

中華民國國家標準	深層海水檢驗法－磷酸鹽之測定	總號	15091-12
CNS		類號	N7001-12

Method of test for deep sea water – Determination of phosphate

1. 適用範圍：本標準規定深層海水中磷酸鹽濃度之檢驗。
2. 檢驗方法：分析海水中無機磷酸鹽最常用的分析方法是利用酸性鉬酸銨試劑與海水中的磷反應形成 phosphomolybdate heteropoly acid，然後再利用還原劑形成藍色的化合物，最後以分光光度計在 880 nm 的波長下測定之。
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 自動或玻璃吸管：0.1、0.5、1.0、2.0、3.0 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(單光束或雙光束均可)。
 - 3.8 吸光槽：光徑長 5 cm(石英或玻璃材質均可)。
4. 試劑之配製
 - 4.1 反應試劑 1：鉬酸銨(Ammonium molybdate)混合溶液
 - 4.1.1 (a)在塑膠燒杯中，溶解 10 g 的鉬酸銨(Ammonium molybdate tetrahydrate)於 500 mL 的試劑水。
 - 4.1.2 (b)將 110 mL 的濃硫酸(95-97% H₂SO₄)緩緩倒入已事先裝了適當量(約 200 mL)試劑水的塑膠或 Pyrex 燒杯中(2000 mL 的燒杯)，等冷卻後再加試劑水至 500 mL。
 - 4.1.3 (c)溶解 0.5 g 的酒石酸氧錒鉀 (Potassium antimonyl tartrate)於 100 mL 的試劑水中。
 - 4.1.4 將以上 3 種試劑混合，但一定要依下列次序(第 4.1.5 節)混合。
 - 4.1.5 將(a)緩緩倒入(b)中攪拌均勻後，再加入(c)充分混合。此混合試劑裝在棕色玻璃瓶並放置於冷藏冰箱中可保存 1 個月以上。
 - 4.2 反應試劑 2 (抗壞血酸；Ascorbic acid)：溶解 3 g 的抗壞血酸並以試劑水定容至 100 mL，即為 3 % (w/v)抗壞血酸溶液。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。
5. 標準儲備溶液：市售濃度 100 μM 之磷酸鹽標準儲備溶液(S)。
6. 檢量線的製作：建議之檢量線範圍介於 0~3 μM 之間。分別以吸管吸取 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0 mL 之磷酸鹽標準儲備溶液(S)，分別注入 100 mL 的定容瓶中，並以

(共 3 頁)

公 布 日 期 96 年 6 月 26 日	經 濟 部 標 準 檢 驗 局 印 行	修 訂 公 布 日 期 年 月 日
--------------------------	---------------------	----------------------

試劑水定容至 100 mL，製成 0.1、0.5、1.0、2.0 及 3.0 μM 之標準溶液。並以試劑水作為空白試驗。

7. 分析步驟：以量筒量取 25 mL 的檢量線標準溶液或是待測樣水，倒入三角錐瓶中。加入 3.0 mL 的反應試劑 1 並充分混合後，加入 1.0 mL 的反應試劑 2 並充分混合，等待 30 分鐘後即可上機測量。
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。

$$Y = m \times X$$

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

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

$[\text{Abs} - bk]_{ws}$ ：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+3+1)]

$[C]_{ws}$ ：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(=22400 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

9. 樣本濃度計算方式：樣本在分光光度計 880 nm 波長下量測到吸光值後，可依下列公式計算出濃度(C)，

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

$[\text{Abs} - bk]$ ：在波長 880 nm 下扣除試劑空白後實測到之樣本吸光值

ϵ ：磷酸鹽的吸光係數(22400 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b ：吸光槽光徑長度(=5 cm)

D ：稀釋倍率[=0.862 =25/(25+3+1)]

9.1 方法偵測極限：0.03 μM

備考 1. 海水中的無機磷酸鹽主要是經由海水中的有機顆粒（主要是由浮游生物所組成）在沉降過程中逐漸被細菌分解所產生，為海水裡浮游植物生長所需要的營養成分，因此在上層的有光層水體中大部分的磷酸鹽均已被浮游植物所攝取，濃度相當低（除非是在有湧升流的海域），離開有光層後，愈往深海濃度會逐漸升高。

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磷酸鹽濃度隨深度之變化情形，在水深 200~1000 公尺之間的海水，磷酸鹽的濃度範圍約 0 介於 0.5~3.0 μM 之間。

圖 1 台灣東岸台東知本深層海水磷酸鹽(PO_4)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、 121.0633°E ； 22.6437°N 、650 m)

