

水中酚類檢測方法—比色法

中華民國95年8月8日環署檢字第0950062991號公告

自中華民國95年10月15日起實施

NIEA W520.51A

一、方法概要

水中的酚類物質（phenolics，亦稱總酚），經蒸餾收集後，在 pH 為 10 ± 0.2 及鐵氰化鉀存在時，可與 4-氨基安替吡啉生成安替吡啉染料（antipyrine dye）（註 1）；以分光光度計直接量測其吸光度或將呈色後樣品經氯仿萃取後，再測其吸光度，以測定樣品中酚類物質的濃度。

二、適用範圍

本方法適用於飲用水、地下水、地面水體、生活污水、工業廢污水以及高鹽度水樣中酚類物質之檢驗；因水中的酚類物質種類很多，無法使用酚類混合物作為標準品，故本方法係以酚為標準，測定水樣中可形成安替吡啉染料之酚類物質的總濃度（註 2）；以直接比色法檢測時，本方法最低可測定濃度為 0.05 mg/L，如以氯仿萃取比色法檢測，則最低可測定濃度為 0.005 mg/L。

三、干擾

- （一）氧化劑，如氯氣等（在酸性溶液中可氧化碘化鉀者）之干擾，採樣後，立即加入硫酸亞鐵銨（或硫酸亞鐵）以去除其干擾，如氧化劑未能去除，部份酚類將被氧化而導致分析結果為負偏差。
- （二）硫化物，如硫化氫、二氧化硫之干擾，可加入磷酸使水樣之 pH < 4，稍微攪拌曝氣並加入硫酸銅以消除干擾。
- （三）油及焦油之干擾，可用氫氧化鈉調整水樣之 pH 至 12.0 至 12.5，然後以 50 mL 氯仿萃取樣品中之油及焦油，棄去氯仿層，水樣中殘存之氯仿需於蒸餾前在水浴上加熱去除。

四、設備與材料

- （一）分析天平：可精稱至 0.1 mg。
- （二）蒸餾裝置：硼矽玻璃製之 1L 燒瓶及蛇形冷凝管。

- (三) pH 計。
- (四) 移液管：5 mL、10 mL、20 mL、30 mL、40 mL、50 mL
- (五) 定量瓶：100 mL、250 mL、500 mL、1 L
- (六) 分液漏斗：1L。
- (七) 燒結玻璃漏斗 (sintered glass funnel)。
- (八) 分光光度計：使用波長 460 nm 或 510 nm；1 及 5 cm 樣品槽。

五、試劑

- (一) 試劑水：不含酚類物質及氯氣或其他干擾物質之純水。
- (二) 磷酸溶液，1+9：取 10 mL 85% 磷酸 (H_3PO_4)，以試劑水定容至 100 mL。
- (三) 硫酸銅溶液：溶解 100 g 硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 於試劑水中，定容至 1 L。
- (四) 氨水-氯化銨緩衝溶液：溶解 16.9 g 氯化銨 (NH_4Cl) 於 143 mL 濃氨水中，以試劑水定容至 250 mL；在 100 mL 樣品蒸餾液中加入 2 mL 緩衝溶液，應可將其 pH 調整為 10。
- (五) 4-氨基安替吡啉溶液：溶解 2.0 g 4-氨基安替吡啉 (4-amino antipyrine) 於試劑水中，定容至 100 mL，此溶液應於使用當日配製。
- (六) 鐵氰化鉀溶液：溶解 8 g 鐵氰化鉀 ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) 於試劑水中，定容至 100 mL。
- (七) 氯仿 (CHCl_3)。
- (八) 無水硫酸鈉 (Na_2SO_4 ，anhydrous)，粒狀。
- (九) 硫酸亞鐵銨溶液：在 1 L 之量瓶中，加入 1.1 g 硫酸亞鐵銨，以新煮沸且已冷卻之試劑水 500 mL 及 1 mL 濃硫酸將其溶解後，再定容至刻度。
- (十) 酚儲備溶液：將 1.00 g 酚 (phenol) 以新鮮煮沸且已冷卻的試劑水溶解於 1 L 量瓶中，定容至刻度，此溶液應每月配製。
- (十一) 酚標準溶液 A：在 1 L 量瓶內以新煮沸且已冷卻之試劑水稀釋 10.0 mL 酚儲備溶液至刻度；1.0 mL = 10.0 μg ，此溶液應於使用當日配製。
- (十二) 酚標準溶液 B：在 500 mL 量瓶內，以新煮沸且已冷卻之試劑水稀釋 50.0 mL 酚標準溶液 A 至刻度；1.0 mL = 1.00 μg 酚，此溶液應在使用前二小時內配製。

六、採樣及保存

採集至少 1 L 之水樣於可密封之棕色玻璃瓶內，採樣後 4 小時內分析；如不能在上述時間內分析，可將樣品以濃硫酸約 2 mL 酸化，使其 pH 值小於 2，並於暗處 4°C 下冷藏，如此可抑制酚類物質的生物性分解，樣品最長保存期限為 28 天。

七、步驟

(一) 水樣前處理

- 1、量取 500 mL 水樣置於燒杯，以磷酸溶液及 pH 計調整 pH 至 4 左右（若保存水樣時已經酸化，此時不必再加），然後將水樣移至蒸餾裝置加熱蒸餾，以 500 mL 之量筒收集蒸餾液。
- 2、收集蒸餾液至 450 mL 後，停止加熱，俟水樣不再沸騰時，加入 50 mL 熱蒸餾水於蒸餾瓶中，繼續加熱蒸餾至蒸出液為近 500 mL，再以試劑水定容至 500 mL。若蒸出液呈混濁，可將其以磷酸溶液酸化後再行蒸餾，或以預洗過之薄膜濾紙過濾。

(二) 直接比色法

- 1、檢量線製備：配製一個空白和至少五種濃度的檢量線標準溶液，如分別精取 0、0.5、1.0、2.0、5.0、8.0 及 10.0 mL 酚標準溶液 A 定容至 100 mL，其相對應濃度分別為 0、0.05、0.1、0.2、0.5、0.8、1.0 mg/L。依下述步驟 3、至 6、操作，讀取吸光度，繪製酚含量對吸光度之檢量線。
- 2、量取蒸出液 100 mL 或適量蒸出液稀釋至 100 mL（水樣所含之酚類少於 0.1 mg），置於燒杯中。
- 3、加入 2 mL 五、（四）氨水-氯化銨緩衝溶液，混合均勻，此時樣品之 pH 為 10 ± 0.2 。
- 4、加入 2.0 mL 五、（五）4-氨基安替溶液，混合均勻。
- 5、加入 2.0 mL 五、（六）鐵氰化鉀溶液，混合均勻。
- 6、靜置 15 分鐘，以分光光度計讀取樣品在 510 nm 之吸光度。

(三) 氯仿萃取比色法

- 1、檢量線製備：配製一個空白和至少五種濃度的檢量線標準溶液，如分別精取 0、2.5、5.0、10.0、20.0 及 25.0 mL 酚標準溶液 B 定容至 500 mL，置於 1L 之分液漏斗中，其相對應濃度分別為 0、0.005、0.01、0.02、0.04、0.05 mg/L。依下述步驟 3、~ 8、操作，讀取吸光度，繪製酚含量對吸光度之檢

- 量線。
- 2、將 500 mL 蒸出液或適量蒸出液稀釋至 500 mL (樣品所含酚類應少於 $25 \mu\text{g}$) 置於 1L 之分液漏斗中。
 - 3、加入 10 mL 五、(四) 氨水-氯化銨緩衝溶液，混合均勻，此時樣品之 pH 為 10 ± 0.2 。
 - 4、加入 3.0 mL 五、(五) 4-氨基安替溶液，混合均勻。
 - 5、加入 3.0 mL 五、(六) 鐵氰化鉀溶液，混合均勻。
 - 6、靜置至少 3 分鐘，以 25 mL 氯仿萃取，搖動分液漏斗至少 10 次，靜置俟溶液分層後，再搖動分液漏斗 10 次後靜置分層。
 - 7、以鋪有 5g 無水硫酸鈉之濾紙或玻璃濃板漏斗將分液漏斗中之氯仿層過濾去除水份，收集氯仿萃取液。
 - 8、以分光光度計讀取樣品萃取液在 460 nm 之吸光度。

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酚類之濃度 (mg/L)，再依下式計算樣品中酚類之濃度。

$$A = A' \times F$$

A：樣品中酚類之濃度 (mg/L)。

A'：由檢量線求得樣品溶液中酚類之濃度 (mg/L)。

F：稀釋倍數。

九、品質管制

- (一) 檢量線：每次樣品分析前應重新製作檢量線，其線性相關係數(r 值) 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) 空白樣品分析：每批次或每 10 個樣品至少執行一次空白樣品分析，空白分析值應小於二倍方法偵測極限。
- (四) 重複樣品分析：每批次或每 10 個樣品至少執行一次重複樣品分析，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 個樣品至少執行一次查核樣品分析，其回收率應在 80~120% 範圍內。
- (六) 添加樣品分析：每批次或每 10 個樣品至少執行一次添加樣品分析，其回收率應在 75~125% 範圍內。

十、精密度與準確度

六家實驗室以氯仿萃取比色法分析濃度為 9.6、48.3 及 93.5 μ g/L 之樣品，其標準偏差分別為為 ± 0.99 、 ± 3.1 及 ± 4.2 μ g/L。

六家實驗室以直接比色法分析濃度為 4.7、48.2 及 97.0 mg/L 之樣品，其標準偏差分別為為 ± 0.18 、 ± 0.48 及 ± 1.58 mg/L。

十一、參考資料

- (一) USEPA, Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes, Method 420.1, Phenolics, EPA-600/4-79-020, March 1983
- (二) American Society for Testing and Materials. Standard Test Methods for Phenolic Compounds in Water, D1783-01, Annual Book of Standards, Vol. 11.02, pp.59-66, ASTM, Philadelphia, Pa. USA, 2001
- (三) American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed., Method 5530A,B,C & D, pp.5-40~5-44, APHA, Washington, D.C., USA, 1998.

註 1：本方法可測定鄰位、間位取代之酚類，在適當 pH 下，亦可測定對位為羧基 (carboxyl)、鹵素 (halogen)、甲氧基 (methoxyl) 及磺酸 (sulfonic acid) 取代之酚類，但無法測定對位為烷基 (alkyl)、芳香烴基 (aryl)、苯甲醯基 (benzoyl)、硝基 (nitro)、亞硝基 (nitroso) 或醛基 (aldehyde) 所取代之酚類。

註 2：本方法以酚為標準品，但各種酚類與 4-氨基安替吡啉反應所產生之顏色並不相同，通常被取代後之酚反應性降低，故所得之測值代表樣品中酚類物質的最低含量。

註 3：酚具有毒性，需非常小心使用。

註 4：廢液分類處理原則—本檢驗廢液依一般有機廢液處理。