

水中硝酸鹽氮檢測方法一分立式分析系統比色法(草案)

NIEA W459.50B

一、方法概要

分立式硝酸鹽氮分析系統 (Discrete analysis system) 為自動化的取樣、加藥及比色分析系統。在各自獨立的反應槽 (Reaction cell)，將預設體積之樣品及試劑分注於其中，經均勻混合後，再續以比色法量測，即可求得樣品中硝酸鹽氮的濃度。

首先以分立式分析系統量測水樣中總氧化氮 (Total oxidized nitrogen, TON) 之濃度。水樣中之硝酸鹽氮 (NO_3^- -N) 以硫酸肼試劑還原成亞硝酸鹽或流經鎘金屬管柱還原成亞硝酸鹽氮，此亞硝酸鹽氮加上原水樣中之亞硝酸鹽氮，經磺胺 (Sulfanilamide) 偶氮化後，再與 N-1 -萘基乙烯二胺二鹽酸鹽 (N - (1 - naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride, NED) 偶合形成水溶性紫紅色偶氮化合物，此紫紅色物質於 540 nm (註1) 波長處量測其波峰吸收值，並定量水樣中硝酸鹽氮加亞硝酸鹽氮濃度之總量 (TON)。

其次以「水中亞硝酸鹽氮檢測方法一分立式分析系統比色法 (NIEA W458)」或其他相關檢測方法 (參考步驟七、(七)) 測得同一水樣中亞硝酸鹽氮之濃度，再由上述分立式分析系統中求得之總氧化氮濃度扣除水樣亞硝酸鹽氮濃度，即可得水樣中硝酸鹽氮之濃度。

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 (使用硫酸肼還原法無法檢測海水)、地下水、放流水及廢 (污) 水中硝酸鹽氮之檢測。

三、干擾

(一) 硫酸肼還原法之干擾如下：

1. 水樣中含硫化物 10 mg/L 將產生約 10% 的負偏差的結果。
2. 氯化物超過 100 mg/L 將產生負偏差。

(二) 鎘柱還原法之干擾可參考「水中硝酸鹽氮及亞硝酸鹽氮檢測方法一鎘還原法 (NIEA W452)」或「水中硝酸鹽氮及亞硝酸鹽氮檢測方法一鎘還原流動分析法 (NIEA W436)」。

(三) 餘氯會影響還原效率，可添加硫代硫酸鈉溶液，去除餘氯干擾 (註2)。

(四)如樣品具有潛在顏色干擾，可執行樣品空白分析，將樣品背景予以扣除。樣品空白 (Sample blank) 係指樣品加完分析試劑後，添加NED呈色試劑前，先測定吸光度。最終溶液測得的吸收光度應扣除樣品空白吸收光值，檢量線亦須以相同方式進行檢測。

四、設備與材料

(一) 分立式分析系統通常包含下列裝置：

1. 樣品注入器，可自動或手動操作。
2. 樣品容器。
3. 試劑容器，可設定冷藏或常溫。
4. 可溫控之恆溫箱，能保持固定的溫度，例如：37 °C。
5. 紫外光／可見光偵測器，可於 340 nm 至880 nm波長範圍下偵測，或具有波長 540 nm (註1) 濾光片的偵測器。
6. 控制及數據處理單元。

(二) 分析天平：可精秤至 0.1 mg。

(三) pH 計或窄範圍 (Narrow-range) pH 試紙 (pH 變色間隔為 0.5 以內)。

(四) 移液管或自動移液管。

(五) 定量瓶。

(六) 電磁攪拌器：磁石需是熱絕緣且外裹鐵氟龍。

五、試劑

(一) 試劑水：不含硝酸鹽氮之試劑水，比電阻值 $\geq 16 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。

(二) 硫酸銅溶液 I：溶解 0.39 g 硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 於 100 mL 試劑水中。

(三) 硫酸鋅溶液：溶解 4.5 g 硫酸鋅 ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 於 100 mL 試劑水中。

(四) 咪唑儲備溶液：溶解 17.0 g 經 105°C 乾燥之咪唑 (Imidazole, $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$)，於約 900 mL 試劑水中，以鹽酸調整 pH 至 7.5，以試劑水定量至 1000 mL。此溶液可保存 1 個月。

(五) 硫酸銅溶液 II：溶解 0.5 g 硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 於 200 mL 水中。

(六) 氫氧化鈉溶液：溶解 0.8 g 氫氧化鈉 (NaOH) 溶解於 100 mL 水中。可適當加入儀器用清潔劑，如聚氧乙烯月桂醚，以避免樣品與試劑混合時在反應槽中產生氣泡附著於容器壁上。另為避免鈣

和鎂產生沉澱，亦可於此溶液中加入 0.3 mL之 85%濃磷酸(註3)。

- (七) 硫酸肼試劑：溶解 0.163 g 硫酸肼 (Hydrazine sulfate, $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$) 於約 200 mL水中，加入硫酸銅溶液 I 0.375 mL及硫酸鋅溶液 2.5 mL，定量至 250 mL，此溶液須冷藏保存，約可保存 2週(註3)。
- (八) 咪挫緩衝溶液：取 100 mL咪挫儲備溶液及 100 μL 硫酸銅溶液 II 混合均勻，使用前配製，此溶液可以五、(九) 氯化銨緩衝溶液取代(註3)。
- (九) 氯化銨緩衝溶液：秤(稱) 85 g氯化銨 (NH_4Cl) 溶解於約 1000 mL 試劑水中，須調整pH至 7.5。
- (十) NED呈色試劑：取 10 mL 85%濃磷酸 (H_3PO_4) 分別加入 100 mL 試劑水中及 1.0 g磺胺 (Sulfanilamide, $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) 溶解之，續加入 0.05 g N-1-萘基乙烯二胺二鹽酸鹽溶解後，以試劑水定量至 200 mL，此溶液須冷藏保存，約可保存 1個月。可適當加入儀器用清潔劑，如聚氧乙烯月桂醚，以避免樣品與試劑混合時在反應槽中產生氣泡附著於容器壁上(註3)。
- (十一) 硝酸鹽氮儲備溶液，200.0 mg/L：200 mL定量瓶中置入精秤經 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘乾 24小時乾燥之 0.2888 g 硝酸鉀 (KNO_3) 或0.2428 g 硝酸鈉 (NaNO_3)，加入約 120 mL 試劑水及 0.4 mL 氯仿 (CH_3Cl)，溶解混合均勻後加試劑水至標線，此溶液 1.00 mL含有 200 μg 硝酸鹽氮，此溶液可保存 6個月。亦可使用經確認之市售硝酸鹽氮儲備溶液。
- (十二) 亞硝酸鹽氮儲備溶液，200.0 mg/L：200 mL定量瓶中置入 0.1972 g亞硝酸鈉 (NaNO_2) 或 0.2428 g 亞硝酸鉀 (KNO_2)，加入約 160 mL 試劑水及 0.4 mL 氯仿，溶解混合均勻後加試劑水至標線並冷藏之，此溶液 1.00 mL含有 200 μg 亞硝酸鹽氮。標定方法可參考「水中亞硝酸鹽氮檢測方法一分光光度計法 (NIEA W418)」或「水中硝酸鹽氮及亞硝酸鹽氮檢測方法一鎘還原法 (NIEA W452)」。亦可使用經確認之市售亞硝酸鹽氮儲備溶液。
- (十三) 硝酸鹽氮檢量線儲備液 (2 mg/L)：取 1 mL硝酸鹽氮儲備溶液，至 100 mL量瓶內，以試劑水稀釋至刻度(此溶液 1.00 mL含有 2.00 μg 硝酸鹽氮)。可依實際需要配製適當濃度之檢量線儲備液。

(十四) 亞硝酸鹽氮檢量線儲備液 (2 mg/L) : 取 1 mL 亞硝酸鹽氮儲備溶液, 至 100 mL 量瓶內, 稀釋至刻度(此溶液 1.00 mL 含有 2.00 μg 亞硝酸鹽氮)。可依實際需要配製適當濃度之檢量線儲備液。

(十五) 硫代硫酸鈉溶液: 溶解 0.7 g 硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 於約 100 mL 試劑水中, 再以試劑水稀釋至 200 mL, 須每週配製。

(十六) 濃氨水。

(十七) 濃鹽酸。

六、採樣與保存

(一) 採集至少 100 mL 之水樣於乾淨之玻璃或塑膠瓶中, 取樣前採樣瓶先以採集水樣洗滌 2 至 3 次。

(二) 樣品不可加酸保存, 須於採樣後儘速或於 48 小時內分析, 以避免細菌將亞硝酸鹽轉化為硝酸鹽或氨氮。

(三) 樣品之運送及保存須在 $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 及暗處下進行。若水樣中含有餘氯, 可於採集現場加入硫代硫酸鈉溶液以去除干擾 (註2)。

七、步驟

(一) 樣品前處理

1. 濁度去除: 如果水樣中含有懸浮固體, 以孔徑 $0.45 \mu\text{m}$ 之濾膜過濾之。
2. pH調整: 如有需要, 使用濃鹽酸或濃氨水, 調整水樣 pH 值介於 5至9之間。

(二) 使用分立式分析比色法量測水樣中總氧化氮濃度: 可以七、(三) 與七、(四) 擇一進行檢測。

(三) 使用硫酸肼還原法進行檢測, 依下列建議設定加藥量、分析程序、反應時間及波長等操作參數:

1. 反應溫度在 30 至 40°C 間。
2. 取 1份體積之氫氧化鈉溶液, 加入 (1 ± 0.1) 份體積之待測樣品, 混合均勻, 靜置 180秒, 再取 (1 ± 0.2) 份體積之硫酸肼試劑, 混合均勻後, 靜置 420秒, 最後加入 (1 ± 0.5) 份體積之 NED呈色試劑, 待混合均勻後, 靜置 300秒 (註4)。
3. 呈色反應後之樣品溶液於波長 540 nm (註1) 處量測吸光度。

(四) 使用鎘還原法進行檢測, 依下列建議設定加藥量、分析程序、反應時間及波長等操作參數: (此方法適用於附有鎘還原管柱之儀器)

1. 反應溫度在 30至 40°C間。
2. 取 (1 ± 0.2) 份體積之待測樣品，加入 2 份咪挫緩衝溶液或氯化銨緩衝溶液，混合均勻，經鎘管還原後，再加入 (1 ± 0.5) 份體積之NED呈色試劑，待混合均勻後，靜置 300秒（註4）。
3. 呈色反應後之樣品溶液於波長 540 nm（註1）處量測吸光度。

(五)檢量線製備

1. 配製1個空白及至少 5個濃度之硝酸鹽氮標準溶液，濃度範圍如 0 至 2.0 mg/L，或其他適當範圍，亦可以儀器自動配製檢量線，依七、（三）或七、（四）之步驟測定其吸光度。以標準溶液濃度（mg/L）為X軸，吸光度為Y軸，繪製一吸光度與硝酸鹽氮經還原成亞硝酸鹽氮濃度（mg/L）之檢量線（註5），以供計算樣品中總氧化氮之濃度。
2. 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之標準品確認。

(六)依樣品分析序列放置檢量線儲備液（或檢量線各點標準溶液）、分析試劑、呈色試劑及樣品（或經前處理之樣品）等，依設定參數自動執行取樣、加藥及呈色反應，最後於波長 540 nm（註1）處量測其吸光度，求得總氧化氮之濃度。

(七)以「水中亞硝酸鹽氮檢測方法—分光光度計法（NIEA W418）」、「水中硝酸鹽氮及亞硝酸鹽氮檢測方法—鎘還原法（NIEA W452）」、「水中硝酸鹽氮及亞硝酸鹽氮檢測方法—鎘還原流動分析法（NIEA W436）」、「水中陰離子檢測方法—離子層析法（NIEA W415）」或「亞硝酸鹽氮檢測方法—分立式分析系統比色法（NIEA W458）」測得亞硝酸鹽氮濃度。

(八)由上述七、(六)總氧化氮濃度減去七、(七)亞硝酸鹽氮濃度，即可求得水樣中硝酸鹽氮濃度。

八、結果處理

(一) 總氧化氮濃度之計算

經過還原之樣品，由溶液測得之吸光度，代入硝酸鹽氮（ $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ）經還原成亞硝酸鹽氮檢量線可求得溶液中總氧化氮（ $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 及 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 之總和）的濃度，再依下式計算樣品中總氧化氮的濃度。

$$A = A' \times F$$

A：樣品中總氧化氮（ $\text{NO}_3^- - \text{N} + \text{NO}_2^- - \text{N}$ ）的濃度（mg/L）

。

A'：由檢量線求得樣品溶液中總氧化氮的濃度 (mg/L)。

F：稀釋倍數。

(二) 亞硝酸鹽氮濃度之計算

依「水中亞硝酸鹽氮檢測方法—分光光度計法 (NIEA W418)」, 「水中硝酸鹽氮及亞硝酸鹽氮檢測方法—鎘還原法 (NIEA W452)」, 「水中硝酸鹽氮及亞硝酸鹽氮檢測方法—鎘還原流動分析法 (NIEA W436)」, 「水中陰離子檢測方法—離子層析法 (NIEA W415)」或「亞硝酸鹽氮檢測方法—分立式分析系統比色法 (NIEA W458)」計算亞硝酸鹽氮濃度B。

(三) 硝酸鹽氮濃度之計算

由樣品測得之總氧化氮的濃度, 扣除測得之樣品中亞硝酸鹽氮的濃度, 再修正轉化效率 (註5), 則可求得樣品中硝酸鹽氮 (NO_3^- -N) 的濃度。

$$C = A - (B/n) \times 100$$

C：樣品中硝酸鹽氮 (NO_3^- -N) 的濃度 (mg/L)

B：亞硝酸鹽氮濃度 (mg/L)。

n：轉化效率 (%)

九、品質管制

- (一) 檢量線：線性相關係數應大於或等於0.995, 檢量線確認相對誤差值應在 $\pm 15\%$ 以內。
- (二) 檢量線查核：每10個樣品及每批次分析結束時, 執行1次檢量線查核, 以檢量線中間濃度附近的標準溶液進行, 其相對誤差值應在 $\pm 15\%$ 以內。
- (三) 空白樣品分析：每批次或每10個樣品至少執行1次空白樣品分析, 空白分析值應小於2倍方法偵測極限。
- (四) 重複樣品分析：每批次或每10個樣品至少執行1次重複樣品分析, 其相對差異百分比應在20%以內。
- (五) 查核樣品分析：每批次或每10個樣品至少執行1次查核樣品分析, 回收率應在80至120%範圍內。
- (六) 添加樣品分析：每批次或每10個樣品至少執行1次添加樣品分析, 其回收率應在75至125%範圍內。

- (七) 使用前應確認硝酸鹽氮轉化為亞硝酸鹽氮之轉化效率(註5)，硫酸肼還原法之轉化效率應在 95至110%間，鎘還原法之轉化效率至少應在 75%以上，若轉化效率未達標準，應更換硫酸肼還原試劑，或依儀器製造商建議之操作方式進行更換或活化鎘金屬管柱。

十、精密度與準確度

- (一) 單一實驗室以硫酸肼還原法分析試劑水之方法偵測極限為 0.02 mg/L，若以鎘還原法分析試劑水之方法偵測極限為 0.01 mg/L。
- (二) 單一實驗室分別對試劑水執行添加樣品分析及市售績效樣品之精密度及準確度確認，所得結果如表一及表二所示。
- (三) 單一實驗室執行真實水樣之檢測，包括飲用水、放流水、河川水(含感潮河段)等，每個樣品執行 3次分析。檢測結果及操作條件分別如表三至表五所示。

十一、參考資料

- (一) International Standard ISO 15923-1. "Water quality—Determination of selected parameters by discrete analysis systems—Part 1:Ammonium, nitrate,nitrite, chloride, orthophosphate, sulfate and silicate with photometric detection",2013-12-15.
- (二) International Standard ISO 13395. "Water quality—Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection",1996-07-15.

註1：檢測波長依個別儀器之操作手冊或該儀器廠商建議為之。

註2：在 100 mL 水樣中，使用 0.2 mL 硫代硫酸鈉溶液，可去除 1 mg/L 餘氯。

註3：不同儀器廠商提供之分析試劑及呈色試劑，若其所依據之分析原理相同並經實驗室驗證可符合方法品質規範後，亦可使用。

註4：呈色反應時間可依個別儀器之操作手冊或該儀器廠商建議為之。

註5：轉化效率之量測，可建立二檢量線，一使用硝酸鹽氮標準液，另一則使用等摩爾之亞硝酸鹽氮標準液。還原之轉化效率計算如下：

n：轉化效率

b1：硝酸鹽氮檢量線斜率

b2：亞硝酸鹽氮檢量線斜率

註6：廢液分類處理原則—本檢驗廢液依一般有機廢液處理。

註7：本文引用之公告方法名稱及編碼，以環保署最新公告者為準。

表一 本分析系統對試劑水之精密度、準確度(n=7)

配製濃度 (mg/L)	硫酸肼還原法		鎘還原法	
	準確度 (%)	精密度 (%)	準確度 (%)	精密度 (%)
0.20	102.8±4.6	2.4	98.8±1.2	0.6
0.05	85.7±14.9	8.7	90.1±5.5	2.6

表二 分析市售績效樣品之精密度、準確度(n=6)

市售績效樣品 編號	確認值 (mg/L)	硫酸肼還原法		鎘還原法	
		準確度 (%)	精密度 (%)	準確度 (%)	精密度 (%)
ERA-505-216	3.52	100.2±2.2	1.1	103.5±4.0	2.0
ERA-505-Q033	7.02	106.6±7.0	3.4	102.4±7.0	3.4

表三 真實樣品檢測之結果(n=3)

基質	樣品名稱	樣品檢測結果		添加量 (mg/L)	添加樣品分析	
		平均值 (mg/L)	RSD (%)		平均回收率 (%)	RSD (%)
飲用水	家用飲用水	0.06	13.4%	1.0	97.3%	2.3%
	飲水機	0.06	6.1%	1.0	101.9%	0.9%
	自來水	0.33	1.1%	1.0	104.8%	4.6%
放流水	放流水A	0.50	1.1%	1.0	106.6%	2.9%
	放流水B	0.43	1.7%	1.0	104.9%	0.6%
	放流水C	2.50	0.7%	1.0	103.7%	1.7%
河川水	河川水A	0.28	2.6%	1.0	101.1%	2.9%
	河川水B	0.76	1.7%	1.0	112.4%	1.1%
	河川水C	0.04	5.6%	1.0	110.4%	0.9%
河川水(感潮河段)	河川水D	0.49	0.8%	0.4	100.2	1.6%
	河川水E	0.47	3.6%	0.4	98.8	6.2%
	河川水F	0.50	1.6%	0.4	101.5	3.3%

註：河川水(感潮河段)係以鎘還原法檢測，其餘則以硫酸肼還原法檢測。

表四 某單一實驗室以硫酸肼還原法執行分立式分析系統之儀器設定條件
(參考用)

樣品及試劑 設定參數	樣品	氫氧化鈉 溶液	硫酸肼試劑	NED 呈色試劑
取用體積 (μL)	150	150	125	80
靜置時間(sec)	—	36	360	306

表五 某單一實驗室以鎘還原法執行分立式分析系統之儀器設定條件
(參考用)

樣品及試劑 設定參數	樣品	緩衝溶液	NED 呈色試劑
取用體積 (μL)	150	275	80
靜置時間(sec)	—	36	30