分别为:海水主要成分(实验一、二),海水中的微量元素(实验三、四、五),海洋中碳的化学(实验六至十),海洋化学中的生物作用(实验十一至十三),海洋化学中的界面作用(实验十四至二十一),海水的物理化学性质(实验二十二至二十五);实验涵盖了海洋体系各个部分和各组分的相关理论和研究方法,比较全面地介绍了海洋化学的理论和实践体系。其中有些实验过程较长,用“*”标注,适用于海洋生态和化学环境评估及创新性设计实验,可根据实验室的具体条件选做。

中国海洋大学已有40余年开设本科化学海洋学实验的历史,就相关实验内容积累了丰富的教学经验。在多年来编写的内部讲义基础上,不断扩充更新,结合了海洋化学领域的最新研究成果,逐步形成了完整的实验教学体系,现编撰成书。本书凝聚了中国海洋大学两代海洋化学教师的智慧和心血,采纳了多名专业人员的意见和建议,历经多次修改。本书

编者都是海洋化学专业的骨干教师,长期从事相关专业的教学和科研工作。在编写该书过程中,各位编者各负其责,分工合作。其中,谭丽菊主要负责实验五、十、十一至十四、十六至二十二、二十四至二十五的编写和全书的统稿工作;李铁主要负责实验二、六、七、八、九、十五和二十三的编写工作,并对其他实验提出了意见和建议;祝陈坚主要负责实验一、三、四的编写工作;另外,在本书编写过程中,还得到了中国海洋大学化学化工学院王江涛教授、刘春颖教授、张洪海副教授等多位专家的指点和帮助。中国海洋大学为该书的出版提供了经费支持。在此,对所有为该书的成书及出版给予帮助和做出贡献者表示诚挚的谢意。

本书读者为高等院校海洋科学以及相关专业的本科生、研究生以及各海洋研究所的海洋工作者。限于水平,书中难免有纰漏,请广大读者批评指正。

编者

2018年4月

目 录

CONTENTS

第一部分 海水的主要成分	(1)
实验一 电位法测定氟镁离子对缔合常数	(2)
实验二 海水组成恒定比及其变化(以钙为例)	(11)
第二部分 海水中的微量元素	(19)
实验三 海水中锌的羟基络合物	(20)
实验四 海水中汞的存在形态	(31)
实验五 海水络合容量	(37)
第三部分 海洋中碳的化学	(43)
实验六 电位法和分光光度法测定海水 pH	(45)
实验七 电位滴定法测定海水总碱度及碳酸盐体系参数研究	(54)
实验八 海水碳酸盐体系综合实验	(73)
实验九 海水碳酸钙饱和度	(75)
实验十 海水中碳的存在形态	(90)
第四部分 海洋化学中的生物作用	(105)
实验十一 利用叶绿素 a 和同化系数估算初级生产力	(106)
实验十二 BOD ₅ 的测定及海水自净能力的估算*	(122)
实验十三 海水中氮的形态及转化*	(131)
第五部分 海洋化学中的界面作用	(137)
实验十四 铜在固体颗粒物上的吸附*	(138)

实验十五	河口区磷酸盐的缓冲现象*	(143)
实验十六	海水中沉积物对水体中磷的影响	(148)
实验十七	海水和沉积物间隙水的氧化-还原电位	(152)
实验十八	微量活性气体在海水和大气界面的分配	(156)
实验十九	海洋沉积物中的石油烃	(160)
实验二十	海洋沉积物中汞与有机质的相互作用*	(171)
实验二十一	河口区铁的行为*	(176)
第六部分	海水的物理-化学性质	(185)
实验二十二	海水的饱和蒸汽压	(186)
实验二十三	海水的酸碱缓冲容量*	(190)
实验二十四	离子水化数的测定	(193)
实验二十五	海水中的氢离子活度系数	(197)
参考文献		(201)

第一部分 海水的主要成分

海水的主要成分,或称海水常量元素,是指海水中含量大于1 mg/kg的成分。通常指 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Sr^{2+} 5种阳离子, Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 Br^- 、 HCO_3^- 和 F^- 5种阴离子,以及主要以分子形式存在的 H_3BO_3 ,共11种成分,其总量占海水总盐分的99.9%。由于这些成分在海水中的含量较大,各成分浓度间的比值近似恒定,生物活动对其浓度影响很小,性质比较稳定,在海水中的逗留时间较长($10^{5.7} \sim 10^8$ a之间),是海水中的保守成分。

海水主要成分以自由离子和离子对的形式存在。探讨其在水体中的存在形式,是针对海水主要成分的研究内容之一。本部分共设计两个实验:其一以海水中的主要成分氟和镁为例,介绍测定离子对形成常数的一种典型方法;其二,以钙元素为例,对主要成分氟度比值稳定性的影响因素进行探讨。

实验一 电位法测定氟镁离子对缔合常数

一、概述

离子缔合(离子对的形成)是影响海水主要成分存在形式的主要因素。离子对缔合常数是研究海水主要成分存在形式的基本参数之一。

本实验以海水中的 F^- 和 Mg^{2+} 为例,介绍海水中离子对形成常数的测定方法。在正常大洋水中, F^- 约有一半以自由离子的形式存在,其他的为各种形式的缔合物。在形成的离子对中,以 MgF^+ 为主, $[MgF^+]/\sum F$ 可达 40% 以上。要了解 Mg^{2+} 和 F^- 的缔合情况,首先需要知道 MgF^+ 的离子对形成常数。本实验介绍 MgF^+ 离子对缔合常数的测定方法。

二、目的要求

掌握离子选择电极的使用方法;掌握电位法测定离子对形成常数的原理和计算方法;了解海水主要成分存在形式的研究方法。

三、实验原理

当向含有氟离子的溶液中加入镁离子时,镁离子与氟离子形成离子对,见式(1-1):



形成离子对后,游离氟离子浓度降低,各离子浓度关系满足式(1-2):

$$K'_{MgF^+} = \frac{[MgF^+]}{[Mg^{2+}][F^-]} \quad (1-2)$$

式中, K'_{MgF^+} 为离子对的表现形成常数;

[] 表示各成分的体积物质的量浓度。

当总氟 $\sum F$ 浓度不变时, $[F^-]$ 随 $[Mg^{2+}]$ 的增加而减少,用氟离子选择电极测定溶液中的 $[F^-]$,当 pH 在 5.5~6.0 时,可避免溶液中 OH^- 对氟电极的干扰,氟电极响应电位与 $[F^-]$ 的关系满足 Nernst 公式:

$$\begin{aligned} E &= E^0 - \frac{RT \ln 10}{F} \lg a_{F^-} \\ &= E^0 - \frac{RT \ln 10}{F} \lg f_{F^-} \cdot [F^-] \\ &= E^0 - \frac{RT \ln 10}{F} \lg f_{F^-} - \frac{RT \ln 10}{F} \lg [F^-] \end{aligned}$$

$$= E^{\circ'} - \frac{RT \ln 10}{F} \lg [F^-] \quad (1-3)$$

$$\text{令 } S = \frac{RT \ln 10}{F}, pF = -\lg [F^-]$$

式(1-3)可简化为:

$$E = E^{\circ'} + SpF \quad (1-4)$$

根据测得的电位值,按式(1-4)计算出每次加入 Mg^{2+} 后游离氟离子的浓度。然后根据式(1-2)即可求出 MgF^+ 离子对表观形成常数 K'_{MgF^+} 。

四、仪器和药品

1. 仪器

- (1) PZ91/2 数字电压表, 1 台;
- (2) 1KF-WERKE 搅拌器, 1 台;
- (3) 上海雷磁 PF-1-01 氟离子选择电极, 1 支;
- (4) 217 型饱和甘汞电极, 1 支;
- (5) 50 cm³ 大肚移液管, 1 支;
- (6) 10 cm³ 移液器, 2 支;
- (7) 100 cm³ 塑料烧杯, 1 只;
- (8) 10 cm³ 移液器枪头, 若干。
- (9) 洗瓶、洗耳球、搅拌子、镊子, 各 1。

2. 试剂及配制方法

- (1) 试剂: 0.7 mol/dm³ NaClO₄ 溶液。

配制方法: 称取 196.644 g NaClO₄ · H₂O 于烧杯中, 加高纯水溶解, 转移入 2 000 cm³ 容量瓶中, 用高纯水定容, 使用前过滤。

- (2) NaClO₄ - NaF 溶液 (0.7 mol/dm³ - 1 mmol/dm³): 2 000 cm³。

称取 196.644 g NaClO₄ · H₂O 于烧杯中, 加高纯水溶解, 转移入 2 000 cm³ 容量瓶中, 加入 0.1 mol/dm³ 的 NaF 溶液 20 cm³, 用高纯水定容, 使用前过滤。

- (3) Mg(ClO₄)₂ - NaF 溶液 (0.233 mol/dm³ - 1 mmol/dm³): 2 000 cm³。

称取 104.012 g 无水 Mg(ClO₄)₂ 于烧杯中, 用高纯水溶解, 转移入 2 000 cm³ 容量瓶中, 加入 0.1 mol/dm³ 的 NaF 溶液 20 cm³, 用高纯水定容, 使用前过滤。

- (4) NaF 溶液 (0.1 mol/dm³): 500 cm³。

称取 4.199 g NaF 于烧杯中, 用高纯水溶解后, 转移入 1 000 cm³ 容量瓶中, 用高纯水定容, 转移入聚乙烯瓶中保存。

- (5) KNO₃ 溶液 (3 mol/dm³): 200 cm³。

称取 303.0 g 优级纯 KNO₃ 于烧杯中, 用高纯水溶解, 转移入 1 000 cm³ 容量瓶中, 用高纯水定容, 转移入聚乙烯瓶中保存。

五、实验步骤

1. 仪器安装

在该实验中,工作电极为氟离子选择电极,参比电极为 217 型带盐桥饱和甘汞电极。将 2 支电极固定在橡胶塞上,橡胶塞置于反应池顶端,用于密封反应体系。反应池为 100 cm^3 塑料烧杯(预先放入搅拌子)。首先在甘汞电极的盐桥内加入适量 $3\text{ mol/dm}^3\text{ KNO}_3$ 溶液,然后将 2 个电极分别与数字电压表的正负极连接。其中,氟离子选择电极连接正极,甘汞电极连接负极。

2. 清洗

用去离子水将反应池清洗干净,同时清洗电极对、搅拌子和橡胶塞。反应池中放入约 70 cm^3 去离子水,放入搅拌子,搅拌约 5 min。倒掉蒸馏水,用洁净滤纸吸干电极对、搅拌子和反应池杯壁上的水分。

3. 电极标定

用移液管移取 $50\text{ cm}^3\text{ NaClO}_4$ 和 NaF 混合溶液到反应池中,开始搅拌,测定溶液的电位值,待示数稳定后,在表 1-1 中记录电位值。用移液器移取 $10.00\text{ cm}^3\text{ NaClO}_4$ 溶液放入反应池中,记录稳定后的电位值,同样填入表 1-1 中。继续加入 NaClO_4 溶液并测定电位值,共添加 4 次,一共测得 5 个电位值,填入表 1-1 中。

4. 清洗

将反应池中的溶液倒掉,用高纯水清洗干净,同时清洗电极对、搅拌子和橡胶塞。反应池中放入约 70 cm^3 去离子水,放入电极对、搅拌子和橡胶塞,搅拌约 5 min。倒掉高纯水,用洁净滤纸吸干各部件水分。

5. 测定

移取 $50.00\text{ cm}^3\text{ NaClO}_4$ 和 NaF 的混合溶液于反应池中,测定电位值,用移液器移取 $10.00\text{ cm}^3\text{ Mg}(\text{ClO}_4)_2$ 和 NaF 的混合溶液放入反应池中,记录稳定后的电位值,填入表 1-2 中。继续加入该混合溶液并记录电位值,共添加 4 次,一共测得 5 个电位值,填入表 1-2。

6. 重新清洗反应池和各部件,步骤同 2

7. 结束

取下电极,用洁净滤纸吸干水分,放入电极盒中。关闭仪器电源,实验结束。

六、结果计算

1. 电极标定

计算每次添加 NaClO_4 溶液后游离 F^- 的浓度 $[\text{F}^-]$,连同相应的电位值填入表 1-1 中。以 E 对 pF 作图,求斜率 S 和截距 E' 。

表 1-1 电极标定测定

 $t = \underline{\hspace{2cm}} \text{ } ^\circ\text{C}, S_{\text{理论}} = \underline{\hspace{2cm}}$

$V_{\text{NaClO}_4} (\text{cm}^3)$	$E(\text{mV})$	$[\text{F}^-](\text{mol}/\text{dm}^3)$	pF
0			
10			
20			
30			
40			
$S_{\text{测定}} =$			$E'_0 =$

在此, t 为室温, 即反应体系的温度, 在实验之前用温度计测得。 $S_{\text{理论}}$ 根据公式 $S = \frac{RT \ln 10}{F}$ 计算得到。其中, R 取值 8.314, T 为室温的绝对温度, F 值为法拉第常数。为准确起见, 后面的计算用理论值。

2. 形成常数的计算

根据测得的电位值, 根据公式(1-4)计算体系中 $[\text{F}^-]$, 然后根据式(1-5)和(1-6)计算其他离子的浓度:

$$[\text{MgF}^+] = \sum \text{F} - [\text{F}^-] \quad (1-5)$$

$$[\text{Mg}^{2+}] = \sum \text{Mg} - [\text{MgF}^+] = \sum \text{Mg} - (\sum \text{F} - [\text{F}^-]) \quad (1-6)$$

将计算得到的 pF、 $[\text{F}^-]$ 、 $[\text{Mg}^{2+}]$ 和 $[\text{MgF}^+]$, 填入表 1-2 中, 根据公式(1-2)计算形成常数。

表 1-2 测定时各参数的数值

$V_{\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2}$ (cm^3)	$E(\text{mV})$	$\sum \text{Mg}$ (mol/dm^3)	pF	$[\text{F}^-]$ (mol/dm^3)	$[\text{Mg}^{2+}]$ (mol/dm^3)	$[\text{MgF}^+]$ (mol/dm^3)	K'_{MgF^+}
0							
10							
20							
30							
40							
K'_{MgF^+} 平均值 =							

最后求得 K'_{MgF^+} 的平均值, 计算相对误差。

七、问题讨论

(1) 已知 $K'_{\text{NaF}^0} = 0.045 \pm 0.006$ (温度 25°C , 离子强度 $I = 0.7 \text{ mol/dm}^3$) 如果考虑 NaF 离子对, 那么对 K'_{MgF^+} 有何影响?

(2) 在本实验中, 为什么要用较高浓度的 NaClO_4 溶液做底液?

(3) 氟离子选择电极的工作原理是怎样的?

(4) 查阅文献, 查得相同温度条件下的理论形成常数, 计算方法误差并分析原因。

附录 1.1 氟离子选择电极(工作电极)

离子选择电极又称膜电极,该电极的特点为:仅对溶液中特定的离子有选择性响应,其关键是一个称为选择膜的敏感元件。敏感元件可以是单晶、混晶、液膜、功能膜及生物膜等。离子选择电极法的特点是:①测定的是溶液中特定离子的活度而不是总浓度;②使用简便迅速,应用范围广,尤其适用于对碱金属、硝酸根离子等的测定;③不受试液颜色、浊度等的影响,特别适用于水质连续自动监测和现场分析。目前,pH和氟离子的测定所采用的离子选择电极法已定为标准方法,水质自动连续监测系统中,有10多个项目采用离子选择电极法。

氟电极的敏感膜为掺有 EuF_2 的 LaF_3 单晶切片,其结构如图1-1所示。其内参比电极为 Ag-AgCl 电极,内参比溶液为 0.10 mol/dm^3 的 NaCl 和 0.10 mol/dm^3 的 NaF 混合溶液(F^- 用来控制膜内表面的电位, Cl^- 用以固定内参比电极的电位)。

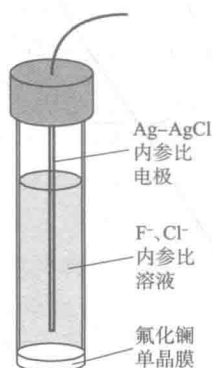


图 1-1 氟离子选择电极结构图

其工作原理为: LaF_3 的晶格中有空穴,在晶格上的 F^- 可以移入晶格邻近的空穴而导电。对于一定的晶体膜,离子的大小、形状和电荷决定其是否能够进入晶体膜内,故膜电极一般都具有较高的离子选择性。当氟电极插入到含有 F^- 的溶液中时, F^- 在晶体膜表面进行交换。25℃时,有:

$$E_{\text{膜}} = K - 0.059 \lg a_{\text{F}^-} = K + 0.059 \text{pF}$$

该电极需要在pH为5~7之间使用,pH高时,溶液中的 OH^- 与 LaF_3 晶格膜中的 F^- 交换,pH较低时,溶液中的 F^- 生成 HF 或 HF_2^- 。

使用过程的注意事项:

- (1) 电极第一次使用之前需要活化, 方法为: 在低浓度(10^{-6} 或 10^{-5} mol/dm³) 的 F⁻ 溶液中浸泡 30 min;
- (2) 电极使用过程中, 不能一直浸泡在溶液中, 否则单晶膜会脱落;
- (3) 由于单晶膜比较脆弱, 用滤纸擦拭时, 不要碰到膜表面, 只需将水滴吸走即可。

附录 1.2 饱和甘汞电极(参比电极)

饱和甘汞电极为实验室常用参比电极,常用的型号为 217 型和 222 型,外观如图 1-2 所示,结构如图 1-3 所示。

半电池为:



电极反应为:



使用前用蒸馏水冲洗,用洁净滤纸吸干后放入待测溶液。使用时应注意:

- (1) 使用前应取下电极下端口及上侧加液口的小胶帽,不用时应及时戴上。
- (2) 电极内饱和 KCl 溶液的液位应以浸没内电极为度,不足时要补充。
- (3) 为了保证内参比溶液是饱和的,电极下端要保持少量的 KCl 晶体存在,否则要从加液口补加。
- (4) 玻璃弯管处如有气泡,将引起电路短路或仪器读数不稳定,使用前应检查并及时排除气泡。
- (5) 使用前要检查电极下端陶瓷芯或玻璃砂芯毛细孔确保畅通。方法是先将电极外部擦干,然后将洁净滤纸紧贴电极下端口片刻,若有湿印则证明畅通。
- (6) 电极在使用时应垂直置于待测试液中,内参比溶液的液面应比待测溶液的液面稍高,以防止待测试液渗入电极内。
- (7) 饱和甘汞电极在温度改变时常有滞后效应,因此不宜用在温度变化较大的环境中。在实验一和实验六中,使用了双盐桥型电极,加置盐桥可减小由于温度变化而引起的电位漂移。
- (8) 饱和甘汞电极在 80℃ 以上电位值不稳定,这时应该改用银/氯化银电极。
- (9) 当待测溶液中含有 Ag^+ 、 S^{2-} 、 Cl^- 及 ClO_4^- 等物质时,应加置 KNO_3 溶液盐桥。本实验由于有 ClO_4^- , 因此盐桥中使用的是 3 mol/dm^3 的 KNO_3 溶液。

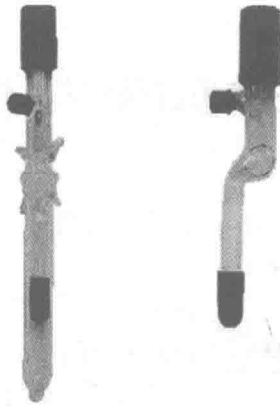
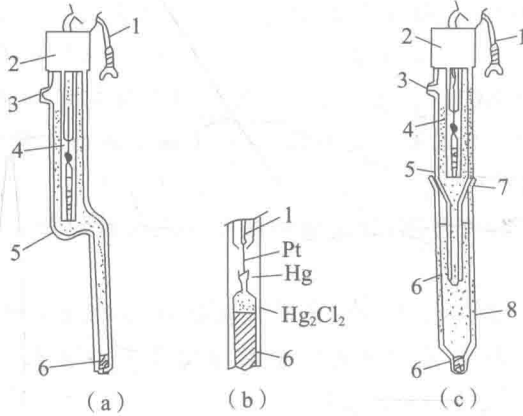


图 1-2 217 型和 222 型饱和甘汞电极



(a) 单盐桥型 (b) 电极内部结构 (c) 双盐桥型
 1—导线；2—绝缘帽；3—加液口；4—内电极；5—饱和 KCl 溶液；
 6—多孔性物质；7—可卸盐桥磨口套管；8—盐桥内充液。

图 1-3 222 型和 217 型饱和甘汞电极各部分示意图

实验二 海水组成恒定比及其变化(以钙为例)

一、概述

海水主要成分具有近似的组成恒定比关系,即:海水的总含盐量或盐度是可变的,但主要成分浓度之间的比值几乎保持恒定。

海水组成恒定性具有重要的意义:(1)在一定的温度及压力条件下,海水的一系列物理化学性质主要决定于海水的总含盐量。由于海水主要成分具有恒定性的特点,海水的总含盐量最初由测定某一主要成分而间接求出;(2)海水的物理化学性质与海水某一主要成分之间也存在着定量关系,例如海水化学中涉及的许多经验公式,都是通过海水的氯度来确定的,从而为海洋科学工作提供了方便。

测定海水主要成分的目的一般是研究其氯度比值(或盐度比值)的(局部)变化或孔隙水分析,要求分析方法具有约 $\pm 0.15\%$ 的准确度。近岸海水因受到陆地径流输入的影响,一些主要成分的氯度比值会升高。

海水主要成分的测定一般采用容量法或重量法。为提高精密度和准确度,多采用光度滴定或电位滴定法。在对准确度要求不高的情况下,可采用火焰分光光度法、原子吸收分光光度法、离子色谱法和离子选择电极法等。为提高海水中钙、镁、硫酸根等的测定准确度,还可采用离子交换树脂进行纯化。

本实验以钙为例,选用近岸和远海等不同的海水样品,测定其中的钙离子浓度和氯度,计算钙氯比值,讨论近岸水体钙氯比值可能受到的影响。

二、实验目的

掌握海水中钙离子的测定方法;测定不同水体的钙氯比值,比较它们的差异并讨论影响因素。

三、实验原理

采用 EGTA 络合滴定法测定海水中钙离子的浓度。

螯合剂 EGTA(乙二醇二乙醚二胺四乙酸, $C_{14}H_{24}N_2O_{10}$)对钙离子具有选择性($\lg K_{Ca} = 11.0$;竞争离子 Mg^{2+} 的 $\lg K_{Mg} = 5.2$),金属指示剂 GBHA(乙二醛双缩-2-羟基苯胺, $C_{14}H_{12}N_2O_2$)在 $pH = 11.7$ 的硼砂缓冲溶液中与 Ca^{2+} 形成红色螯合物,萃取到正丁醇中观察滴定终点的颜色变化(变为无色)。通过消耗滴定剂的

量计算待测水体中钙离子的含量。

海水氯度的测定见附录 2.2。

四、试剂和仪器

1. 试剂

(1) 0.1 mol/dm³ EGTA 贮备液:称取 38.0 g EGTA 固体,溶解在 300 cm³ 浓度为 1 mol/dm³ 的氢氧化钠溶液中,稀释到 1 000 cm³。

(2) 0.01 mol/dm³ EGTA 使用液(盐度小于 20 时,其浓度为 0.005 mol/dm³):取 100 cm³ 贮备液,稀释到 1 000 cm³。

(3) 硼砂缓冲溶液(0.05%):准确称取 10.0 g 优级纯的硼砂(Na₂B₄O₇·10H₂O)固体,和 30 g 氢氧化钠固体,用 Milli-Q 水稀释至 500 cm³。

(4) GBHA 指示剂(0.05%):将 GBHA 溶解在正丙醇中,配成 0.05%的溶液。

(5) 正丁醇:分析纯,用作指示剂的萃取剂用于观察滴定终点。

(6) 钙标准溶液(Cstd 0.010 30 mol/dm³):准确称取 1.030 8 g 优级纯的碳酸钙固体于洁净的烧杯内,加入少量的 Milli-Q 水,滴加稀盐酸使其恰好完全溶解,再加入 13.672 g Mg(NO₃)₂·6H₂O,0.0242 g SrCl₂·6H₂O,和 27.357 g NaCl,转移至 1 000 cm³ 容量瓶中并稀释至刻度。此溶液的盐度约为 35.0;或者直接使用国际标准海水(Ca²⁺/Cl=0.02127)。

2. 仪器

(1) 精密滴定管:分刻度为 0.005 cm³,1 支。

(2) 高型烧杯或高型称量瓶,容积为 50 cm³,若干。

(3) 磁力搅拌器,1 台。

(4) 搅拌子,若干。

五、实验步骤

1. EGTA 溶液的标定

取 10.00 cm³ 钙离子标准溶液于高型烧杯中(已加入洁净且干燥的搅拌子),加入 95%的 EGTA 使用液(由盐度或氯度估算),搅拌 3 min,后加入 4 cm³ 0.05%GBHA 指示剂和 4 cm³ 缓冲液,继续搅拌 3 min,最后加入 7 cm³ 正丁醇,迅速搅拌,使红色络合物完全被萃取到有机层,然后用 EGTA 溶液迅速滴定至有机层变为无色(注意滴定管头要没入溶液以下)。记录 EGTA 的体积 V_{EGTA(S)}。以上滴定操作要迅速,并且在 15 min 之内完成,平行测定 3 次。