

水中氨氮檢測方法－靛酚比色法

中華民國 94 年 5 月 12 日環署檢字第 0940035925A 號公告
自中華民國 94 年 8 月 15 日起實施
NIEA W448.51B

一、方法概要

含有氨氮及銨離子之水樣於加入次氯酸鹽（Hypochlorite）及酚溶液反應，生成深藍色之靛酚（Indophenol），此溶液之顏色於亞硝酸鐵氰化鈉溶液（Sodium nitroprusside）之催化後會更加強烈。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水質、飲用水水源水質、地面水體、地下水、放流水、廢（污）水及海域水質中氨氮之分析。使用光徑 1 cm 樣品槽時，方法偵測極限約 0.01 mg/L。

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、設備及材料

- （一）分光光度計：在波長 640 ± 1 nm 下，使用光徑 1 cm 或以上之樣品槽。
- （二）蒸餾裝置：準備 800 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。

- (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：可精秤至 0.1 mg。
- (五) 移液管或經校正之自動移液管。
- (六) 定量瓶。
- (七) 電磁攪拌器：磁石需是熱絕緣且外裹鐵氟龍。
- (八) pH 計。
- (九) 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。

五、試劑

- (一) 試劑水：不含氨氮之二次蒸餾水或去離子蒸餾水，以其配製試劑、清洗或稀釋樣品，使用前製備，並需時常藉由空白分析來查核試劑水，是否含有氨氮。
- (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，再稀釋至 1000 mL，須每週配製（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）以試劑水稀釋至 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，稀釋至 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，稀釋至 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，稀釋至 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) 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。

(十) 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：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。

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，最長一個月。

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%，可購買市售溶液，使用前適當稀釋。當溶液開封，會慢慢分解。大約每二個月要更換一次。

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。

(十一) 氨氮儲備溶液 (Ammonium stock standard)：取 3.819 g NH_4Cl (預先於 110°C 乾燥二小時) 溶解於試劑水中，並稀釋至 1000 mL (此溶 1.00 mL = 1.00 mg N = 1.22 mg NH_3)。

(十二) 氨氮標準中間溶液：取 10.0 mL 氨氮儲備溶液，至 1000 mL 量瓶內，稀釋至刻度 (此溶液 1.00 mL = 10.00 μg 氨氮)。

(十三) 氨氮標準溶液：取 10.0 mL 氨氮中間溶液，至 100 mL 量瓶內，稀釋至刻度 (此溶液 1.00 mL = 1.00 μg 氨氮)。

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二至三次。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 以下暗處冷藏，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七天。

七、步驟

- (一) 蒸餾：樣品之蒸餾並非必要，若樣品為廢污水、有干擾物出現或需高準確度之飲用水等樣品檢測時，則應執行蒸餾步驟，但如果樣品為經常檢測之相同基質來源水樣，各實驗室必須曾執行至少一至二批該類樣品之蒸餾與不蒸餾的同步驗證檢測，其結果必須在可接受之範圍（相對差異比小於 15 %，且未蒸餾樣品檢測的添加回收率界於 85 至 115 % 之內），並留有紀錄，以證明或支持爾後該來源樣品可不執行前處理蒸餾，否則皆應執行樣品之前處理蒸餾步驟。

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 後，移入蒸餾燒瓶中，加數粒沸石，加熱蒸餾直至蒸出液無氯氮為止。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。直至樣品開始蒸餾前，須避免污染。
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，當氯氮含量低於 0.1 mg/L 時，樣品體積宜使用 1000 mL（在收集樣品時，應加入等量的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 至 10 mL 速率蒸餾，收集氯蒸餾液至 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；保持蒸出液滴出口在硫酸（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。

(二) 檢量線製備

1. 取 25.0 mL 試劑水，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 亞硝酸鐵氰化鈉溶液及 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。靜置於室溫（22 至 27 °C）暗處下，至少 1 小時，此顏色可穩定 24 小時以上。以此溶液將分光光度計於波長 640 nm 處歸零。
2. 精取適量之氨氮標準溶液（1.0 mg/L）於 100 mL 量瓶，由高濃度至低濃度序列稀釋成至少五組不同濃度之檢量線製備用溶液。如：0.02、0.04、0.06、0.10、0.20 mg/L 或其他適當之序列濃度（檢量線配製濃度不可大於 1.0 mg/L）。
3. 再取 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）1. 的檢測步驟使樣品呈色，製備檢量線。
4. 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。

(三) 樣品的檢測

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（以避免干擾）。
2. 取上述 25.0 mL 樣品或經蒸餾前處理之蒸出液（必要時將上述樣品或蒸出液經適當稀釋至 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）1. 的檢測步驟操作，使樣品呈色。即可由檢量線求得水樣中氨氮之濃度。

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：製備檢量線時，至少應包括五種不同濃度之標準溶液，其線性相關係數 (R 值) 應大於或等於 0.995 以上。
- (二) 空白分析：每批次或每十個樣品至少應執行一個空白樣品分析，空白分析值應小於二倍方法偵測極限。
- (三) 查核樣品分析：每批次或每十個樣品至少應執行一個查核樣品分析。
- (四) 重複分析：每批次或每十個樣品至少應執行一個重複分析。
- (五) 添加標準品分析：每批次或每十個樣品至少應執行一個添加已知量標準溶液之樣品分析，若回收率超過 85 至 115 % 管制極限時，必需重做。

十、精密度與準確度

單一實驗室針對氨氮—靛酚法，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。

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, 20th ed., Method 4500-NH₃, pp. 4-103 ~ 4-109, APHA, Washington, D.C., USA, 1998.

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：廢液分類處理原則—本檢驗廢液依一般有機廢液處理。

表一、氨氮參考樣品經前處理蒸餾後準確度與精密度結果表

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		