

行政院環境保護署公告

中華民國 107 年 7 月 23 日

環署授檢字第 1070004530 號

主 旨：預告廢止「水中葉綠素 *a* 檢測方法－丙酮萃取法／分光光度計分析法（NIEA E507.03B）」。

依 據：行政程序法第 151 條第 2 項準用第 154 條第 1 項。

公告事項：

- 一、廢止機關：行政院環境保護署。
- 二、廢止依據：水污染防治法第 68 條。
- 三、廢止理由：旨揭公告已整併納入「水中葉綠素 *a* 檢測方法－丙酮萃取法／分光光度計分析法（NIEA E507.04B）」草案，爰配合辦理廢止預告。
- 四、原公告及廢止總說明如附件。本案另詳載於本署環境檢驗所網站（http://www.niea.gov.tw/niea/epa_www.asp）「環境檢測方法草案預告」網頁及公共政策網路參與平台之眾開講（<https://join.gov.tw/policies/>）。
- 五、對於本案內容有任何意見或修正建議者，請於本預告刊登公報之次日起 60 日內陳述意見或洽詢：
 - (一) 承辦單位：行政院環境保護署環境檢驗所
 - (二) 地址：桃園市中壢區民族路 3 段 260 號
 - (三) 電話：(03)4915818 分機 2103
 - (四) 傳真號碼：(03)4910419
 - (五) 電子郵件：henglun.lin@epa.gov.tw

署 長 李應元

水中葉綠素 *a* 檢測方法－丙酮萃取法／分光光度計分析法（NIEA E507.03B）廢止 總說明

「水中葉綠素 *a* 檢測方法－丙酮萃取法／分光光度計分析法（NIEA E507.03B）」（以下簡稱本方法）於一百零二年六月十八日公告，一百零二年九月十五日生效，因空白品質管制已不符合檢測實務需求，且本方法已整併納入「水中葉綠素 *a* 檢測方法－丙酮萃取法／分光光度計分析法（NIEA E507.04B）」草案，爰依水污染防治法第六十八條規定廢止本方法。

水中葉綠素 *a* 檢測方法—丙酮萃取法／分光光度計分析法

中華民國 102 年 6 月 18 日環署檢字第 1020051037 號公告

自中華民國 102 年 9 月 15 日生效

NIEA E507.03B

一、方法概要

水樣經玻璃纖維濾紙過濾後，濾紙以組織研磨器於 90%丙酮溶液中研磨萃取葉綠素 *a*，萃取液再以分光光度計測得吸光值，計算水樣中葉綠素 *a* 濃度。

二、適用範圍

本方法適用於地面水體、飲用水水源水質及海域地面水體之檢測。

三、干擾

- (一) 萃取後的萃取液與標準溶液易受溫度、光、酸及濁度所影響，應避免強光照射或接觸酸性物質。萃取液及標準溶液上機測試時，均須回溫至室溫。
- (二) 浮游植物內之其他色素，如葉綠素 *b*、*c*、葉黃素（xanthophyll）、藻膽色素（phycobilins）及類胡蘿蔔素（carotenoids）等會產生干擾。
- (三) 樣品具濁度時會產生干擾。

四、設備及材料

- (一) 量筒：100、500 mL 或 1 L 之量筒。
- (二) 玻璃纖維濾紙：直徑 47 mm 或 25 mm，平均孔徑約 0.7 μm （使用 Whatman GF/F 或同等級產品）。
- (三) 薄膜過濾裝置。
- (四) 真空抽氣裝置：水壓式、吸氣式或手動式，壓力差低於 0.2 kg/cm^2 （20 kPa）者為佳。
- (五) 鑷子。
- (六) 鋁箔紙。
- (七) 濾紙存放容器：能遮光，在運送過程及儲存時，可以存放含過濾樣本之濾紙，不受環境污染者。
- (八) 運送儲存器：旅行冰桶、液態氮桶、乾冰桶、冷凍保存盒或冰箱之冷凍櫃。
- (九) 冷凍櫃：可長期維持在 -10°C 以下。
- (十) 組織研磨器：具組織研磨效果者。
- (十一) 震盪器。
- (十二) 離心管：15 mL，具螺紋蓋。
- (十三) 離心機：懸臂式、可容納 15 mL 離心管、離心力可達 $675\times g$ 以上（*g* 為離心力，註 1）。
- (十四) 移液管：5 mL A 級玻璃移液管或同級品。
- (十五) 分光光度計：使用波長 664、647、630 及 750 nm，狹縫寬度（band width） ≤ 2.0 nm，吸光值靈敏度達 0.001，樣品槽光徑可為 1、2、5 或 10 cm（註 2）。

五、試劑

- (一) 試劑水：電阻值須大於 1 M Ω -cm。
- (二) 丙酮：層析級。
- (三) 90%丙酮溶液：試劑水與丙酮以體積比 1：9 配製，混勻後標誌清楚。

六、採樣及保存

- (一) 視水中浮游藻類密度而定，採取代表性水樣約 100 mL 至 4 L，記錄採樣體積、採樣時間及地點等。
- (二) 採樣後將水樣混合均勻，量取適量水樣（視水樣而調整），當日內儘速以玻璃纖維濾紙進行過濾完畢。當水樣接近抽濾至乾時，關閉抽氣裝置避免過度抽乾，過濾時間盡量在 10 分鐘內完成，過濾之水樣量以使濾紙呈微帶綠色或褐色者為佳。以鑷子移去濾紙，將含顆粒物面朝內摺，並用吸水紙將多餘水分吸乾，將濾紙置放於濾紙存放容器內包覆鋁箔避光，待進行萃取步驟。
 - 1、運送時間 4 小時內，濾紙可存放在冰桶（0~4℃）或其他低於 0℃之儲存器內如液態氮桶、乾冰桶或冰箱冷凍櫃。
 - 2、運送時間超過 4 小時，濾紙需存放在低於 0℃儲存器內如液態氮桶、乾冰桶、冷凍保存盒或冰箱冷凍櫃。
- (三) 過濾後之濾紙應保存低於-10℃冷凍櫃黑暗處，期限不可超過一個月。

七、步驟

(一) 萃取葉綠素 *a*

- 1、將組織研磨器、離心機架設妥當，調整工作台的照明至能操作之最低光度。
- 2、將濾紙移入研磨器內（如濾紙存放在冷凍櫃中，應先在暗處回溫），移入前可將濾紙剪成小片狀，以研磨棒將濾紙推到研磨器底部。加入 5 mL 90%丙酮溶液，研磨成泥狀（注意：研磨過程不可過熱，註 3）。以 5 mL 90%丙酮溶液潤洗研磨器及研磨棒後，將潤洗液與泥狀物混合置於離心管內，旋緊螺紋蓋震盪充分混合後，置於 4℃暗處浸泡至少 2 小時，但不得超過 24 小時，在此過程中至少應從 4℃暗處取出震盪混合一次。處理另一濾紙前，研磨管及棒需用丙酮溶液清洗，除任何殘留之物質，最後再以丙酮潤洗，才得進行下一個樣品濾紙研磨。
- 3、浸泡後，取出再震盪混合之，以離心力 675×g 離心 15 分鐘或以 1,000×g 離心 10 分鐘。於暗處回溫至室溫後，取其上清液，進行分光光度計測定。

(二) 分光光度計定量

- 1、將分光光度計暖機 30 分鐘以上，所有選定波長（750、664、647 及 630 nm），以 90%丙酮溶液進行儀器歸零。
- 2、將七、步驟(一)萃取液放入分光光度計之樣品槽中，分別讀取其在波長 750、664、647 及 630 nm 之吸光度值並記錄之。

八、結果處理

(一) 萃取液中葉綠素 *a* 之濃度 (C_a) (mg/L)

$$= 11.85(\text{Abs}_{664} - \text{Abs}_{750}) - 1.54(\text{Abs}_{647} - \text{Abs}_{750}) - 0.08(\text{Abs}_{630} - \text{Abs}_{750})$$

(二) 水樣中葉綠素 *a* 之濃度 ($\mu\text{g/L}$ 或 mg/m^3)

$$= \frac{C_a \times \text{萃取液體積 (mL)}}{\text{水樣體積 (L)} \times \text{樣品槽光徑 (cm)} / 1 (\text{cm})}$$

九、品質管制

(一) 萃取液在波長 664 nm 之吸光度必須介於 0.1 至 1.0 之間，否則須調整水樣過濾體積（註 4）或改用較長光徑之樣品槽。

(二) 所有的檢測過程－萃取和測定必須在避光下進行，並使用不透明不含酸容器以避免葉綠素 *a* 分解。

(三) 空白分析值：每批次樣品須以同批號玻璃纖維濾紙，依七、步驟(一)與樣品相同處理。空白分析須在最後一個作萃取，以了解是否被污染。

十、精密度及準確度

略

十一、參考資料

(一) APHA, AWWA and WPCF, Standard methods for the examination of water and Wastewater, 22nd ed., American Public Health Association, Washington D.C., 2012.

(二) ASTM, Standard practices for measurement of chlorophyll content of algae in surface waters, Designation: D3731-87, pp.15-18., 1987.

(三) Parsons, T.R., Maita, Y. and Lalli, C.M. Determination of chlorophylls and total carotenoids, Spectrophotometric method. In "A manual of chemical and biological methods for seawater analysis", Pergamon Press, N.Y. U.S.A. pp.101-104., 1984.

(四) Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. and Wright, S.W. Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods. UNESCO Press, 1995.

(五) U.S.EPA, In vitro determination of chlorophylls a, b, c1 + c2 and pheopigments in marine and freshwater algae by visible spectrophotometry. Method 446.0, 1997.

註 1：g 離心力與離心機轉速之關係，如下列公式。式中 rpm 為離心機每分鐘之轉速、R 為離心機半徑以公分 (cm) 表示。

$$\text{離心力 (g)} = \frac{1.118 \times (\text{rpm})^2 \times R}{10^5}$$

註 2：本方法應每季執行分光光度計功能測試，以確保波長之精準。使用 5 或 10 cm 樣品槽時，請確認萃取液液位高於偵測高度。

註 3：進行研磨萃取濾紙時，應在抽風櫃中操作，以減少操作人員吸入太多量之丙酮。本方法所使用之各種試劑其毒性或致癌性並不明確，可能對人體健康有害，應儘量避免可能的曝露並減少或消除廢棄物的量。

註 4：水樣已調整至可過濾之最大量，但是分光光度計波長 664 nm 吸光度仍無法達到 0.1 時，建議該水樣改用 NIEA E509 方法進行檢測。

註 5：檢驗室應有勞工主管機關對於各化合物之安全操作規定，並將有關資料分送實驗人員。

註 6：檢測產生之廢液依丙酮廢液處理原則處理。