

中華民國國家標準	深層海水檢驗法－亞硝酸鹽之測定	總號	15091-15
CNS		類號	N7001-15

Method of test for deep sea water – Determination of nitrite

1. 適用範圍：本標準規定於深層海水亞硝酸鹽之檢驗。
2. 檢驗方法：亞硝酸鹽的分析方法一般是使用所謂的 Pink Azo Dye 原理，水中的亞硝酸根與 aromatic amine 反應形成 diazonium compound 後，再繼續與 aromatic amine 反應形成 azo dye，最後以分光光度計在 543 nm 的波長下測定之。
3. 器具及材料
 - 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 共 6 支。
 - 3.4 自動或玻璃吸管：0.05、0.1、0.3、0.5、1.0 mL 各 1 支。
 - 3.5 試劑水：蒸餾水或去離子水。
 - 3.6 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)。
 - 3.7 吸光槽：光徑長 5 cm(石英或玻璃材質均可)。
4. 試劑配製
 - 4.1 反應試劑 1(Acid Sulfanilamide 試劑)：溶解 20 g 的 Sulfanilamide 於約 800 mL 的試劑水中，然後在緩緩倒入 150 mL 的濃氫氯酸(37% HCl)，冷卻後再以試劑水定容至 1000 mL。最終之磺胺試劑濃度為 2% (w/v)。此試劑裝在棕色玻璃瓶並放置於冷藏冰箱中可保存 2 個月以上。
 - 4.2 反應試劑 2〔 NED(N-1-Naphthyl-ethylenediamine dihydrochloride)試劑〕：溶解 0.3 g 的 NED 並以試劑水定容至 100 mL，最終之 NED 濃度為 0.3% (w/v)。此試劑需於每次測定前配製。
5. 標準儲備溶液：市售濃度 100 μ M 之亞硝酸鹽標準儲備溶液(S)。
6. 檢量線的製作：建議之檢量線範圍介於 0~1 μ M 之間。分別以吸管吸取 0.05、0.1、0.3、0.5、1.0 mL 之亞硝酸鹽標準儲備溶液(S)，分別注入 100 mL 的定容瓶中，並以試劑水定容至 100 mL。並以試劑水作為空白試驗。
7. 分析步驟：以量筒取 20 mL 的檢量線標準溶液或是待測樣水，倒入三角錐瓶中。加入 0.5 mL 的反應試劑 1，充分混合後等約 5 分鐘。再加入 0.5 mL 的反應試劑 2，充分混合後即可上機測量。
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 Pai et al.(1990) 建議之吸光係數值，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。

(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
-----------------------	------------	-----------------

$$Y = m \times X$$

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

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

$[\text{Abs} - \text{bk}]_{\text{ws}}$ ：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(=0.926) [=25/(25+1.0+1.0)]

$[C]_{\text{ws}}$ ：檢量線各標準溶液之濃度

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

ε ：Pai et al. (1990)建議之吸光係數值(=53000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

9. 樣本濃度計算方式：樣本在分光光度計 543 nm 波長下量測到吸光值後，可依下列公式計算出濃度(C)，

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

$[\text{Abs} - \text{bk}]$ ：在波長 543 nm 下扣除試劑空白後實測到之樣本吸光值

ε ：亞硝酸鹽的吸光係數(53000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b ：吸光槽光徑長度(=5 cm)

D ：稀釋倍率(=0.926) [=25/(25+1.0+1.0)]

9.1 方法偵測極限：0.01 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)存在，這些有機顆粒在往深海沉降過程中會被細菌所分解，首先釋放出氨鹽，氨鹽會逐漸被氧化成亞硝酸鹽，然後再進一步氧化成硝酸鹽。也就是在有足夠溶解氧氣的海水中，亞硝酸鹽僅是一項過度的產物，除非水層有極度缺氧的狀況，否則在有光層深度以下通常就不會有亞硝酸鹽的存在。
2. 深層海水泛指位於海平面 200 公尺以下之海水。圖 1 為在台灣東部深水海域使用本方法實測之海水亞硝酸鹽濃度隨深度之變化情形，在水深 200 公尺以下海水亞硝酸鹽的濃度幾乎不存在。

圖 1 台灣東岸台東知本深層海水亞硝酸鹽(NO_2)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)

