

水中磷檢測方法—分光光度計／維生素丙法

中華民國99年9月15日環署檢字第0990084224號公告

自中華民國 99 年 12 月 15 日起實施

NIEA W427.53B

一、方法概要

水樣以硫酸、過硫酸鹽消化處理，使其中磷轉變為正磷酸鹽形式存在後，再加入鉬酸銨、酒石酸銻鉀，使其與正磷酸鹽作用生成磷鉬酸（phosphomolybdic acid），經維生素丙（ascorbic acid）還原為藍色複合物鉬藍（molybdenum blue），以分光光度計於波長 880 nm 處測其吸光度定量之。水樣如未經消化處理，所測得僅為正磷酸鹽之含量。

二、適用範圍

本方法適用於地面水體、地下水、海域水質及廢（污）水中總磷或正磷酸鹽之檢驗。採用 1 公分樣品槽時檢量線範圍為 0.02 ～ 0.50 mg P/L，方法偵測極限約為 0.006 mg P/L；採用 5 公分樣品槽則為 0.005 ～ 0.050 mg P/L，方法偵測極限約為 0.002 mg P/L。

三、干擾

- （一）高濃度之鐵離子或砷酸鹽濃度大於 0.1 mg As/L 時會產生干擾，可以亞硫酸氫鈉排除干擾。
- （二）六價鉻、亞硝酸鹽、硫化物、矽酸鹽產生干擾。
- （三）水樣含有色度或濁度時，可於水樣中添加除維生素丙與酒石酸銻鉀以外所有相同試劑，並測定其吸光度，作為空白校正值。

四、設備及材料

- （一）玻璃器皿：所有玻璃器皿先以 1+1 熱鹽酸溶液清洗，再以蒸餾水淋洗。
- （二）pH 計。
- （三）加熱裝置或高壓滅菌釜。
- （四）分光光度計，使用波長 880 nm，附 1 cm 或 5 cm 之樣品槽。
- （五）天平：可精秤至 0.1 mg。

五、試劑

所有檢測時使用的試劑化合物除非另有說明，否則必須是分析試藥

級以上之等級。若須使用其他等級試藥，在使用前必須要確認該試劑的純度足夠高，干擾物最少，使檢測結果的準確度不致降低。

- (一) 試劑水：不含待測物之去離子水，比電阻值 $\geq 16 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。
- (二) 酚酞指示劑：溶解 0.5 g 酚酞(phenolphthalein)於 50 mL 95% 乙醇或異丙醇(isopropylalcohol)，再加入 50 mL 試劑水。
- (三) 硫酸溶液，11 N：緩慢將 310 mL 濃硫酸加入於 600 mL 試劑水，冷卻後稀釋至 1 L。
- (四) 硫酸溶液，5 N：緩慢將 70 mL 濃硫酸加入於 300 mL 試劑水，冷卻後稀釋至 500 mL。
- (五) 硫酸溶液，1 N：緩慢將 14 mL 濃硫酸加入於 300 mL 試劑水，冷卻後稀釋至 500 mL。
- (六) 過硫酸銨。
- (七) 氫氧化鈉溶液，1 N：溶解 40 g 氫氧化鈉於試劑水，稀釋至 1 L。
- (八) 酒石酸銻鉀溶液：在 500 mL 量瓶內，溶解 1.3715 g 酒石酸銻鉀於 400 mL 試劑水，稀釋至刻度。貯存於附有玻璃栓蓋棕色瓶中，並保持 4°C 冷藏。
- (九) 鉬酸銨溶液：溶解 20 g 鉬酸銨於試劑水中，再定量至 500 mL。貯存於塑膠瓶並保持 4°C 冷藏。
- (十) 維生素丙溶液，0.1 M：溶解 1.76 g 維生素丙於試劑水中，再定量至 100 mL。使用當天配製。
- (十一) 混合試劑：依次混合 50 mL 5N 硫酸溶液，5 mL 酒石酸銻鉀溶液，15 mL 鉬酸銨溶液及 30 mL 維生素丙溶液使成 100 mL 混合試劑，每種試劑加入後，均需均勻混合，且混合前所有試劑均需保持於室溫，若混合後產生濁度時，搖盪數分鐘使濁度消失，本試劑不穩定，應於使用前配製。
- (十二) 磷標準儲備溶液：在 1,000 mL 量瓶內，溶解 0.2197 g 無水磷酸二氫鉀(105°C，乾燥 1 小時)於試劑水，稀釋至刻度；1.00 mL=50.0 $\mu\text{g P}$ 。保存期限 1 個月。
- (十三) 磷標準溶液(I)：在 1,000 mL 量瓶內，以試劑水稀釋 10.0 mL 磷標準儲備溶液至刻度；1.00 mL=0.50 $\mu\text{g P}$ 。使用前配製。
- (十四) 磷標準溶液(II)：在 1,000 mL 量瓶內，以試劑水稀釋 100 mL 磷標準溶液(I)至刻度；1.00 mL=0.05 $\mu\text{g P}$ 。使用前配製。

(十五) 亞硫酸氫鈉溶液，溶解 5.2 g 亞硫酸氫鈉於 1 N 硫酸溶液中，再以 1 N 硫酸溶液定量至 100 mL。

六、採樣及保存

以 1+1 熱鹽酸洗淨之玻璃瓶採集水樣，若為檢測總磷時，則需添加硫酸至 pH 值小於 2，於 $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 暗處冷藏，保存期限為 7 天。若為檢測正磷酸鹽時，則無須添加硫酸，但須於 48 小時內進行檢測，未檢測前仍需於 $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 暗處冷藏。

七、步驟

(一) 總磷：包括正磷酸鹽、聚(焦)磷酸鹽及有機磷(orthophosphate、condensed phosphate and organically bound phosphate)

1. 取 50 mL 水樣或適量水樣稀釋至 50 mL，置於三角燒瓶中，加入一滴酚酞指示劑，如水樣呈紅色，滴加 11 N 硫酸溶液至顏色剛好消失，再加入 1.0 mL 11 N 硫酸溶液。
2. 加入 0.4 g 過硫酸銨。
3. 置於已預熱之加熱裝置上，緩慢煮沸 30~40 分鐘或直至殘留約 10 mL 液體(注意勿使水樣乾涸)；或將水樣置於高壓滅菌釜中，以 120°C ， $1.0\sim 1.4\text{ Kg/cm}^2$ 加熱 30 分鐘。
4. 若以加熱裝置消化，樣品冷卻後以試劑水稀釋至約 30 mL (註 1)，加入 1 滴酚酞指示劑，以 1 N 或適當濃度之氫氧化鈉溶液，調整樣品至淡粉紅色出現後，再以試劑水定量至 50.0 mL；若使用高壓滅菌釜消化，則冷卻後加入 1 滴酚酞指示劑，以 1 N 或適當濃度之氫氧化鈉溶液，調整樣品至淡粉紅色出現後，再以試劑水定量至 100 mL (註 2)。
5. 取經消化後 50.0 mL 樣品或適量樣品稀釋至 50.0 mL，置於三角燒瓶中，加入 8 mL 混合試劑，混合均勻後，在 10~30 分鐘內以分光光度計於波長 880 nm 處讀取吸光度，並由檢量線求得磷濃度 (mg P/L)。

(二) 正磷酸鹽

1. 樣品於分析前可滴加入酚酞指示劑測試 pH 值，如水樣呈紅色，則滴加 5 N 硫酸溶液至顏色剛好消失。
2. 取 50.0 mL 經調整過 pH 之水樣或適量經稀釋之水樣 50.0 mL，置於三角燒瓶中，加入 8 mL 混合試劑，混合均勻後，在 10~

30 分鐘內以分光光度計於波長 880 nm 處讀取吸光度，並由檢量線求得磷濃度 (mg P/L)。

(三) 檢量線製備

在分光光度計線性範圍內，以磷標準溶液 (I) 或 (II) 配製一個空白和至少五種不同濃度的檢量線標準溶液，例如若採用 1 cm 樣品槽時，檢量線範圍為 0.02~0.50 mg P/L；若採用 5 cm 樣品槽時則為 0.005~0.050 mg P/L，再依七、步驟 (二) 2.之相同步驟操作，繪製吸光度與磷濃度 (mg P/L) 之檢量線。

八、結果處理

(一) 由樣品測得吸光度，代入檢量線可求得樣品中磷之濃度 (mg P/L)，再依下式計算樣品中磷之濃度。

$$A = A' \times F$$

A：樣品中磷之濃度 (mg P/L)。

A'：由檢量線求得樣品中磷之濃度 (mg P/L)。

F：稀釋倍數。

註：分析總磷時，若以高壓滅菌釜消化，則水樣經前處理後，樣品濃度已稀釋二倍。

(二) 若正磷酸鹽的濃度需以三價磷酸根之方式表示時 (PO_4^{3-} mg/L)，則所求得之磷之濃度 (mg P/L) 尚需乘以 3.07。

$$\text{PO}_4^{3-} \text{ mg/L} = \text{PO}_4^{3-} \text{ mg P/L} \times 3.07$$

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。檢量線製作完成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，其相對誤差值應在 $\pm 15\%$ 以內。

(二) 檢量線查核：每 10 個樣品及每批次分析結束時，執行一次檢量線查核，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) 空白分析：每 10 個樣品或每批次樣品至少執行一次空白樣品分析，其空白分析值應小於方法偵測極限之二倍。

(四) 重複分析：每 10 個樣品或每批次樣品至少執行一次重覆分析，其相對差異百分比應在 20% 以內。

(五) 查核樣品分析：每 10 個或每一批次之樣品至少執行一個查核樣品分析，其回收率應在 80~120% 範圍內。

(六) 添加標準品分析：每 10 個樣品或每批次樣品至少執行一次添加標準品分析，其回收率應在 80~120% 範圍內。

十、精密度與準確度

(一) 國內某單一實驗室進行試劑水添加標準品分析結果表一。

(二) 於 19 個實驗室中 33 個分析人員檢測含有精確添加有機磷(分析總磷)之自然水體樣品，其分析結果如表二。(資料來源：參考資料(二))

(三) 於 16 個實驗室中 26 個分析人員檢測含有精確添加正磷酸鹽(分析正磷酸鹽)之自然水體樣品，其分析結果如表三。(資料來源：參考資料(二))。

十一、參考資料

(一) American Public Health Association, American Water Work Association & Water Pollution Control Federation, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed, Method 4500 - P A,B, pp4 - 146 ~ 4 - 151, and Method 4500 - P E, pp4 - 153 ~ 4-155, APHA, Washington, D.C. USA, 2005.

(二) U.S. Environmental Protection Agency. Environmental Monitoring and Support Laboratory. Methods for Chemical Analysis of Water and Wastewater, Method 365.2, 365.3. Cincinnati, Ohio. USA, 1983.

註 1：若水樣含砷或高濃度鐵，加入 5 mL 亞硫酸氫鈉溶液，混合後置於 95℃ 水浴中 30 分鐘（保持水樣溫度為 95℃，20 分鐘）冷卻之。

註 2：水樣中和後如呈混濁，添加 2~3 滴 11 N 硫酸溶液混合均勻，視需要過濾後再行稀釋。

註 3：廢液分類處理原則—本檢驗廢液依一般無機廢液處理。

表一 國內某單一實驗室進行試劑水添加標準品分析結果

水樣基質	添加濃度	平均測定值	測定次數	回收率(%)	相對誤差(%)
試劑水	0.005	0.0051	7	102	0.03
試劑水	0.01	0.0091	7	91	0.09

試劑水	0.03	0.0314	7	105	0.06
-----	------	--------	---	-----	------

單位：mg P/L，採用 5 cm 樣品槽

表二 添加已知濃度有機磷（分析總磷）之自然水體樣品分析結果

添加總磷濃度 (mg P/L)	精密度之標準偏差 (mg P/L)	準確度	
		偏差 (Bias) %	偏差 (Bias) mg P/L
0.110	0.033	+3.09	+0.003
0.132	0.051	+11.99	+0.016
0.772	0.130	+2.96	+0.023
0.882	0.128	-0.92	-0.008

(FWPCA 方法研究 2，營養鹽研究)

資料來源：參考資料 (二)

表三 添加已知濃度正磷酸鹽（分析正磷酸鹽）之自然水體樣品分析結果

添加正磷酸鹽濃度 (mg P/L)	精密度之標準偏差 (mg P/L)	準確度	
		偏差 (Bias) %	偏差 (Bias) mg P/L
0.029	0.010	-4.95	-0.001
0.038	0.008	-6.00	-0.002
0.335	0.018	-2.75	-0.009
0.383	0.023	-1.76	-0.007

(FWPCA 方法研究 2，營養鹽研究)

資料來源：參考資料 (二)