

中華民國國家標準	深層海水檢驗法－氨之測定	總號	15091-29
CNS		類號	N7001-29

Method of test for deep sea water – Determination of ammonia

1. 適用範圍：本標準規定深層海水及天然海水氨濃度之檢驗。
2. 檢驗方法：海水中無機氨最常用的分析方法是利用氨在鹼性溶液中，先和次氯酸根形成氯胺(NH₂Cl)，再與酚(phenol)反應形成靛酚(indophenol)合物，由於反應速度較慢，須以亞硝醯鐵氰化鈉(sodium nitroprusside)催化，最後以分光光度計在 640 nm的波長下測定之(Pai et al., 2001)。
3. 器材及儀器
 - 3.1 天平：可精稱至 0.0001 g。
 - 3.2 量筒、燒杯、三角錐瓶數個。
 - 3.3 定容瓶：100 mL，6 支。
 - 3.4 自動分注器：1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 各 1 支。
 - 3.5 試劑水：蒸餾水或去離子水。
 - 3.6 市售低營養鹽海水。
 - 3.7 分光光度計：可解析至 0.001 A 之分光光度計 1 台。
 - 3.8 吸光槽：光徑長 5 cm(石英或玻璃材質均可)。
 - 3.9 抽氣櫃：具有處理有機廢氣功能者。
4. 試劑之配製
 - 4.1 反應試劑 1(酚試劑；Phenol): 取 10 g 的酚並以 95%(v/v)的酒精定容至 100 mL。當操作酚時，需戴手套，並在有可以去除酚抽氣櫃中進行，以減少暴露於此劇毒揮發性物質之危險。此試劑裝在玻璃瓶並放置於冷藏冰箱中可保存 1 個月。
 - 4.2 反應試劑 2(檸檬酸試劑；tri-sodium citrate dihydrate)：溶解 50 g 的檸檬酸鈉並以試劑水定容至 100 mL。此試劑裝在玻璃瓶並放置於冷藏冰箱中可保存 1 個月。
 - 4.3 反應試劑 3(鹼性 DIC 試劑)：溶解 1 g 二氯異氰酸鈉(dichloroisocyanuric acid sodium salt dihydrate)和 3.6 g 氫氧化鈉，並以試劑水定容至 100 mL。配製的體積可以依實際使用量調整，此試劑需於每次測定前配製，不能保存。
 - 4.4 反應試劑 4(氫氧化鈉溶液；sodium hydroxide solution)：溶解 4 g 的氫氧化鈉並以試劑水定容至 100 mL。此試劑裝在玻璃瓶或塑膠瓶並放置於冷藏冰箱中可保存 1 個月。
 - 4.5 反應試劑 5(亞硝醯鐵氰化鈉溶液；sodium nitroprusside solution)：溶解 0.5 g 的亞硝醯鐵氰化鈉，並以試劑水定容至 100 mL。此試劑裝在棕色玻璃瓶並放置於冷藏冰箱中可保存 1 個月。

(共 3 頁)

公布日期 97 年 3 月 28 日	經濟部標準檢驗局印行	修訂公布日期 年 月 日
-----------------------	-------------------	-----------------

5. 標準儲備溶液：市售濃度 100 μM 之氨氮標準儲備溶液(S)。
6. 檢量線的製作：建議之檢量線範圍介於 0~5 μM 之間。分別以吸管吸取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 之氨氮標準儲備溶液，分別注入 100 mL 的定容瓶中，並以試劑水定容至 100 mL，製成 1.0、2.0、3.0、4.0 及 5.0 μM 之標準溶液。並以試劑水作為空白試驗。
7. 分析步驟
- 7.1 檢量線分析步驟：以量筒量取 25 mL 的試劑空白及檢量線標準溶液，倒入三角錐瓶中，然後依序並連續加入各 1.0 mL 的反應試劑 1、反應試劑 2、反應試劑 3、試劑水、反應試劑 5，充分混合等待 2 小時後即可上機測量。特別注意反應試劑必需依序且連續加入，且反應後溶液的最終 pH 值為 10.5 \pm 0.1。
- 7.2 樣本分析步驟：以量筒量取 25 mL 的待測樣本，倒入三角錐瓶中。連續加入各 1.0 mL 的反應試劑 1~5，充分混合等待 1 小時後即可上機測量。特別注意反應試劑必需依序且連續加入，且反應後溶液的最終 pH 值為 10.5 \pm 0.1。
8. 品質管制：經量測到檢量線各標準溶液之吸光值後，可依下列公式進行線性迴歸以獲得吸光係數，若經線性迴歸後 $R^2 \geq 0.99$ 且計算得到之吸光係數與本方法建議之吸光係數值(ϵ)，兩者相對誤差在 $\pm 5\%$ 以內，即可進行未知濃度樣本之測定，如果未能達到上述標準，則需重新檢視整個實驗過程。

$$Y = m \times X$$

$$Y = [\text{Abs} - \text{bk}]_{\text{WS}}$$

$$X = b \times D \times [C]_{\text{WS}}$$

$[\text{Abs} - \text{bk}]_{\text{WS}}$ ：扣除試劑空白後實測檢量線各標準溶液之吸光值。

m ：使用無截距之線性迴歸後得到之斜率值，亦即是實驗所得之吸光係數值。

b ：吸光槽光徑長度(=5 cm)。

D ：稀釋倍率 = 0.862 = 25 / (25 + 1 + 1 + 1 + 1)。

$[C]_{\text{WS}}$ ：檢量線各標準溶液之濃度。

E ：相對誤差百分比 = $\frac{(\epsilon - m)}{\epsilon} \times 100\%$ 。

ϵ ：建議之吸光係數值 = 21000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 。

9. 樣本濃度計算方式：樣本在分光光度計 640 nm 波長下量測到吸光值後，可依下列公式計算出濃度(C)。

$$C (\mu\text{M}) = \frac{[\text{Abs} - \text{bk}]}{\epsilon \times b \times D} \times 10^6$$

$[\text{Abs} - \text{bk}]$ ：在波長 640 nm 下扣除試劑空白後實測到之樣本吸光值。

ϵ ：建議之吸光係數值(21000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)。

b ：吸光槽光徑長度(=5 cm)。

D ：稀釋倍率 = 0.833 = 25 / (25 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1)。

9.1 方法偵測極限：0.06 μM 。

備考

1. 在海水的有光層水體中存在有許多自然的有機顆粒（浮游生物），這些有機顆粒。也就是在有足夠溶解氧氣的海水中，氨鹽僅是一項過度的產物，除非水層有極度缺氧的有機顆粒在往深海沉降過程中會被細菌所分解產生氨鹽，氨鹽在有氧的環境中會逐漸被氧化成亞硝酸鹽，然後再進一步氧化成硝酸鹽。
2. 深層海水泛指位於海平面200公尺以下之海水，圖1就是在台灣東部深水海域使用本方法實測之海水氨濃度隨深度之變化情形。

圖1 台灣東岸台東知本深層海水氨濃度(NH₄)隨深度變化之檢驗實例

(現場採樣日期、位置與海底深度：2006年10月12日、121.0510oE；22.6275oN、670 m)。

