

中華民國國家標準	深層海水檢驗法－硝酸鹽之測定	總號	15091-14
CNS		類號	N7001-14

Method of test for deep sea water – Determination of nitrate

1. 適用範圍：本標準規定於深層海水硝酸鹽之檢驗。
2. 檢驗方法：硝酸鹽最普遍被使用的分析方法是利用 Cd-Cu 還原管柱將海水中的硝酸鹽先還原成亞硝酸鹽後，再依亞硝酸鹽的測定方法進行，亦即利用 Pink Azo Dye 原理，將已被還原的亞硝酸根與 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 6 支。
 - 3.4 自動或玻璃吸管：0.5、1、2、3、4 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 1 cm 1 個（石英或玻璃材質均可）。
4. 試劑配製
 - 4.1 反應試劑 1(NH₄Cl 試劑)：溶解 10 g 的 NH₄Cl 於 1000 mL 的試劑水，然後用 25% 的氨水約 1.5 mL，將此緩衝溶液的 pH 值調整至 8.5。
 - 4.2 反應試劑 2(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 Sulfanilamide 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三個月。
 - 4.3 反應試劑 3〔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 1000 μM 之硝酸鹽標準儲備溶液(S)。
6. 還原管柱的製作
 - 6.1 材料與試劑
 - 6.1.1 T 型玻璃管：長約 20 cm，內徑約 4 mm。如附圖 1。
 - 6.1.2 鎘粒：約介於 40~60 mesh 之間。
 - 6.1.3 玻璃棉。
 - 6.1.4 稀氫氯酸溶液：10%的 HCl(37%)。

(共 4 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
--------------------------	---------------------	----------------------

6.1.5 硫酸銅：溶解 1 g 的硫酸銅($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)於 100 mL 的試劑水中。

6.1.6 氯化銨緩衝溶液：溶解 10 g 的氯化銨(NH_4Cl)於 1000 mL 的試劑水，然後用 25% 的氨水約 1.5 mL，將此緩衝溶液的 pH 值調整至 8.5。

6.1.7 100 μM 的硝酸鹽緩衝溶液：取 50 mL 的標準儲備溶液(S)加入氯化銨緩衝溶液至 500 mL。

6.2 製作方法

6.2.1 先用稀氫氯酸溶液把鎘粒表面的氧化物去除，然後再以試劑水清洗乾淨。

6.2.2 將乾淨的鎘粒裝填入 T 型玻璃管柱裡，輕輕敲打以使在玻璃管柱內的鎘粒密集，玻璃管柱出口端用玻璃綿填塞。

6.2.3 將 30 mL 的硫酸銅溶液以 6~8 mL/min 的速度通過已裝填好鎘粒的 T 型管柱，隨後以試劑水潤洗。

6.2.4 將 250 mL 的硝酸鹽緩衝溶液以約 2 mL/min 的速度緩慢通過 T 型管柱，隨後以氯化銨緩衝溶液潤洗，就完成鎘銅還原管柱的製作。此時還原效率應可達到近 100%，如還原效率低於 90% 時就應重新製作。

7. 檢量線的製作：建議之檢量線範圍介於 0~40 μM 之間。分別以吸管吸取 0.5、1、2、3、4 mL 之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。

8. 分析步驟：以量筒量取 50 mL 的檢量線標準溶液或是待測樣水，以反應試劑 1 (緩衝溶液) 稀釋至 100 mL。再以 5~8 mL/min 的速度將樣本通過已活化好的鎘銅還原管柱，前面 30 mL 做為潤洗還原管柱之用，之後再收取 20 mL 的樣本於反應瓶中，加入 0.5 mL 的反應試劑 2 至反應瓶中，充分混合後等約 1 分鐘。再加入 0.5 mL 的反應試劑 3 至反應瓶中，充份混合後即可上機測量。

9. 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。

$$Y = m \times X$$

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

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

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

10. 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)，

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

[Abs-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(=1 cm)

D：稀釋倍率(=0.926) [=25/(25+1.0+1.0)]

10.1 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，氨鹽最終會被氧化成硝酸鹽。硝酸鹽是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硝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 2 為在台灣東部深海水域使用本方法實測之海水硝酸鹽濃度隨深度之變化情形，在水深 200 ~ 1000 公尺之間的海水，硝酸鹽的濃度範圍約介於 10 ~ 40 μM 之間。

圖 1 鎘銅還原管柱製作及硝酸鹽樣水還原過程示意圖

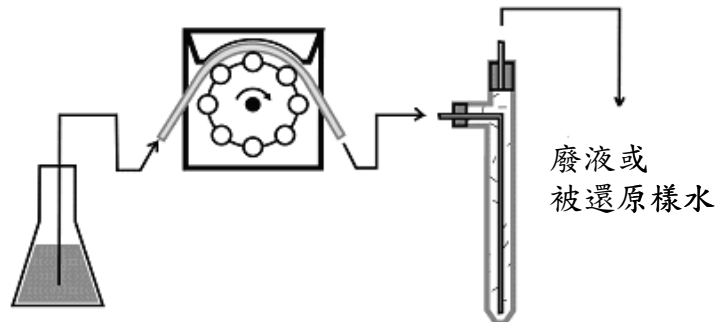


圖 2 台灣東岸台東知本深層海水硝酸鹽(NO_3)隨深度變化之檢驗實例(現場採樣日期、位置與海底深度：2006 年 10 月 12 日、 121.0633°E ； 22.6437°N 、650 m)

