



# 自然水體中腐植物質螢光強度檢測方法－I

中華民國83年3月9日(83)環署檢字第00540號公告

NIEA W940.50T

中華民國100年12月14日環署檢字第1000109874號公告修正為NIEA W940.51C



## 一、方法概要

自然水體中腐植物質 (HumicSubstances) 之螢光強度檢驗方法(以下簡稱本方法)係在室溫及一定 pH 值之條件下，直接以波長 370nm (或其他適用波長)之紫外光照射水樣，偵測其在波長 445nm 處之螢光發射強度。該螢光強度值係與奎寧硫酸鹽(QuinineSulfate) 之過氯酸水溶液經波長 347nm 之紫外光激發時，在 445nm 處發射之螢光強度值相比較，並以此奎寧硫酸鹽之相對應濃度值報告，定義為 QE(QuinineSulfateEquivalent) 值。由於存在於自然水體中的腐植物質係有機高分子混合物所組成，其形成來源不同時，水體中各類腐植物質的分子螢光光譜所呈現的特性亦不同，激發波長可能在 330 至 390nm 之間，而發射波長亦可能在 410nm 至 470nm 之間，各類來源之腐植物質發射波長雖不盡相同，但仍可參照 QE 值方式報告。

## 二、適用範圍

本方法之適用範圍包括水體中螢光腐植酸 (Humicacids) 及黃酸 (Fulvicacids) ，適用之水體基質包括地下水，井水，湖泊及水庫水等，本方法適用之螢光強度範圍在  $1.0 \times 10^{-8}$  M 至  $4.0 \times 10^{-7}$  MQE 值之間。

## 三、干擾

常見之干擾，有下列數種可能來源：

- (一) 水樣過濾不完全，以致有懸浮微粒或膠體存在而發生散射干擾現象。
- (二) 水樣中含有高濃度重金屬(如銅，鉛，鋅等)，以致光譜波峰位移或螢光強度減弱 (Quenching) 或增強 (Enhancing) 現象發生。
- (三) 置放水樣之石英槽未洗淨，以致產生交互污染。
- (四) 水樣中若含有在 370nm 處吸收，或在 445nm 處吸收或發射之其他有機物質時，需以其它方法驗證其螢光強度。

## 四、設備

- (一) 螢光光譜儀：須能以掃描方式由波長 220nm 至 800nm 波長間做任何激發或發射螢光光譜。波長解析度及再現性應在  $\pm 5$ nm 之內。入射及發射狹縫可小至 2.5nm 。
- (二) pH 計。
- (三) 薄膜過濾裝置及  $0.45 \mu\text{m}$  之硝化纖維或玻璃纖維濾膜。
- (四) 10mm 光徑之螢光光譜分析專用之石英槽。

## 五、試劑與溶液

- (一) 奎寧硫酸鹽，分析試藥級以上。
- (二) 過氯酸，70%，分析試藥級以上。
- (三) 純水。
- (四) QE 檢量儲備溶液：取 0.08g 奎寧硫酸鹽(精秤至 0.1mg) 溶於 1.0 升之 0.10M 過氯酸水溶液。
- (五) QE 檢量二級溶液：取 1.0mL 之儲備溶液以 0.10 M 之過氯酸溶液稀釋至 100mL。
- (六) 0.10M 過氯酸水溶液：秤取 14.34g 之 70% 過氯酸(精秤至 10mg)，以純水稀釋至 1.0 升。
- (七) 0.1M 氫氧化鈉水溶液。調整 pH 之用。
- (八) 0.01M 氫氧化鈉水溶液。供洗滌玻璃濾器之用。

## 六、採樣與保存

樣品可以不透光之玻璃瓶直接取樣至滿，至少需 500mL，採樣後，應貯存於 4°C 並避免見光。

水樣應於 48 小時內用 0.45 μm 濾膜過濾且應在採樣七天內檢驗完畢。

## 七、步驟

### (一) 試樣處理

1. 取一乾淨 0.45 μm 硝化纖維膜置入一乾淨之玻璃薄膜過濾裝置，接上抽氣裝置，再以 1L 之純水洗滌濾膜及支持之玻璃濾器，捨棄濾液，再以 100mL 純水通過薄膜，收集濾液即為空白樣品。
2. 以待測水樣通過上述之濾膜，收集濾液即為待測樣品。
3. 若須處理兩個以上水樣時，須更換濾膜，並以大量 0.01M 氫氧化鈉水溶液洗滌玻璃濾器，再以大量純水洗滌後，以 100mL 純水通過此濾膜，收集濾液即可作為該樣品之空白樣品。
4. 空白樣品在波長 445nm 處，若所得之螢光強度值大於  $1.0 \times 10^{-9} \text{M}$  之 QE 值以上時，必須檢討污染原因並重複操作七(一) 3. 之步驟，直至該空白樣品不再顯示污染為止。

### (二) 奎寧硫酸鹽溶液螢光強度檢量線之配製方法

1. 分別量取 QE 檢量二級溶液，如 1.0，2.0，4.0，10.0mL，用 0.10M 過氯酸水溶液稀釋至 100mL 即得。此配製濃度區間須能適切的涵蓋待測水樣之 QE 值。
2. 設定螢光光譜儀之操作條件：激發波長設在 347nm 處，入射狹縫設在 5nm，發射狹縫設在 5nm，波長掃描範圍設定由 360nm 至 540nm，其掃描速率在 120nm/min 以內。
3. 分別將 QE 檢量線溶液依序置入石英槽內，記錄各相對應之螢光光譜及讀取在波長 445nm 之儀器螢光強度值。

### (三) 水樣讀取

1. 使用 pH 計讀取水樣之 pH 值，若樣品之 pH 值小於 6.5 或大於 7.5 時，則以 0.1M 氫氧化鈉水溶液或 0.10M 過氯酸水溶液調整其 pH 至 7.0。
2. 將上述樣品移置於石英槽內並避免沾及外壁，若有沾及外壁時，需以拭鏡紙拭淨。
3. 設定螢光光譜儀之操作條件：激發波長設在 370nm 處，入射狹縫設在 5nm，發射狹縫設在 5nm，波長掃描範圍設定由 380nm 至 540nm，其掃描速率在 120nm/min 以內。

- 4.記錄螢光光譜並讀取在波長 445nm 處之儀器螢光強度值。若發射光譜最高強度之波長位置偏離 445nm 時，應調整激發波長，直至其相對應之發射波長落在 445nm 後再讀取儀器螢光強度值，並記錄調整後之激發波長。
- 5.一典型之井水腐植物質螢光光譜如圖一所示

## 八、結果處理

- (一) QE 值檢量線：依各奎寧硫酸鹽檢量線溶液在波長 445nm 處之儀器螢光強度與各對應濃度製作檢量線或計算反應因子，一典型之檢量線數據如表一所示。
- (二) 利用各樣品在波長 370nm 激發時(或依七、(三)3.之適用激發波長)，參照 QE 檢量線或平均反應因子以計算該樣品在波長 445nm 處儀器螢光強度值相對應之 QE 值。
- (三) 若樣品之 QE 值落在本方法適用範圍之外時，以  $< 1.0 \times 10^{-8} \text{ M}$  或  $> 4.0 \times 10^{-7} \text{ M}$  QE 值方式報告。
- (四) 以本方法圖一所示之井水樣品為例，依 370nm 之激發波長而言，樣品之螢光發射光譜最強處之發射波長應落在  $445 \pm 6\text{nm}$  之範圍內。最高強度 1/2 處之波峰寬 (FullWidthatHalfHeight,FWHH) 應在  $100 \pm 15\text{nm}$  之範圍內。其儀器螢光強度為 194，依表一之 QE 值檢量線計算時，其相對應之 QE 值為  $7.56 \times 10^{-8} \text{ M}$ 。

## 九、品質管制

(略)

## 十、精密度與準確度

(略)

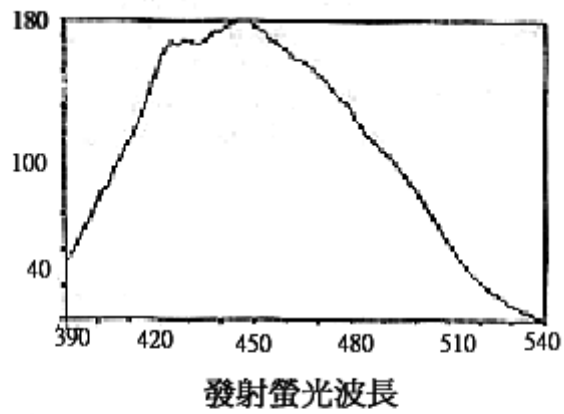
## 十一、參考資料

- (一) 呂鋒洲，謝宏濱，吳新英，孫金財，郭宗禮，李俊仁，胡惠德：井水中的螢光強度，砷濃度，pH 值及總溶解固體物與烏腳病流行度間的相互關係，烏腳病之研究報告，第三十三輯，台灣省烏腳病防治小組；民國七十四年四月發刊。
- (二) Senesi,N.,Miano,T.,Provenzano,M.andBrunetti,G.  
1991.Characterization,Differentiation,andClassification  
ofHumicSubstancesbyFluorescenceSpectroscopy.Soil Science,152:259-271.

表一、一典型之奎寧硫酸鹽檢量線數據

濃度 (M)	儀器螢光強度
$1.13 \times 10^{-8}$	26.2
$2.26 \times 10^{-8}$	52.3
$3.39 \times 10^{-8}$	77.8
$4.52 \times 10^{-8}$	103.3
$1.13 \times 10^{-7}$	257.3

線性歸係數為 0.9999 (激發波長：347nm，狹縫寬度：5nm，發射波長：445nm，狹縫寬度：5nm)



圖一、一典型之井水腐植物質螢光光譜  
(激發波長：370 nm，狹縫寬度 5 nm；  
發射波長 445 nm，狹縫寬度 5 nm)