

水中氨氮檢測方法－靛酚比色法

中華民國 109 年 12 月 4 日環署授檢字第 1091006532 號

自中華民國 110 年 3 月 15 日生效

NIEA W448.52B

一、方法概要

含有氨氮之水樣加入次氯酸鈉 (Sodium hypochlorite) 及酚溶液 (Phenol)，在亞硝醯鐵氰化鈉溶液 (Sodium nitroprusside) 之催化下，生成深藍色之靛酚 (Indophenol)。使用分光光度計於波長 640 nm 處進行比色分析，即可求得水樣中氨氮之濃度。

二、適用範圍

本方法適用於飲用水、飲用水水源、地面水體、地下水、放流水及廢（污）水中氨氮之分析。

三、干擾

- (一) 樣品中若含有餘氯，會對樣品造成干擾。
- (二) 利用檸檬酸鹽 (Citrate) 可將鈣、鎂離子錯合，可除去此類離子在高 pH 值狀態下產生沉澱所造成的干擾。
- (三) 濁度會形成干擾，可藉由蒸餾或過濾去除之。
- (四) 如有硫化氫存在時，可以稀鹽酸酸化樣品使 pH 值至 3，然後再以劇烈曝氣，直至硫化物臭味不被偵測到。

四、設備與材料

- (一) 分光光度計：在波長 640 nm \pm 1 nm 下，使用光徑 1 cm 或以上之樣品槽。
- (二) 蒸餾裝置：準備 800 mL 至 2000 mL 平底或圓底玻璃燒瓶，連結至一直立式冷凝裝置，接口處以磨砂口銜接，其出口尖端須浸於酸吸收溶液之液面下；使用全硼矽玻璃裝置或以錫（或鋁）質的管子連接組成的冷凝裝置。亦可以使用功能相同之小型蒸餾裝置。小型蒸餾裝置包含蒸餾容器、連接管、小型冷凝管、冷凝接收管、吸收瓶或其他承接容器、加熱裝置（配合蒸餾容器並可加熱至沸騰之裝置），組裝示意圖如圖一。
- (三) 加熱裝置：加熱包或加熱板等尺寸適宜之加熱裝置。
- (四) 分析天平：可精稱至 0.1 mg。
- (五) 電磁攪拌器：磁石需為熱絕緣且外裹鐵氟龍。

- (六) pH 計或變色間隔為 0.5 以內之 pH 試紙。
- (七) 三角錐瓶或其它適用樣品反應瓶（附蓋或以塑膠或 Paraffin 膜覆蓋）：50 mL。
- (八) 濾紙：孔徑 0.45 μm ，可耐酸鹼之濾紙（如 Millipore 之聚偏氟乙烯濾膜 (PVDF) 或同級品）。
- (九) 沸石：以分子篩沸石效果較佳，使用前須於清洗蒸餾裝置時一同清洗。

五、試劑

- (一) 試劑水：電阻率 $\geq 16 \text{ M}\Omega\text{-cm}$ 之試劑水。
- (二) 硫代硫酸鈉溶液（去氯試劑）：溶解 3.5 g 硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 於試劑水中定容至 1000 mL，保存期限 7 天（註 1）。
- (三) 硼酸鹽緩衝溶液：加 88 mL 0.1 M 氫氧化鈉溶液於 500 mL 0.025 M 四硼酸鈉溶液 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 5.0 g/L 或 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ 9.5 g/L) 以試劑水定容至 1 L。
- (四) 氫氧化鈉 (Sodium hydroxide) 溶液，6 M：將 240 g NaOH 溶解於試劑水中，並攪拌待溶解後定容至 1000 mL。
- (五) 氫氧化鈉溶液，10 M：取 40 g NaOH 溶解於 80 mL 試劑水中，並攪拌待溶解後定容至 100 mL。
- (六) 氫氧化鈉溶液，1 M：取 4 g NaOH 溶解於 80 mL 試劑水中，並攪拌待溶解後定容至 100 mL。
- (七) 硫酸溶液，0.5 M：稀釋 25 mL 濃 H_2SO_4 至 1 L。
- (八) 硫酸（吸收）溶液，0.02 M：稀釋 1 mL 濃 H_2SO_4 至 1 L。
- (九) 比色分析時所用試劑
 1. 酚溶液 (Phenol solution)：取 11.1 mL 液態酚（純度 $\geq 89\%$ ）以 95% (v/v) 乙醇 (Ethyl alcohol) 混合至最終體積 100 mL，每週製備（註 2）。
 2. 亞硝醯鐵氰化鈉 (Sodium nitroprusside) 溶液，0.5% (w/v)：溶解 0.5 g 亞硝醯鐵氰化鈉於 100 mL 試劑水。貯存於棕色瓶，最長 1 個月。
 3. 鹼性檸檬酸鹽溶液 (Alkaline citrate solution)：溶 200 g 檸檬酸三鈉鹽 (Trisodium citrate) 和 10 g 氫氧化鈉於試劑水，再稀釋至 1 L。

4. 次氯酸鈉 (Sodium hypochlorite)，約 5%：購買市售溶液配製，大約每 2 個月要更換 1 次。
 5. 氧化劑溶液 (Oxidizing solution)：以 25 mL 次氯酸鈉和 100 mL 鹼性檸檬酸鹽溶液混合，使用前配製。
- (十) 氨氮儲備溶液，1000 mg NH₃-N/L：取 3.819 g NH₄Cl（預先於 110°C 乾燥 2 小時）溶解於試劑水中並定容至 1000 mL。
 - (十一) 氨氮標準中間溶液，10 mg NH₃-N/L：取 10.0 mL 氨氮儲備溶液，至 1000 mL 量瓶內，定容至刻度。
 - (十二) 氨氮標準溶液，1 mg NH₃-N/L：取 10.0 mL 氨氮標準中間溶液，至 100 mL 量瓶內，定容至刻度。

六、採樣與保存

- (一) 採樣：使用清潔並經試劑水清洗過之塑膠瓶或玻璃瓶。在取樣前，採樣瓶可用擬採集之水樣洗滌 2 次至 3 次。如果樣品中含有餘氯，則採樣時應立即添加適量的硫代硫酸鈉溶液（去氯試劑）處理（添加量請參考註 1）。
- (二) 保存：樣品之運送及保存須在 4°C ± 2°C 下暗處冷藏，並於 24 小時內檢測。若樣品為含有機性及含氮性物質高的樣品或需保存較長時間之樣品，採樣後應加入適量（勿過量）的濃硫酸，調整 pH 值至小於 2，在此條件下樣品可保存 7 天。

七、步驟

- (一) 蒸餾：樣品為廢污水或有干擾物之樣品（水樣過濾後仍有顏色或混濁，及添加樣品分析回收率小於 85% 或大於 115% 時），應執行蒸餾步驟，其他樣品可直接依步驟（三）至（四）進行檢測。
 1. 設備的清洗準備：取 500 mL 試劑水於燒杯中，加入 20 mL 硼酸鹽緩衝溶液，以 6 M 氫氧化鈉溶液調整 pH 至 9.5 值後，移入蒸餾燒瓶中，加數粒沸石，加熱蒸餾直至蒸餾液無氨氮為止（註 3）。將蒸餾裝置的連接裝配移開，保留沸石於蒸餾瓶中，倒出殘留溶液，捨棄之。
 2. 樣品的準備：於經上述處理之蒸餾瓶中，加入 500 mL 已去氯樣品或適當量樣品以試劑水稀釋至 500 mL，當氨氮含量低於 0.1 mg/L 時，樣品體積宜使用 1000 mL（在收集樣品時，應依比例加入硫代硫酸鈉溶液以去除餘氯）。如果需要，以稀釋的硫酸或氫氧化鈉溶液，調整 pH 值至 7 左右。準備好的樣品，

再添加 25 mL 硼酸鹽緩衝溶液，然後以 6 M 氫氧化鈉溶液調整 pH 值至 9.5。

3. 樣品蒸餾：以每分鐘 6 mL 至 10 mL 速率蒸餾，收集蒸餾液至 500 mL 定量瓶或其他適用的蒸餾接收容器，上述量瓶內須置放 50 mL 0.02 M 的硫酸（吸收）溶液；保持蒸餾液滴出口在硫酸（吸收）溶液之液面下 2 公分；收集蒸餾液至少 200 mL 於氨蒸餾液的接收容器內，再將蒸餾裝置的輸送管末端離開吸收溶液面，不再與其接觸，然後繼續蒸餾數分鐘，以洗滌冷凝器及輸送管線至蒸餾液約 300 mL，再以試劑水稀釋定量至 500 mL。
4. 以蒸餾樣品體積 50 mL 之小型蒸餾裝置進行蒸餾時，步驟 1 及步驟 2 中之硼酸鹽緩衝溶液分別添加 2.0 mL 及 2.5 mL，步驟 3 中之硫酸（吸收）溶液添加 5 mL，以每分鐘 0.6 mL 至 1 mL 速率蒸餾收集氨蒸餾液，並保持蒸餾液滴出口在硫酸（吸收）溶液之液面下至少 1 公分，收集蒸餾液至少 20 mL，繼續蒸餾數分鐘，以洗滌冷凝器及輸送管線至蒸餾液約 30 mL，再以試劑水稀釋定量至 50 mL。若使用其他蒸餾體積之小型蒸餾裝置進行蒸餾時，步驟 1 至步驟 3 所需之相關試劑量，須依蒸餾樣品體積之比例進行添加，蒸餾速率亦須依蒸餾樣品體積之比例調整，並保持蒸餾液滴出口在硫酸（吸收）溶液之液面下至少 1 公分。

(二) 精取 25.0 mL 標準液或樣品，於 50 mL 之附蓋三角錐瓶中或其它適用樣品反應瓶，再依次添加入 1.0 mL 酚溶液、1.0 mL 亞硝鹽鐵氰化鈉溶液及 2.50 mL 氧化劑溶液（每次加入各溶液後，均須混合均勻），使樣品呈色。靜置於 22°C 至 27°C 之室溫暗處下，至少 1 小時，此顏色可穩定 24 小時以上，於波長 640 nm 處測其吸光度。

(三) 檢量線製備

1. 精取適量之氨氮標準溶液 (1.0 mg/L) 於 100 mL 量瓶，稀釋成至少 5 種不同濃度之檢量線溶液。如：0.04 mg/L、0.12 mg/L、0.20 mg/L、0.40 mg/L、1.0 mg/L 或其他適當濃度（檢量線配製濃度不可大於 1.0 mg/L）。
2. 取 25.0 mL 上述配製之序列濃度檢量線溶液，於 50 mL 之附蓋三角錐瓶中或其它適用樣品反應瓶，並依七（二）的檢測步驟使樣品呈色，製備檢量線。
3. 量測在波長 640 nm 之吸光度，以標準溶液濃度 (mg/L) 為 X 軸，吸光度為 Y 軸，繪製一吸光度與氨氮濃度 (mg/L) 之檢量線。

4. 檢量線確認：完成檢量線製作後，應即以第二來源標準品配製接近檢量線中點濃度來作確認。

(四) 樣品檢測

1. 若採樣時樣品已經加酸保存，且樣品未經蒸餾前處理時，則先取適量樣品，調整其 pH 值至 7 以上（注意勿過分稀釋水樣），並過濾樣品。
2. 取上述 25.0 mL 樣品或經蒸餾前處理之蒸餾液（必要時將上述樣品或蒸餾液經適當稀釋至 25.0 mL），於 50 mL 之附蓋三角錐瓶或其它適用樣品反應瓶中。以七（二）的檢測步驟操作，使樣品呈色，並測定吸光值。

八、結果處理

由樣品溶液測得之吸光度，代入檢量線可求得溶液中氨氮的濃度 (mg/L)，再依下式計算樣品中氨氮的濃度。

$$A = A' \times F$$

A：樣品中氨氮的濃度 (mg/L)。

A'：由檢量線求得樣品溶液中氨氮的濃度 (mg/L)。

F：稀釋倍數。

九、品質管制

- (一) 檢量線：檢量線之相關係數應大於或等於 0.995 以上，檢量線確認相對誤差值應在 ±15% 以內。
- (二) 檢量線查核：每批次及每 10 個樣品分析結束時，執行 1 次檢量線查核，以檢量線中點濃度附近的標準溶液進行，其相對誤差值應在 ±15% 以內。
- (三) 空白樣品分析：每批次或每 10 個樣品至少應執行 1 個空白樣品分析，空白分析值應小於 2 倍方法偵測極限。
- (四) 查核樣品分析：每批次或每 10 個樣品至少應執行 1 個查核樣品分析，其回收率應在 85% 至 115% 範圍內。
- (五) 重複樣品分析：每批次或每 10 個樣品至少應執行 1 個重複樣品分析，其相對差異百分比應在 15% 以內。
- (六) 添加標準品分析：每批次或每 10 個樣品至少應執行 1 個添加樣品分析，其回收率應在 85% 至 115% 範圍內。

十、精密度與準確度

- (一) 單一實驗室以硫酸銨溶液製備 (0.05 mg/L) 及 (0.02 mg/L) 之參考樣品，並經前處理蒸餾後檢測結果的準確度與精密度見表一。
- (二) 單一實驗室以小型蒸餾裝置（樣品蒸餾體積為 50 mL）前處理，進行市售品管樣品之氨氮檢測 9 次，其精密度與準確度分析結果見表二。
- (三) 表三為單一實驗室以小型蒸餾裝置（樣品蒸餾體積為 50 mL）前處理執行真實水樣之檢測，包括放流水、河川水、飲用水及地下水等，每個樣品執行 3 次檢測分析及 3 次添加樣品分析。

十一、參考資料

American Public Health Association, American Water Works Association & Water Pollution Control Federation, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd ed., Method 4500-NH₃, pp. 4-114 ~ 4-120, APHA, Washington, D.C., USA, 2017.

註 1：在 500 mL 水樣中，使用 1 mL 硫代硫酸鈉溶液，可去除 1 mg/L 餘氯。

註 2：當操作酚時，須戴手套、護眼裝置；在通風良好環境下可減少曝露於此劇毒揮發性物質之危險。

註 3：可取出部分蒸餾液依比例添加呈色試劑，例如取 2.5 mL 蒸餾液依次添加入 0.1 mL 酚溶液、0.1 mL 亞硝鹽鐵氰化鈉溶液及 0.25 mL 氧化劑溶液（每次加入各溶液後，均須混合均勻）。呈色後若溶液顏色為藍色，則顯示蒸餾液中仍有氨氮。完成設備清洗準備後，直至樣品開始蒸餾前，須避免污染。蒸餾過程須伴隨空白樣品進行分析，空白樣品分析濃度須符合品質管制相關規範。

註 4：廢液分類處理原則—本檢驗廢液依一般有機廢液處理。

表一、氮氮參考樣品經前處理蒸餾後之準確度與精密度

配製值(mg/L)	測值(mg/L)	準確度(%)	精密度RSD(%)
0.05	0.0507	104.6 ± 6.0	5.7
0.05	0.0519		
0.05	0.0573		
0.05	0.0530		
0.05	0.0546		
0.05	0.0506		
0.05	0.0481		
0.02	0.0260	118.1 ± 26.6	22.5
0.02	0.0213		
0.02	0.0226		
0.02	0.0176		
0.02	0.0320		
0.02	0.0277		
0.02	0.0193		
0.02	0.0290		
0.02	0.0170		

表二、市售查核樣品之準確度與精密度

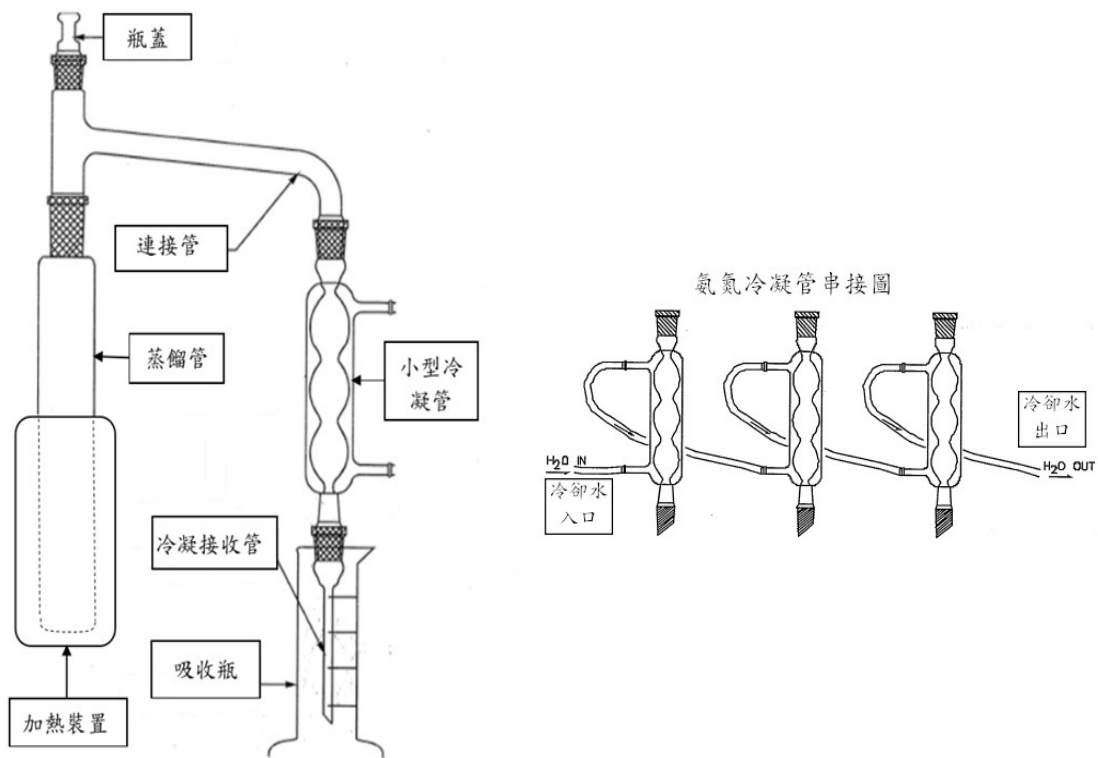
市售品管樣品	確認值(mg/L)	準確度(%)	精密度(%)
ERA-276-505	15.9	99.2±5.2	2.6

註：市售品管樣品 ERA-276-505 係依使用說明以試劑水配製後使用。

表三、真實樣品檢測結果 (n=3)

基質	樣品名稱	樣品檢測平均 值(mg/L)	精密度 RSD(%)	添加量 (mg/L)	樣品添加平 均回收率(%)	樣品添加 RSD(%)
放流水	放流水 A	0.47	4.7	0.50	101.6	3.9
	放流水 B	0.07	5.2	0.20	94.0	4.1
	放流水 C	0.08	4.3	0.20	102.0	5.1
河川水	河川水 A	10.6	0.2	7.78	106.3	2.5
	河川水 B	0.05	5.4	0.20	98.3	4.0
	河川水 C	0.72	6.5	0.20	92.0	2.4
地下水	地下水	0.18	2.4	0.20	97.3	10.3
飲用水	自來水	<0.04*	—	0.10	105.2	2.5
	飲水機飲水	<0.04*	—	0.10	103.9	4.4

註*：檢量線第 1 點濃度為 0.04mg/L。



圖一 小型蒸餾設備組裝示意圖