

國立臺灣大學理學院海洋研究所

碩士論文

Graduate Institute of Oceanography

College of Science

National Taiwan University

Master Thesis

以鎳銅管還原法測定河口環境中硝酸鹽之

鹽度干擾及解決之道

Elimination of salt effect for the determination of nitrate  
in estuarine waters

甯愛華

Ning, Ai-Hua

指導教授：白書禎 博士

Advisor: Pai, Su-Cheng, Ph.D.

中華民國 97 年 7 月

## 誌 謝

一直期待寫這篇致謝的時刻來臨，首先當然要謝謝白老大這兩年的教導，使我能夠順利跨出海研所研究大門。我會懷念老師在修改論文、投影片時，氣到拍桌的畫面，以及在 315 研究室裡跟我們分享新鮮事，笑到岔氣的情景。還喜歡告訴我們許多不一樣的人生觀念，令我深深覺得真的沒有跟錯老師。其次承蒙溫老師、方老師和熊老師的指導與建議，使我的思慮更縝密，論文更完整。

接著謝謝淑惠姊親切的問候與關心，增添 315 研究室溫馨的氣氛；感念蘇大哥和宜鴻、冠綸、志強、卉婷、家倫、盈君與怡芳這群學長姊熱心的教導，不僅讓我對實驗方法快速上手，也使研究生活增加許多歡樂的氛圍；很開心有丁丁時常與我相互討論研究中碰上的瓶頸，彼此切磋成長。

謝謝丁丁、芳姊、凱莉、士維、承軒、寶弟、闕喜、聞璞以及樞展助我修改論文，使論文的文句更加順暢。謝謝各位以及家人，因為有你們的付出與支持，才得以完成這本論文。



## 摘 要

當今常以鎘銅還原法作為測定自然水體中硝酸鹽的方法，但河口環境中廣鹽性的樣本，卻會對鎘銅還原法產生干擾。本文利用不同鹽度的標準品，對鎘銅還原法進行分段測試，得知改變樣本的鹽度會影響鎘銅管的還原率，且觀察出緩衝錯合試劑的成分與酸鹼值也會造成還原反應的差異，因而以氯化銨、乙二胺四乙酸的濃度、酸鹼值為試劑變化因子，進行緩衝錯合試劑、鹽度與還原率三者之間的系列實驗，得到最適合測定廣鹽性樣本的緩衝錯合試劑，其成分為 4% w/v 氯化銨混合 0.5% w/v 乙二胺四乙酸，並以氫氧化鈉調整酸鹼值至 7.5。此緩衝試劑能大幅降低鹽度干擾，且使還原率隨鹽度呈現近似線性的變化。當分析全數樣本後，求得淡、海水標準品的還原率，算出鹽度修正公式  $E(S) = a \cdot S + E(\text{DDW std})$ ，其中  $a = (E(\text{SW std}) - E(\text{DDW std})) / \Delta S$ ，將校正後的還原率代入硝酸鹽的計算  $([\text{NO}_3^-] = \{ (\text{Abs}_{\text{total}} / k_{\text{NO}_2^-}) - [\text{NO}_2^-] \} / E(S))$ ，即可得到準確的濃度值。

## Abstract

The precision and accuracy of the copper-cadmium reduction method for nitrate determination have been evaluated for estuarine waters, and the interference induced by salinity has been studied. An erratic decay trend on the efficiency of the reduction column was found as salinity increases. Further study indicates that the efficiency is closely related to the concentration and pH of the complexing reagents (  $\text{NH}_4\text{Cl}$  or EDTA ) add prior to allowing the sample to pass through the column. Application of a combination of 4% w/v  $\text{NH}_4\text{Cl}$  and 0.5% w/v EDTA gives more stable results than using either reagent alone. However, for estuarine samples with a wide salinity, the raw readings still need correction. Empirical formulae are proposed for this purpose:

$$E(S) = a \cdot S + E(\text{DDW std})$$

$$a = (E(\text{SW std}) - E(\text{DDW std})) / \Delta S$$

$$[\text{NO}_3^-] = \{ (\text{Abs}_{\text{total}} / k_{\text{NO}_2^-}) - [\text{NO}_2^-] \} / E(S)$$

where  $E$ ,  $a$ ,  $S$ ,  $k$  represent efficiency of the column, slope, salinity, and slope for nitrite respectively. The above equation set provides a more accurate and convenient way to calculate the concentration of nitrate in estuarine environment with salinity ranging from 0 to 35.

# 目 錄

口試委員會審定書

誌謝

中文摘要.....	i
英文摘要.....	ii
目 錄.....	iii
圖目錄.....	v
表目錄.....	vi

第一章 緒論.....	1
1.1 概述.....	1
1.2 硝酸鹽測定方法的演進.....	2
1.3 硝酸鹽分析方法測定上的盲點.....	3
1.4 研究目標.....	4

第二章 鹽度對鎘銅還原法測定硝酸鹽的干擾.....	6
2.1 概述.....	6
2.2 鹽度對鎘銅還原法的影響.....	6
2.2.1 亞硝酸鹽呈色的試驗.....	7
2.2.2 鹽度對硝酸鹽呈色的影響.....	10
2.3 各家方法受鹽度影響的情況.....	11
2.4 本章綜合討論.....	14

第三章 緩衝錯合試劑的試驗.....	24
--------------------	----

3.1 概述.....	24
3.2 試劑成分的選擇.....	24
3.2.1 探討乙二胺四乙酸的濃度與酸鹼值對試劑之影響.....	25
3.2.2 變換試劑中銨濃度的影響.....	27
3.2.3 建議試劑配方.....	29
3.3 緩衝錯合試劑基本應用條件測試.....	29
3.3.1 樣本與試劑之添加比例的測定.....	29
3.3.2 試劑有效保存期間之測試.....	31
3.3.3 試劑對鎘銅還原管穩定度的影響.....	32
3.4 本章綜合討論.....	33
第四章 感潮帶樣本的實測.....	52
4.1 概述.....	52
4.2 實驗室內系統測試.....	52
4.2.1 數據計算方法.....	52
4.2.2 標準添加試驗.....	55
4.2.3 檢量線線性範圍探討.....	56
4.3 實測河口環境樣本.....	58
第五章 結論.....	71
參考文獻.....	73

## 圖 目 錄

圖 1.1 以 $\text{CuSO}_4$ coating 鎳絲的鎳銅還原管在不同鹽度下之還原率.....	5
圖 2.1 無動力汲樣系統裝置圖.....	16
圖 2.2 硝酸鹽流動注入分析儀示意圖.....	17
圖 2.3 亞硝酸鹽標準品其吸光值隨鹽度的變化.....	18
圖 2.4 多重複測試之硝酸鹽標準品其吸光值與鹽度的關係圖.....	19
圖 2.5 在不同緩衝錯合試劑中，鎳銅管還原率與鹽度變化圖.....	20
圖 3.1 試劑中乙二胺四乙酸含量與酸鹼值的改變，其相對吸光值隨鹽度的變化 .....	35
圖 3.2 不同緩衝試劑的相對吸光值以及反應過程中酸鹼值的變化.....	37
圖 3.3 不同乙二胺四乙酸、氯化銨的濃度與酸鹼值的條件下，相對吸光值隨鹽度 的變化趨勢.....	39
圖 3.4 氯化銨混合乙二胺四乙酸試劑的多重複測試.....	42
圖 3.5 緩衝試劑添加比對 $10\ \mu\text{M}$ 硝酸鹽標準品吸光值的影響.....	43
圖 3.6 緩衝錯合試劑的有效期限測試.....	44
圖 3.7 硝酸鹽流動注入分析的延時觀測.....	45
圖 3.8 鎳銅管衰退速率與鹽度的關係.....	46
圖 4.1 還原率修正示意圖.....	61
圖 4.2 硝酸鹽流動注入分析儀示意圖.....	62
圖 4.3 含鹽度硝酸鹽樣水標準添加之回收率.....	63
圖 4.4 淡水河採樣站位圖.....	64
圖 4.5 鹽度校正公式圖.....	65
圖 4.6 選用不同緩衝溶液測定淡水河流域之硝酸鹽濃度值的比較.....	66

## 表 目 錄

表 2.1 重複試驗之硝酸鹽標準品受鹽度干擾的吸光值數據.....	21
表 2.2 各家方法的樣本緩衝試劑比與呈色試劑添加量.....	22
表 2.3 依照文獻方法測定不同鹽度 10 $\mu$ M 硝酸鹽標準品的吸光值比較.....	23
表 3.1 試劑酸鹼值與乙二胺四乙酸濃度的變異，其相對吸光值與反應過程酸鹼值 之數據.....	47
表 3.2 不同酸鹼值，氯化銨、乙二胺四乙酸濃度的試劑，相對吸光值隨鹽度變化 的數據.....	49
表 3.3 新舊幫浦管對 10 $\mu$ M 硝酸鹽標準品吸光值的影響.....	50
表 3.4 緩衝試劑的存放期限對於各種淡海水混合比例硝酸鹽標準品之吸光值數據 .....	51
表 4.1 模擬河口樣本標準添加之實測濃度值與回收率.....	67
表 4.2 淡水樣本之檢量線線性範圍.....	68
表 4.3 海水樣本之檢量線線性範圍.....	69
表 4.4 淡水河樣本實驗數據.....	70

# 第一章 緒論

## 1.1 概述

在生態系中，氮對於生物體內蛋白質與胺基酸的合成扮演重大角色，因此氮循環的研究佔有重要地位。水圈中以氮氣( $N_2$ )含量最為豐富，但其穩定的鍵結型態，僅能被少數生物利用，此外尚有有機、無機的氮化合物，其濃度約氮氣的十分之一( Frank, 2006 )，無機氮化合物其氧化數橫跨+5 至-3，包含了硝酸根( $NO_3^-$ )、亞硝酸根( $NO_2^-$ )、二氧化二氮( $N_2O_2$ )、一氧化二氮( $N_2O$ )、羥胺( $NH_2OH$ )和銨根( $NH_4^+$ )等( Riley and Chester, 1971 )，但僅有硝酸鹽、亞硝酸鹽、氮氣是少數可偵測到的無機氮物種( Head, 1985 )。三個物種間的轉換，主要受到水體中生物作用與氧化還原條件影響。當水中含氧量高時，某些細菌即可進行硝化作用，將氮( $NH_3$ )或銨根氧化成亞硝酸根或是硝酸根，反應式如下( Bianchi, 2007 )：



生物將銨根或硝酸根轉換為有機氮，而有機氮在缺氧環境中經過再生作用又能轉變為銨根，如此循環不息。

本文著重於硝酸鹽的測定，其是分析海水、河川或其他水體的必測項目，可用於研究氮循環和生物作用。在開放性的大洋中，硝酸鹽的垂直分佈型態：表層測值極低，近乎於零；到了次表層後，含量則隨深度遞增，約在 1000 m 時出現極大值約 40  $\mu M$ ，之後濃度值些微地向下遞減( Libes, 1992 )。而河川中硝酸鹽的濃度範圍，以淡水河為例，濃度約在 10-50  $\mu M$  不等( Liu et. al, 2007 )，因季節而有所差異；至於河海交接處，因面臨持續不斷的物理混合作用，又有住家、工商業等廢水的排入，使得氮物種間轉換快速，濃度變異極大，再加上鹽度落差大，影響許

多物理化學特性，提高了河口環境的硝酸鹽測定的難度。

## 1.2 硝酸鹽測定方法的演進

目前硝酸鹽測定的方法可區分為直接測定與間接測定兩種模式。

直接測定硝酸鹽的方法可使用離子交換層析法( Small et al., 1975 )，或以 220 nm 與 275 nm 雙波長的紫外光光度計進行測量( Armstrong, 1963 )。上述的方法成功地應用於淡水樣品，但對於分析海水樣本，其中眾多的離子會產生波譜進而干擾測定。也有學者提出電極法( Langmuir and Jacobson, 1970 )、利用 uranyl 催化還原反應的電解法，或是使有機物( brucine, diphenylbenzidine,... )(Jenkins and Medsker, 1964; Atkins, 1954 )先與硝酸鹽形成顯色複合物後，再進行測量。這些方法易受到海水中氯離子的影響，靈敏度又不佳，或是操作方法不適用於船上現場測定，使得直測的方法皆不受海洋學家的青睞。

間接測定的方法可以追溯至十九世紀後期，當時已普遍採用磺胺酸奈乙二胺法分析亞硝酸鹽( Griess, 1879 )。於是海洋學家開始構思將硝酸鹽還原成亞硝酸鹽後，再進行亞硝酸鹽的呈色測定，此即硝酸鹽還原法的起源。

但究竟該選擇何種化合物來還原硝酸鹽呢？早期 Mullin and Riley( 1955 )嘗試用與硝酸鹽同質的聯氨( hydrazine )，將其配製於鹼性溶液中，再添加銅離子作為催化劑，藉以還原硝酸鹽。但本配方反應耗時，十分依賴多項額外條件的控制，且測值波動幅度很大，不易定量，雖有學者修改本方法，但還原率嚴重地受到溫度影響，因此較少被採用。

異質性的還原化合物，大多以金屬來擔任，其反應方程式如下( Grasshoff, 1999 )：



最早 Føyn 於 1951 年挑選鋅粉組成還原管，但此方法樣本的事前處理步驟較為麻煩，且容易受溫度影響，雖然 Chow and Johnstone( 1962 )亦有研究，改將鋅粉配製於氨的溶液中，並加入四價錳離子催化反應，但仍受溫度及其他因子影響，而難有大幅度改善。在 1960 年，由 Pötzl and Reiter 開啟了以金屬鎘作為還原媒介的紀元，學者認為鎘在例行的海水硝酸鹽分析上有發展的潛力，這也從 Morris and Riley( 1963 )的研究中得了印證。鍍汞後的鎘粒在 0-35°C 之間，幾乎克服溫度的干擾，且不受海水中離子的影響；到了 1967 年，由 Wood et al.提出以銅溶液來浸鍍鎘，從此之後許多學者紛紛改以自動化程序來統一實驗條件( Grasshoff, 1970; Stainton, 1974 )，增加鎘銅還原法的再現性。兩者的結合，成了今日海洋界廣泛使用的以自動分析( Bubble-segmented flow automated analysis，簡稱 BFAA )方式的鎘銅還原法。

本實驗室近年在鎘銅還原法的研究也大有斬獲，在製備還原管柱程序中，改變硫酸銅浸鍍液的濃度，使得剛鍍銅的鎘管能快速達到穩定。自動分析這方面，設計了無載流上樣，提升低濃度硝酸鹽分析的靈敏度，及解決載流與樣本之間介面干擾的問題( 江, 2003 )；或是自製去氣泡裝置，減少樣本注入時轉動六向閥造成的誤差( 謝, 2007 )。

### 1.3 硝酸鹽分析方法測定上的盲點

除了陸地與海洋，六〇年代開始出現了統一的名詞-河口( estuary )，用以描述介於陸地排出的淡水與開放性的海洋之間的半封閉水域 ( Hobbie, 2000 )。河口受到河水、潮汐與波浪的持續作用，在複雜的動態混合環境中，擁有豐富的生物多樣性，故河口科學逐漸受到重視，而硝酸鹽便成為河口環境的生地化整合性研究中，營養鹽測定的重點項目之一。

早期學者研究方向大多放在如何消除海水中離子的影響，藉由逐步的改良方法，達到測定海水中硝酸鹽的目標。現今公認鎘銅還原法為最適用於分析海水及

淡水中的硝酸鹽，但對於河口環境樣本的適用性，卻少有人關注與討論，由於感潮帶的水樣有幾個特點：濃度變化大、濁度高和鹽度差異大，鹽差效應又會影響水體的物理化學特性，如離子強度、酸鹼值、氧化還原電位和緩衝能力等，基於上述的各點，同時測定廣鹽性( Salinity 0~35 )的水樣，鎘銅還原法是否會受到鹽度差異的影響，鮮少有論文提及，江( unpublished )曾提及鎘銅管還原率受鹽度影響，參考圖 1.1，但是還原管再現性仍不近完美，單憑一次測試無法驟下定論，鹽度是否干擾鎘銅還原法分析硝酸鹽仍須驗證，倘若鹽度真的會影響測定方法，其影響的程度能否量化，再藉由修正公式回推真實濃度？實在是感潮帶樣水中硝酸鹽測定的當前議題。

#### 1.4 研究目標

為了能準確測定河口環境中的硝酸鹽，本研究期望達成以下目標：

- (1) 確認鎘銅還原法測定硝酸鹽的鹽度干擾。
- (2) 尋找最不受干擾的條件。
- (3) 訂立修正公式，並實測樣本驗證。

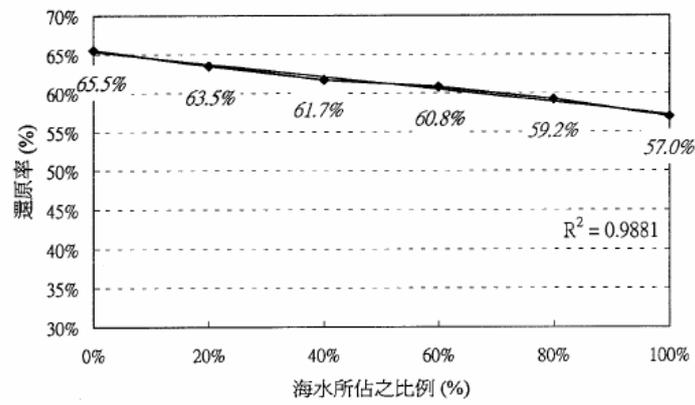


圖 1.1 以  $\text{CuSO}_4$  coating 銅絲的銅銅還原管在不同鹽度下之還原率。本圖摘錄自江未發表之實驗報告。





測定，再排放至廢液桶。本研究的流程板以 Pai and Riley( 1994 )設計硝酸鹽流動注入分析儀為藍圖，再依實驗需求稍加修改，試劑亦參考文中的配方。

### 2.2.1 亞硝酸鹽呈色的試驗

鎘銅還原法可以分為兩大部分，一為還原部分，另一為亞硝酸鹽測定部分。已知亞硝酸鹽的最終呈色結果不受鹽度影響，但從 Pai and Yang( 1990 )的論文中得知反應速率卻隨鹽度而異，由於流動注入分析儀其反應完成度未達 100 %，此種因素是否會造成吸光值受鹽度影響尚未知曉，因此本小節欲利用同濃度但不同鹽度的亞硝酸鹽標準品，以徒手操作或硝酸鹽流動注入分析儀進行測定，比較兩種方式求得的亞硝酸鹽吸光值是否受到鹽度影響。

#### (1) 實驗儀器設備

(a) 分光光度計：手測分析使用 HITACHI 的 U2001 雙光束分光光度計，外加無動力汲樣系統( 參見圖 2.1 )，而流動注入分析方法則搭配 Metertech 型號為 SP-880 的分光光度計，可外接電腦儲存數位化數據。

(b) 流動槽：Hellma 10 mm 石英流動槽兩個，型號為 176.000，分別裝置在上述分光光度計中，槽內體積為 450  $\mu$ l。

(c) 流動注入分析( Flow injection analysis, 簡稱 FIA )流程板：本次實驗流程板由內徑 0.8 mm 的鐵氟龍管拼接而成，示意圖詳見圖 2.2，以 Pai and Riley( 1994 )的設計為藍圖，但去除控制樣本的六向閥，改為載流前端加裝七向閥，目的在於簡易更換標準品，並能連續注入利於觀察。當標準品汲入後先與氯化銨試劑混合，流經鎘銅還原管後，先後加入酸性磺胺試劑與奈乙二胺試劑，經過較長的迴圈使其混合均勻並反應，再進入分光光度計進行測定。本流程板在蠕動幫浦轉速為 15 rpm 測試時，樣水與試劑的添加比大約為 25 : 1，實際操作時，將幫浦轉速調整為 25 rpm，加熱槽控溫約 40 $^{\circ}$ C，由於流速與溫度會影響呈色反應的完全與否，依據

上述的條件，可藉由亞硝酸鹽標準品的吸光值，與幫浦停機後於光槽中持續反應至穩定的讀值比較，得到本流程板的反應完成度為 92%( 江, 2003 )。

( d ) 鍍銅還原管：將磨碎後的鍍銅粒過篩，取 25 – 60 mesh 之間的鍍銅粒，先以 3N 的鹽酸( HCl )清洗鍍銅金屬，沖淋二次蒸餾水( DDW )，再放入盛裝有 0.1% 硫酸銅(  $\text{CuSO}_4$  )溶液的燒杯中約 20 秒，使用二次蒸餾水洗淨後，將其裝填至長約 20 cm、內徑約 2 mm 的軟管，整個管柱需注滿二次蒸餾水，鍍銅管的出口端以適量的玻璃纖維塞住，防止鍍銅的鍍銅粒流出干擾測定，製備完成後可保存於冷凍庫，降低鍍銅管的氧化。

( e ) 蠕動幫浦：ismaTec 廠牌的 MCP Standard drive，測定時轉速為 25 rpm。

( f ) 幫浦管：使用 ismaTec 出產的幫浦管，其管壁材質為 pharMed，兩種管徑分別是：管的兩端顏色為紫色( purple – purple )，內徑( id )為 2.06 mm，管壁厚度為 0.84 mm；另一種色標為橘綠( orange – green )，內徑為 0.38 mm，管壁厚度為 0.90 mm。兩種尺寸全新的幫浦管在蠕動幫浦 ismaTec ICP – 8 轉速為 15 rpm 的條件下測定，流量約為 2.5 ml/min、0.1 ml/min，隨著幫浦管使用的時間增加，流量會跟著變動，導致樣本試劑比改變。

( g ) 加熱器：Firstek B206 型加熱器，測定時溫度控溫在 40°C 左右。

( h ) 離心管：Falcon 型號 2070 的 50 ml 離心管。

( i ) 移液管：Brand 1000  $\mu\text{l}$  移液管( pipet )兩支，校正後的 Fortuna 玻璃移液管一組，包含 1-5, 10 ml 各一支。

( j ) 定量瓶：經過校正的 Pyrex 定量瓶 50、100、200、250、500、1000 ml 一套。

( k ) 天平：使用 Mettler Toledo XS204 型的四位數天平。

( l ) 酸鹼度計：Mettler Toledo MP203 型的 pH meter。

## ( 2 ) 試劑與標準品的配製

使用 Merck GR 級藥品調配以下試劑、標準品。

( a ) 2% w/v 氯化銨試劑：取 20 g 的氯化銨( ammonium chloride,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $W=53.49 \text{ g/mol}$ )溶於 1000 ml 的二次蒸餾水中。

( b ) 15% v/v 鹽酸溶液：將 1000 ml 的定量瓶裝入七分滿的二次蒸餾水，以量筒盛裝 150 ml 的濃鹽酸( 37% hydrochloric acid,  $\text{HCl}$ )緩緩倒入瓶中，待其冷卻後加入( c )藥品再定量至 1000 ml。

( c ) 2% w/v 酸性磺胺試劑：量秤 20 g 的磺胺粉末( sulphanilamide,  $\text{SUL}$ ,  $W=172.21 \text{ g/mol}$ )溶於 1000ml 15% v/v 的鹽酸溶液。

( d ) 0.3% w/v 奈乙二胺試劑：取 0.30 g 的奈乙二胺藥品( N-1-Naphthyl-ethlenediaminedihydrochloride,  $\text{NED}$ ,  $W=259 \text{ g/mol}$ )溶於二次蒸餾水中，並定量至 100 ml，倒入以鋁箔紙包覆或褐色的瓶中保存。

( e ) 5000  $\mu\text{M}$  亞硝酸鹽母液( stock solution )：舀一藥勺的亞硝酸鈉( sodium nitrite,  $\text{NaNO}_2$ ,  $W=69.00 \text{ g/mol}$ )放入燒杯中，在 105 $^\circ\text{C}$ 烘箱中乾燥一小時後，秤取接近 0.3450 g，以二次蒸餾水定容至 1000 ml 定量瓶中。

( f ) 不同鹽度 10  $\mu\text{M}$  亞硝酸鹽標準品：以玻璃移液管取 2 ml 的 5000  $\mu\text{M}$  的亞硝酸鹽母液至定量瓶中，加入不同淡海水( 淡水為二次蒸餾水，海水則是南海經過 0.45  $\mu\text{m}$  過濾後的表層海水 )混合比例的溶液 (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) 稀釋，定量至 1000 ml。

( g ) 0.1% w/v 硫酸銅溶液：取 0.1 g 的無水硫酸銅粉末( copper( II ) sulfate,  $\text{CuSO}_4$ ,  $W=159.61 \text{ g/mol}$ )溶於 100 ml 的二次蒸餾水中。

( h ) 3N 稀鹽酸溶液：倒入 25 ml 12N 的濃鹽酸於燒杯中，以二次蒸餾水稀釋至 100 ml。

### (3) 步驟

整個實驗可以分為兩部分進行，先收集已流經鑄管後的 25 ml 標準品至離心

管，加入 1 ml 的磺胺(SUL)試劑，等待一分鐘後，再添加 1 ml 的奈乙二胺(NED)試劑，搖晃均勻，三分鐘後於波長 543 nm 進行吸光值測定。另一部份直接以硝酸鹽流動注入分析儀進行測定。

#### (4) 數據討論

從圖 2.3 可以看出通過錫管後的亞硝酸鹽樣本，不論手動加藥測定或以流動注入分析儀量測，亞硝酸鹽標準品的吸光值不受鹽度變化的影響，皆呈一穩定值，但兩種方法得到的吸光值數據約相差 0.040，原因是使用 FIA 的測定值，其稀釋比較大且反應完成度較低，而導致略低的吸光值。

#### 2.2.2 鹽度對硝酸鹽呈色的影響

現今確認鹽度不會干擾亞硝酸鹽的呈色結果，是否會影響硝酸鹽的測定則尚未清楚明瞭，因此欲藉由硝酸鹽流動注入分析儀，進行多次重複測試，觀察鹽度影響吸光值的趨勢為何。



##### (1) 實驗儀器設備

本實驗需要裝置有分光光度計、流動槽、FIA 流程板、錫銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管與定量瓶，詳細內容請參考 2.2.1(1)。

##### (2) 試劑與標準品的配製

本實驗所需試劑包含氯化銨試劑、SUL 試劑、NED 試劑、硫酸銅溶液與 3N HCl 溶液，配方請參照 2.2.1(2)。

(a) 5000  $\mu\text{M}$  硝酸鹽母液：量取經過 105 $^{\circ}\text{C}$  烘箱乾燥一小時後的硝酸鉀 (potassium nitrate,  $\text{KNO}_3$ ,  $W=101.11 \text{ g/mol}$ ) 0.5055 g，溶解於二次蒸餾水中，定量至 1000 ml。

(b) 含鹽度的 10  $\mu\text{M}$  硝酸鹽標準品：使用玻璃移液管取 2 ml 的 5000  $\mu\text{M}$  的硝酸鹽母液至瓶中，添加不同淡海水混合比例的溶液 (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) 稀釋，定量至 1000 ml。

### (3) 步驟

將五種鹽度的標準品與二次蒸餾水分別連接至七向閥上的六個輸入端接頭，將輸出端連接至流程板，安裝試劑於自流程板延伸的鐵氟龍管接頭，開啟蠕動幫浦，確認管內液體確實流動且皆無氣泡後再裝上鎘銅還原管，需以淡水標準品連續注入，待鎘銅管還原率穩定後，再以二次蒸餾水將儀器讀值歸零，之後分別汲入不同鹽度的標準品，得到吸收值。

### (4) 數據討論

由於鎘銅管的還原反應欠缺再現性，因此本實驗更換多條鎘銅還原管，多次重複配製標準品，累計了半年來的 30 組數據，當鎘銅管測定淡水標準品的還原率未達 100 % 時，可以得知硝酸鹽的吸光值確實會受鹽度干擾，且變化沒有一致性 ( 見圖 2.4 )，有時吸光值隨鹽度的升高呈現線性下降的情形( 如表 2.1 中編號#1，#3，#4...的數據 )；有時轉變成下彎趨勢，低鹽度時下降快速，鹽度較高時趨於平緩( 參考編號#2，#6，#15...等 )；有時又是不規律下降，繁雜的結果無法以單一趨勢線定義鹽度對鎘銅還原測定硝酸鹽影響的程度，若要解決鹽度效應，需預備多種鹽度的標準品，估計當次實驗修正公式，才能計算出準確的濃度值，步驟繁瑣耗時，有待改善。

## 2.3 各家方法受鹽度影響的情況

以本實驗室的試劑配方試驗後，驗證鹽度會干擾鎘銅還原法量測硝酸鹽，但多數文獻中，皆未提及硝酸鹽的測定是否有鹽度效應，他人使用的鎘銅還原法是

否受到鹽度干擾？因此挑選了四種常被引用的配方，包含 Wood et al.( 1967 )、Strickland and Parsons( 1972 )、Grasshoff( 1999 )和 APHA( 1992 )出版的標準方法等，依循各家鎘銅還原法的測定方式，觀察鹽度與試劑配方之間的關係。

### (1) 實驗儀器設備

本實驗所用裝置有分光光度計、流動槽、鎘銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、離心管、移液管與定量瓶，詳細內容請參考 2.2.1(1)。

### (2) 試劑與標準品的配製

實驗所需浸鍍鎘金屬的 3N HCl 與 0.1% w/v  $\text{CuSO}_4$  溶液，以及 10  $\mu\text{M}$  硝酸鹽標準品的調配方法同 2.2.2(2)。

(a) 0.1 M 乙二胺四乙酸試劑：溶解 0.94 g 的乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, disodium salt dihydrate, EDTA,  $W=372.24$  g/mol) 於少許二次蒸餾水中，定量至 25 ml。

(b) 0.625% w/v 氯化銨試劑：取 0.156 g 的氯化銨溶解於二次蒸餾水，再定量至 25 ml。

(c) 1% w/v 的氯化銨緩衝試劑：溶解 5.00 g 的氯化銨於 500 ml 的定量瓶中，加入二次蒸餾水至刻線，混合均勻後倒至塑膠瓶，添加少量的濃氨水( 25% ammonia solution,  $\text{NH}_4\text{OH}$  )，調整酸鹼值至 8.5。

(d) 氯化銨與乙二胺四乙酸混合試劑：量秤 6.50 g 的氯化銨以及 0.85 g 的乙二胺四乙酸，先以二次蒸餾水溶解氯化銨於 500 ml 的定量瓶，再加入乙二胺四乙酸粉末，搖晃至溶液中無顆粒後，補充二次蒸餾水至瓶上刻線，將液體倒入塑膠瓶中，再以氨水使酸鹼值提升至 8.5。

(e) 10% v/v 鹽酸溶液：量取約 10 ml 的濃鹽酸於燒杯中，在 100 ml 的定量瓶盛裝半滿的二次蒸餾水，將鹽酸緩緩倒進瓶中，混合均勻後溶入(f)，再以二次蒸

餾水定容至 100 ml。

( f ) 1% w/v 酸性磺胺試劑：將 1.0 g 的磺胺溶於 100 ml 的 10% v/v 的鹽酸溶液裡。

( g ) 0.1% w/v 奈乙二胺試劑：秤取 0.10 g 的奈乙二胺粉末，先以二次蒸餾水沖入定量瓶中，待其溶解完畢後，再添加二次蒸餾水至 100 ml，倒入塑膠瓶中，且用鋁箔紙覆蓋瓶身以防光照。

( h ) 磺胺奈乙二胺混合試劑：先於 100 ml 的定量瓶中裝入一半的二次蒸餾水，緩慢的加入 10 ml 的濃磷酸( 85% phosphoric acid,  $H_3PO_4$  )後，倒入 1 g 的磺胺，混合完全後，再溶入 0.1 g 的奈乙二胺，全數溶解後再定量至 100 ml，此時將試劑轉移至不透光的瓶中保存。

( i ) 五種鹽度的 10  $\mu$ M 亞硝酸鹽標準品：吸取 2 ml 的 5000  $\mu$ M 亞硝酸鹽母液至 1000 ml 定量瓶中，補入比例為 0%, 25%, 50%, 75%, 100% 的淡海水混合溶液至瓶身上的刻線。



### ( 3 ) 步驟

本實驗因應各家方法使用的樣本試劑比不同( 見表 2.2 )，改以手動加藥測定，唯還原步驟仍以蠕動幫浦為動力( 轉速使用 25 rpm )，使通過錫銅管的速率一致。第一步，將緩衝試劑與硝酸鹽標準品混合，體積約為 100 ml，根據 Wood et al.和 Strickland and Parsons 的文章，分別以乙二胺四乙酸和氯化銨為緩衝錯合試劑，其樣本與試劑添加比為 50 : 1；而 Grasshoff 使用氯化銨緩衝試劑( 調整酸鹼值至 8.5 )，比例為 1 : 1，APHA 的標準方法則採用氯化銨與乙二胺四乙酸混合試劑( 酸鹼值為 8.5 )，添加比為 1 : 3。將上述樣本送入錫銅還原管，前 40 ml 的液體潤洗後丟棄，其餘的再收集至離心管，依據各家樣本與呈色試劑比盛裝 25-50 ml 不等，Wood et al.是 30 : 1 : 1，Strickland and Parsons 為 50 : 1 : 1，Grasshoff 採取 25 : 1 : 1，APHA 用 25 : 2( 因使用磺胺奈乙二胺混合試劑，故添加一次 )，添加酸性磺胺

試劑後，等待二分鐘左右，再加入奈乙二胺試劑，約五分鐘後於分光光度計波長 543 nm 下測定。亞硝酸鹽也以同樣的試劑比例、步驟進行。

#### (4) 數據討論

本實驗結果以兩種方式呈現，一為實際吸光值(如表 2.3)，理論上若是樣本中的硝酸鹽百分之百被還原，其吸光值應為 0.470 左右，但使用 Wood et al.(1967) 和 Strickland and Parsons(1972) 兩種配方所得到的讀值偏低，應該是緩衝試劑對於鎘管進行還原反應的助益有限所造成，而採用 Grasshoff(1999) 與 APHA(1992) 的結果，則受到試劑稀釋樣本的關係，造成吸光值較低。另一種以鎘銅管還原率隨鹽度變化的關係圖作為表達，其中還原率( efficiency % )即相同濃度的硝酸鹽與亞硝酸鹽標準品的吸光值比，目的是量化鎘銅管將硝酸鹽還原成亞硝酸鹽的比例，觀察圖 2.5 可以發現，選用純乙二胺四乙酸或低濃度氯化銨為試劑時，還原率變化呈下凹型態，但使用 1% w/v 氯化銨緩衝試劑得到的還原率卻隨鹽度增加而下降，與本實驗室採用 2% w/v 氯化銨試劑的結果相似，推測這三組結果的差異起因為銨離子( $\text{NH}_4^+$ )濃度的影響，而添加氯化銨與乙二胺四乙酸混合試劑的測試，還原率變化大幅減緩，可能是其樣本與試劑混合時已稀釋三倍，真實的鹽度變異已縮小至 0~8.5 之間，造成變化較平緩，或是此緩衝試劑真能降低鹽度干擾，總之，四種不同的緩衝錯合試劑造成不同還原率的變化是一特殊現象，可再針對緩衝錯合試劑設計實驗，釐清原因。

#### 2.4 本章綜合討論

總括以上實驗結果得知：亞硝酸鹽的呈色結果不會受到鹽度影響，但鎘銅還原法測定硝酸鹽的吸收值卻會受到干擾，即使用相同試劑對同條鎘管或不同鎘管進行重複測試，吸光值的變化趨勢仍不盡相同，無法找出一條修正公式符合每次測定時鹽度的影響，只能以最基本的方式，於量測水樣時，調配多鹽度的標準品，

用以求得當下的鹽度修正公式，方法複雜且耗時，有待尋求簡化的辦法。另一面觀察到鹽度真正影響的部分是在硝酸鹽通過鎘管被還原成亞硝酸鹽的區間，推測是半鹼水物理化學特性的差異，使鹽度與鎘銅管還原率之間有一微妙關係，且使用各家配方試驗後，還原率隨鹽度變化的趨勢相當特殊，雖然還不能完全解釋原因，但是可以得知緩衝錯合試劑的成分亦會改變鹽度對還原率的影響，或許是解決鹽度效應的契機。



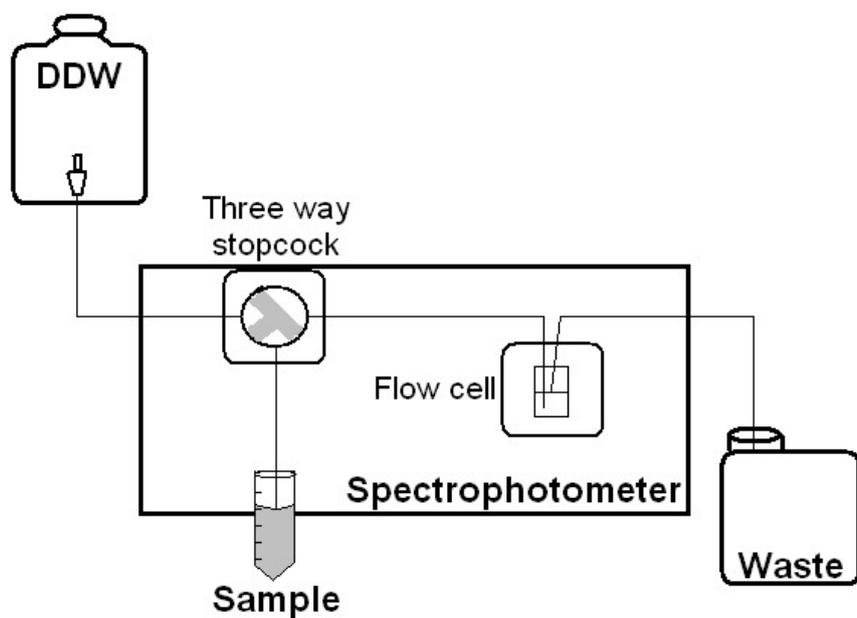


圖 2.1 無動力汲樣系統裝置圖。以鐵氟龍管連接高處的蒸餾水瓶、樣本以及低處的廢液桶，使用三向閥做為連接通路的裝置，當鐵氟龍管中充滿水即可利用虹吸原理汲樣、清洗光槽，廢液亦會自動流入回收桶。

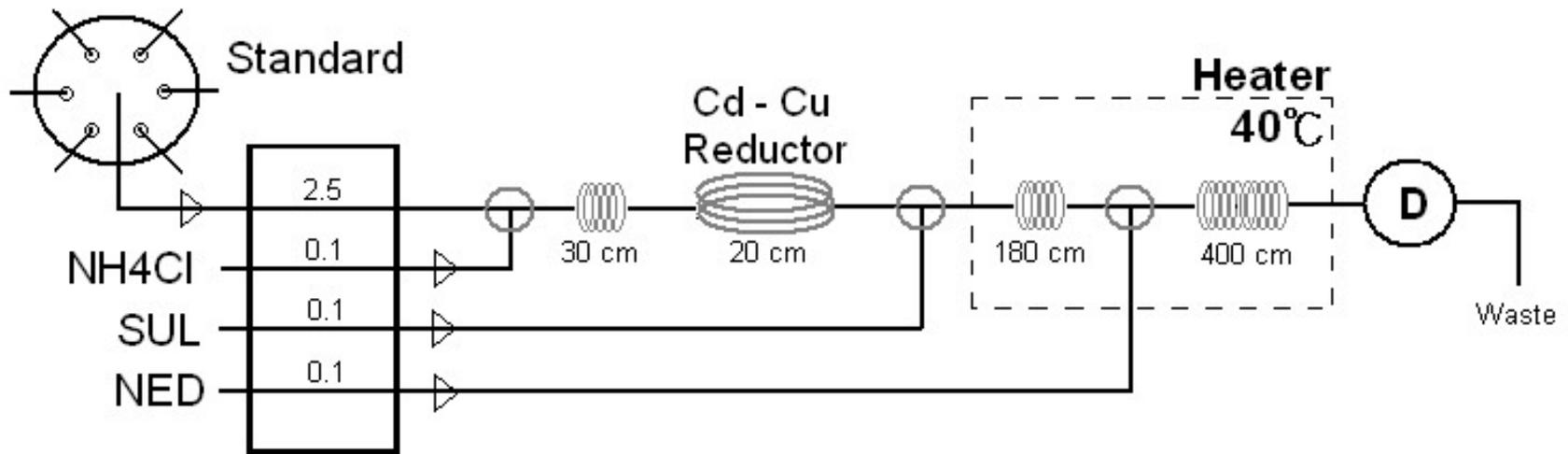


圖 2.2 硝酸鹽流動注入分析儀示意圖。左上角為七向閥，可以藉由轉閥快速更換標準品，且能持續注入，增加便利性。蠕動幫浦將液體向右推動，其上數字表示轉速 15 rpm 時的理論流量 (ml/min)，樣本試劑添加比約為 25:1；實際分析時轉速更改為 25 rpm。迴圈下的數字表示混合路徑的長度，加熱槽控溫為 40 °C，D 為偵測器，在此使用分光光度計，波長設定為 543 nm。

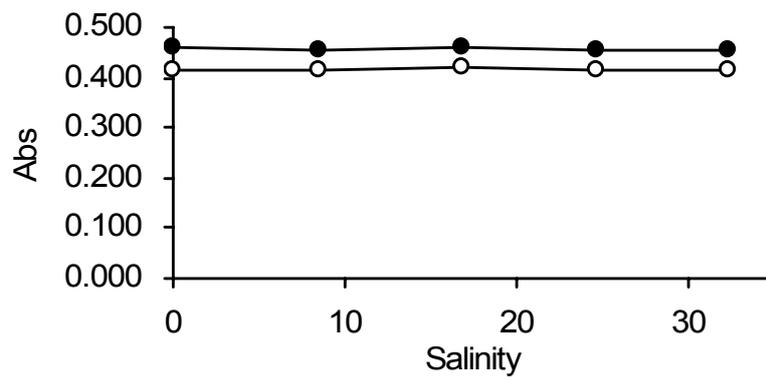


圖 2.3 亞硝酸鹽標準品其吸光值隨鹽度的變化圖。(●)手動加藥的方式，(○)使用硝酸鹽流動注入分析儀。自行配製 10  $\mu$ M 亞硝酸鹽標準品的呈色結果不受鹽度影響，單以本實驗使用的自動分析儀來說，可以忽略鹽度對呈色反應速率造成的影響。



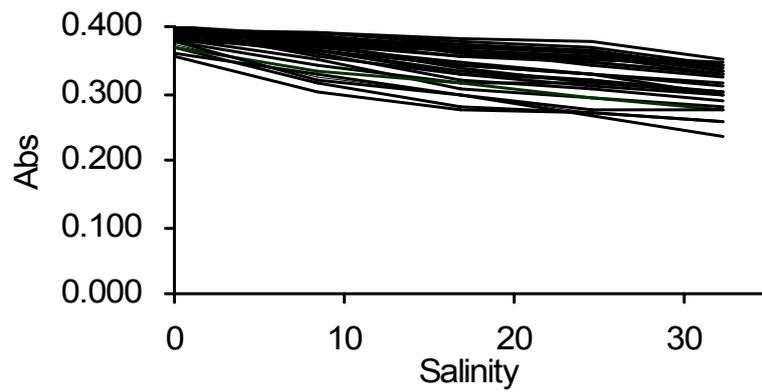


圖 2.4 多重複測試之硝酸鹽標準品其吸光值與鹽度的關係圖。圖中 30 條線段代表半年來利用自行配製的  $10\ \mu\text{M}$  標準品對不同條錫管或是同條錫管在不同時間下測定的結果，吸光值皆隨鹽度增加而下降，受干擾的情形有線性與曲線並無一致性。



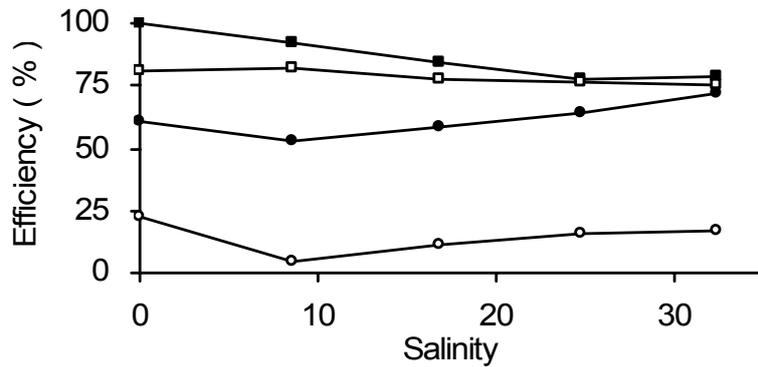


圖 2.5 在不同緩衝錯合試劑中，鎘銅管還原率與鹽度變化圖。符號代表不同文獻的配方：(●)Wood et al. (1967)，(○)Strickland and Parsons(1972)，(■)Grasshoff(1999)，(□)APHA, Standard Method (1992)。還原率(Efficiency %) 為量化硝酸鹽經過鎘銅管被還原成亞硝酸鹽的比例，計算方法利用同濃度硝酸鹽與亞硝酸鹽的標準品，通過還原管後得到的吸光值比為之。圖中顯示改變緩衝試劑的成分與酸鹼值會影響還原率隨鹽度變化的走向，使用 0.625% w/v 氯化銨(○) 與 0.1 M 純乙二胺四乙酸(●)其結果類似，出現下凹走勢，當氯化銨含量增高至 1% w/v(■)轉為隨鹽度提高而下降的曲線，氯化銨混合乙二胺四乙酸的試劑結果較平緩。

表 2.1 重複試驗之硝酸鹽標準品受鹽度干擾的吸光值數據

Salinity	Abs									
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10
0	0.383	0.367	0.379	0.389	0.376	0.354	0.396	0.398	0.394	0.392
8.5	0.368	0.315	0.375	0.372	0.341	0.304	0.391	0.385	0.356	0.392
16.8	0.347	0.282	0.363	0.357	0.317	0.277	0.382	0.368	0.329	0.378
24.7	0.331	0.269	0.355	0.350	0.315	0.271	0.376	0.360	0.321	0.370
32.3	0.312	0.259	0.345	0.341	0.303	0.260	0.350	0.332	0.300	0.342

Salinity	Abs									
	#11	#12	#13	#14	#15	#16	#17	#18	#19	#20
0	0.391	0.384	0.384	0.388	0.385	0.381	0.392	0.398	0.401	0.393
8.5	0.389	0.365	0.374	0.383	0.358	0.350	0.385	0.380	0.375	0.365
16.8	0.375	0.344	0.365	0.373	0.320	0.308	0.364	0.356	0.344	0.333
24.7	0.362	0.330	0.357	0.366	0.305	0.295	0.351	0.345	0.331	0.321
32.3	0.333	0.300	0.330	0.334	0.289	0.281	0.342	0.328	0.314	0.301

Salinity	Abs									
	#21	#22	#23	#24	#25	#26	#27	#28	#29	#30
0	0.392	0.393	0.383	0.393	0.393	0.401	0.368	0.362	0.372	0.380
8.5	0.388	0.366	0.372	0.378	0.381	0.384	0.334	0.330	0.326	0.320
16.8	0.362	0.330	0.339	0.363	0.368	0.366	0.315	0.297	0.298	0.299
24.7	0.347	0.312	0.317	0.350	0.364	0.344	0.294	0.267	0.271	0.277
32.3	0.330	0.298	0.304	0.342	0.339	0.323	0.275	0.236	0.256	0.274

註：表中顯示累積長達半年的數據，利用 10  $\mu$ M 硝酸鹽標準品對同條銅管，以及不同銅管的試驗。

表 2.2 各家方法之樣本緩衝試劑比與呈色試劑添加量

	Wood et al.	Strickland and Parsons	Grasshoff	APHA
Sample : Buffer reagent	50 : 1	50 : 1	1 : 1	1 : 3
Sample+Buffer reagent ( ml )	30	50	25	50
SUL ( ml )	1	1	1	2
NED ( ml )	1	1	1	x

註：各家採用的緩衝試劑：( Wood et al., 1967 ) 0.1 M 乙二胺四乙酸試劑，( Strickland and Parsons, 1972 ) 0.625% w/v 氯化銨試劑，( Grasshoff, 1999 ) 1% w/v 的氯化銨緩衝試劑和( APHA, Standard Method, 1992 ) 氯化銨與乙二胺四乙酸混合試劑。又前三項添加相同的呈色試劑，唯 APHA 的 SUL 與 NED 為混合試劑，故添加一次。



表 2.3 依照文獻方法測定不同鹽度 10  $\mu$ M 硝酸鹽標準品的吸光值比較

Salinity	Absorbance			
	Wood et al.	Strickland and Parsons	Grasshoff	APHA
0	0.293	0.110	0.244	0.102
8.5	0.252	0.020	0.225	0.103
16.8	0.281	0.056	0.206	0.098
24.7	0.307	0.079	0.188	0.096
32.3	0.347	0.083	0.190	0.095

註：文獻分別參考 Wood et al.( 1967 )，Strickland and Parsons( 1972 )，Grasshoff( 1999 )，APHA Standard Method( 1992 )。



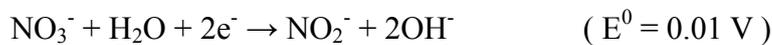
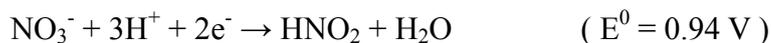
### 第三章 緩衝錯合試劑的試驗

#### 3.1 概述

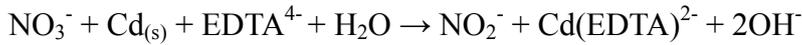
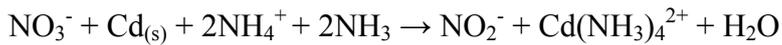
經過不同鹽度的標準品對鎘銅還原法進行一系列的實驗後，藉由鹽度對硝酸鹽分析產生干擾，卻不影響亞硝酸鹽的呈色結果，故推測是鹽度改變樣本的緩衝能力與酸鹼值，進而影響硝酸鹽通過鎘銅管時的還原率；然而，於通過鎘銅管前所添加的緩衝錯合試劑，也同樣地會影響主流進入還原管中的酸鹼值及緩衝能力，因此緩衝試劑的成分或酸鹼值與鹽度皆會影響鎘管還原率，期望能找到最佳緩衝試劑，藉以減少鹽度的干擾。

#### 3.2 試劑成分的選擇

最早由 Grasshoff 於 1964 年提出：測定硝酸鹽樣本時需加入一試劑，其可延長鎘管壽命，且具有緩衝作用以及錯合被氧化的鎘離子的功能。由於硝酸鹽容易被還原成多樣無機氮物種，反應所需的還原電位不同，參考如下(施, 2000)：



在酸性條件下進行反應時，若酸鹼值沒控制穩定，硝酸鹽可能被還原成其他氮物種，但在中性環境下，較無此疑慮，因此接近中性或弱鹼性的緩衝試劑紛紛被提出，其中最常被使用的成分為氯化銨與乙二胺四乙酸，其與鎘離子錯合的反應方程式如下(Grasshoff, 1999; Wood et al., 1967)：



於流程中添加各種緩衝錯合試劑的目的相同，但試劑的成分與酸鹼值卻會使鹽度與鎘銅管還原率變化關係不同，因此欲改變試劑中氯化銨與乙二胺四乙酸的濃度，加上調整酸鹼值與否，進行交叉測試，以找出較適用於廣鹽性水樣的緩衝錯合試劑。

### 3.2.1 探討乙二胺四乙酸的濃度與酸鹼值對試劑之影響

首先以本實驗室慣用的 2% w/v 氯化銨緩衝試劑作為基質，搭配不同濃度 (0%~4% w/v) 的乙二胺四乙酸或改變酸鹼值(4.x~9.5)，探討試劑使還原率對鹽度變化的關係，並在整個反應流程中，截取三處樣水：一為樣水與緩衝試劑混合後，另一為通過鎘銅管後尚未加入呈色試劑前，以及反應最終通過分光光度計後，量測水樣的酸鹼值，觀察硝酸鹽測定過程中酸鹼值變化。

#### (1) 實驗儀器設備

本實驗需要的分光光度計、流動槽、FIA 流程板、鎘銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管、定量瓶、離心管與酸鹼度計，詳細內容請參考 2.2.1(1)。

#### (2) 試劑與標準品的配製

實驗進行所需的 SUL 試劑、NED 試劑、0.1% w/v 硫酸銅溶液與 3N HCl 溶液，以及多鹽度的 10 μM 硝酸鹽標準品的配方請參照 2.2.1 與 2.2.2(2)。另外再配製 2% w/v 的氯化銨溶液，搭配六種濃度 EDTA 與六種酸鹼值，一共三十六種交叉組合。取一 1000 ml 的定量瓶，先量秤 20.0 g 的氯化銨溶於二次蒸餾水中，再溶解 X g 的乙二胺四乙酸，其中 X 分別為 0.00、1.00、5.00、10.0、20.0、40.0 g，補充蒸餾水

至八分滿，劇烈搖晃使其溶解，再定量至刻線。將其倒入 1 L 塑膠瓶中，再分裝至六個 100 ml 的塑膠瓶，添加少許的 5-6 N 的氫氧化鈉，使其最後酸鹼值為 5.5、6.5、7.5、8.5 與 9.5，剩下一瓶為原始試劑，不改變酸鹼值。試劑濃度為 2% w/v 氯化銨混合 0%、0.1%、0.5%、1%、2% 以及 4% w/v 的乙二胺四乙酸，依濃度低至高，以英文字母 A 到 F 代表，試劑的原始酸鹼值約介於 4.40 至 4.90，加上調整後的五組酸鹼值(5.5~9.5)，由低至高排列，依序以阿拉伯數字 1 到 6 表示。

### (3) 步驟

首先以 2% w/v 氯化銨溶液作為緩衝錯合試劑，測定鹽度為零、淡水硝酸鹽標準品的吸光值，再變更成欲測試的緩衝試劑，進行標準品的測量，當吸光值穩定後，再收集進入鎘銅還原管前的標準品與試劑的混合液、通過鎘銅管後且未加入酸性磺胺試劑的混合液和經過分光儀器測定後的混合液，量測三種狀況下的酸鹼值，完成後更換另一個鹽度的標準品，待所有鹽度的標準品經過試驗後，再重覆步驟，置換下一個待測緩衝錯合試劑。

### (4) 數據討論

由於不同條鎘銅管或是不同時間測試同條還原管，其還原率不盡相同，為了減少鎘銅管還原率本身衰退的影響，數據以相對吸光值方式呈現，計算方式為待測緩衝試劑分析各鹽度標準品得到的吸光值除以使用 2% w/v 氯化銨試劑測定淡水標準品的讀值，但是討論仍以每種試劑測定的鹽度趨勢為主，吸光值受鎘管影響變異大，不適合跨組比較。

從圖 3.1 可以觀察出幾個現象，當緩衝試劑中未加入乙二胺四乙酸或是濃度極低時，不管試劑酸鹼值調整與否，其相對吸光值皆隨著鹽度上升而下降，鹽度干擾極為明顯，且試劑酸鹼值越高，淡海水標準品的相對吸光值差異越大。但試劑含有 0.5% w/v 以上的乙二胺四乙酸時，便開始影響趨勢，且與酸鹼值似乎有一定

比例的關係；試劑酸鹼值低的情況，大多出現海淡水端點高、半鹹水較低的下凹趨勢；當酸鹼值調升至某一程度時( 乙二胺四乙酸濃度越高酸鹼值也越高 )，又回復隨鹽度上升而下彎的趨勢，但在濃度約在 0.5%至 2%，酸鹼值介於 6.5 至 8.5 時，存在著下凹、下彎兩種現象之間的過渡地帶，干擾情形會較於平緩。推測因乙二胺四乙酸為四質子酸，濃度與酸鹼值皆會改變各價次離子、氫離子之間的比例，又酸鹼值越高，乙二胺四乙酸能完全地與鎘金屬產生螯合物(  $\text{Cd}(\text{EDTA})^{2-}$  )，因此在使用低濃度的乙二胺四乙酸或乙二胺四乙酸含量多且高酸鹼值這兩類試劑時，出現類似的趨勢。

觀察圖 3.1 中乙二胺四乙酸濃度較高且酸鹼值較低的區塊，其相對吸光值大都偏低，可與圖 3.2、表 3.1 比較發現，應該是含鹽度的水樣與乙二胺四乙酸在酸鹼值 4 附近產生一緩衝區間，使得樣水通過鎘銅前後的酸鹼值大多低於五以下，推測低酸鹼值有兩個可能影響的層面：一為亞硝酸的 pKa 值約為 4.5，當酸鹼值高於五時，以亞硝酸根離子型態存在居多，才能與試劑產生偶氮化合物；另一為當酸鹼值太低時，可能使鎘金屬上面的鍍銅溶解，干擾後續呈色反應。

由於緩衝錯合試劑含有鹼度，有可能抵銷酸性磺胺試劑中氫離子的濃度，使得無法反應完全，進而影響吸光值，因此察看表 3.1 的反應最終酸鹼值，皆介於 0.90 到 1.20 之間，藉由簡(unpublished)提出的實驗結果得知：最終酸鹼值落在 0.6 至 1.7 範圍內的話，對於磺胺乙二胺法測定亞硝酸鹽的吸光係數(  $51100\sim 51800 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$  )沒有太大影響，可再次證明鹽度效應、緩衝試劑影響範圍皆在於鎘銅管的還原反應。

### 3.2.2 變換試劑中銨濃度的影響

經過試驗得知，當試劑中氯化銨濃度為 2% w/v，且混合乙二胺四乙酸的濃度介於 0.5%~2% w/v 之間，若加上適當的酸鹼值，則可使吸光值隨鹽度的變化呈現較平緩的趨勢，因此針對前一節代號為 C3~5、D3~5、E3~5 的試劑，再增加銨離

子濃度的變異因子，觀察試劑中氯化銨、乙二胺四乙酸的濃度與酸鹼值和還原率隨鹽度變化的關係。

### (1) 實驗儀器設備

分光光度計、流動槽、FIA 流程板、鎳銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管、定量瓶與酸鹼度計，內容同 2.2.1(1)。

### (2) 試劑與標準品的配製

本實驗使用的硝酸鹽標準品，亞硝酸鹽的呈色試劑，置備鎳銅管的稀釋鹽酸與硫酸銅溶液，配製方法請參見 2.2.1 與 2.2.2(2)。另外再調配緩衝錯合試劑，有氯化銨濃度、乙二胺四乙酸含量，以及試劑酸鹼值三項因子，總共 54 種不同試劑的組合，氯化銨包含 0%、0.5%、1%、2%、4%、8% w/v 六種濃度，乙二胺四乙酸則有 0.5%、1%、2% w/v 三種濃度的變化，試劑調整後的酸鹼值約為 6.5、7.5、8.5。將 X g 的氯化銨溶於二次蒸餾水中，再溶入 Y g 的乙二胺四乙酸，加入二次蒸餾水至八分滿，搖晃混合均勻後，以二次蒸餾水定量至 500 ml。其中 X 一組包括 0、2.5、5.0、10、20、40 g 的氯化銨，Y 依序變更為 2.5、5.0、10 g 的乙二胺四乙酸，當 X 一組皆配製完成後才改變 Y，如此重複，調配出 18 種不同濃度的試劑，將其倒入塑膠瓶中保存，再分裝至三瓶 100 ml 的塑膠瓶中，使用 5~6 N 的氫氧化鈉溶液調整試劑酸鹼值增高為 6.5、7.5 和 8.5。

### (3) 步驟

先選用 2% w/v 氯化銨溶液作為緩衝錯合試劑，待機器、鎳銅管穩定後，載入配製於二次蒸餾水中的硝酸鹽標準品，記錄其吸光值後，再將緩衝試劑轉為待測試劑沖提兩三分鐘，使用二次蒸餾水歸零後，注入標準品，記錄穩定的讀值，再逐次變更為各個鹽度的標準品，如此重複步驟，使每一瓶試劑皆能測定五種鹽度

的硝酸鹽標準品。

#### (4) 數據討論

結果顯示試劑中乙二胺四乙酸的濃度與酸鹼值改變所產生的趨勢同於上節，但銨濃度較低時，還原率與鹽度變化大多呈下凹趨勢，海、淡水兩端點較高、半鹹水還原率較低，參考圖 3.3(數據見表 3.2)，主要是乙二胺四乙酸引導趨勢，若氯化銨濃度大於 1% 時，影響能力隨含量而漸增，使得使乙二胺四乙酸濃度較低或是高濃度且高酸鹼值的組合，有趨於平緩或隨鹽度增加而下降的趨勢。

#### 3.2.3 建議試劑配方

藉由改變緩衝錯合試劑中的氯化銨濃度，或是混合不同濃度乙二胺四乙酸，以及調升試劑的酸鹼值等實驗因子，尋找出一較適合廣鹽性水樣的緩衝試劑，配方為酸鹼值 7.5 的 4% w/v 氯化銨混合 0.5% w/v 的乙二胺四乙酸，其能使還原率隨鹽度的變化大幅縮小，且從圖 3.3(a) 可以看出趨勢約略為線性，由於銅管的穩定性不佳，因此使用不同條還原管進行多次重複測試管，參考圖 3.4，雖然結果顯示的還原率不盡相同，但其隨鹽度的增加皆為近似線性的變化，有助於簡化鹽度修正的步驟。

### 3.3 緩衝錯合試劑基本應用條件測試

從上述實驗得知新配方的緩衝錯合試劑能夠減少鹽度干擾，但對於新試劑仍須做一些基本測試，針對適用條件進行研究，以探討更換試劑的可行性。

#### 3.3.1 樣本與試劑之添加比例的測定

對於常以銅管還原法進行硝酸鹽測定的研究人員，大多採用快速方便的流動注入分析設計，自動化的分析通常以幫浦管的流量控制試劑添加的比例，幫浦管

於剛開始使用時，各管的流量比大約同於試劑比，但是隨者使用的時間增加，幫浦管受壓拉張，導致逐漸鬆弛變形，這時流量比就不同於前，試劑比也因而受到影響。因此本實驗欲使用不同新舊程度的幫浦管，事先使用固定轉速，標定流量比，再將不同的幫浦管連接至流程板上，用以變化試劑比，觀察吸光值是否受到試劑添加比例的影響。

### (1) 實驗儀器設備

本實驗需要裝置除了 2.2.1(I) 的分光光度計、流動槽、FIA 流程板、鎳銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管、定量瓶與酸鹼度計外，再準備一條全新與三條不同鬆緊度的橘-綠幫浦管，以及一條全新的紫-紫幫浦管。

### (2) 試劑與標準品的配製

實驗所需酸性磺胺試劑、奈乙二胺試劑與 3 N 的鹽酸、0.1% w/v 硫酸銅溶液以及 10  $\mu$ M 多鹽度的硝酸鹽標準品等，同 2.2.1 與 2.2.2(2)。緩衝錯合試劑則先取 10 g 的氯化銨以二次蒸餾水溶入 250 ml 的定量瓶中，再加入 1.25 g 的乙二胺四乙酸和二次蒸餾水，搖晃混合至完全溶解，補充二次蒸餾水定容。將混合後的試劑倒入塑膠瓶中，以氫氧化鈉調升酸鹼值至 7.5 即可使用。

### (3) 步驟

預先以與實驗所用的相同蠕動幫浦，將轉速調為 25 rpm，固定幫浦夾的鬆緊度，測定新舊幫浦管於一定時間內傳輸多少重量的水，記錄後並標號。首先將全新的橘-綠幫浦管連接至流程板上的緩衝錯合試劑管線，紫-紫管則裝置於硝酸鹽標準品的路徑上，開啟蠕動幫浦使整個流程板上管路皆流通且無氣泡，再安裝鎳銅還原管，待以標準品沖提數分鐘使鎳銅管穩定後，再逐次測定各鹽度標準品的吸光值，整組試驗完成後，更換不同條橘-綠幫浦管( 注意勿讓氣泡進入鎳銅管 )，

重複試驗。

#### (4) 數據討論

實驗過程中皆使用橘綠色標的幫浦管，但是不同條幫浦管之間流量變異很大，其與全新紫-紫管的比例可由理論的 25:1 變化為 15:1，雖然樣本緩衝試劑比差距很大，但由圖 3.5( 實驗數據見表 3.3 )可以看出，不論使用新或舊的幫浦管，當添加比範圍介於 15 至 25 之間，吸光值並無顯著的變化，得知此緩衝錯合試劑( 4% w/v 氯化銨混合 0.5% w/v 乙二胺四乙酸 pH 7.5 )的樣本與緩衝試劑添加比，不影響鎘銅還原法測定硝酸鹽。

#### 3.3.2 試劑有效保存期間之測試

少有人員注意試劑的保存期限，只能每次測定樣本前又重新配製試劑，此種方式不僅浪費藥品也浪費時間，究竟氯化銨混合乙二胺四乙酸的試劑能否長期保存，還是容易變質，目前尚未了解，因此預備近兩個月的時間，配製多重複的緩衝錯合試劑進行測試，觀察氯化銨混合乙二胺四乙酸的緩衝試劑的有效期限如何？

##### (1) 實驗儀器設備

本實驗需要裝置有分光光度計、流動槽、FIA 流程板、鎘銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管、定量瓶與酸鹼度計，詳細內容請參考 2.2.1(1)。

##### (2) 試劑與標準品的配製

準備酸鹼值 7.5 的 2% w/v 氯化銨混合 0.5% w/v 乙二胺四乙酸試劑、酸性磺胺試劑、奈乙二胺試劑，製作鎘銅管的稀釋鹽酸與硫酸銅溶液，和 10  $\mu$ M 多鹽度的硝酸鹽標準品等，方法同 2.2.1、2.2.2 與 3.3.1 的(2)部分。

### (3) 步驟

本實驗重複配製緩衝錯合試劑總共歷時近兩個月，當試劑配製好後即放置在桌面上，不避室內燈光，但無陽光直接曝曬，室內有空調系統溫度約介於 20 至 25 °C，無特殊防潮，即一般實驗室存放試劑的方式。測定當日首先使用當天配製的緩衝錯合試劑，待整組多鹽度的硝酸鹽標準品量測後，再更換試劑，且由存放天數越短的開始做起。

### (4) 數據討論

對於存放不同天數的緩衝錯合試劑，應用於鎘銅還原法測定多鹽度硝酸鹽標準品的實驗結果如圖 3.6，可以看出存放兩個月內的試劑對測定時的吸光值沒有明顯影響，但表 3.4 中，緩衝試劑存放六天以內與十三天以上突然出現小差異，藉由實驗末了再次使用當天所配的試劑確認得知，此差距乃是鎘銅管還原率衰退影響，非緩衝試劑所造成，因此在一般實驗室存放試劑的條件下(常溫未直曬陽光的環境)，配製兩個月內的混合緩衝試劑皆可正常使用。

#### 3.3.3 試劑對鎘銅還原管穩定度的影響

有時氣泡流經過鎘銅還原管後，會發現管中的鍍銅鎘粒變少了，這乃是由於鎘銅管被氣泡快速氧化造成，因此使用鎘銅還原法進行分析實驗時，大多會選擇一與測定樣本基質接近且乾淨、幾乎無含有硝酸鹽的水體為載流，用來攜帶樣本以避免換樣時氣泡進入鎘銅管，若是測定河口樣水時，鹽度變化量大，不會針對各個鹽度的樣水來製作載流，這時究竟該選用何種鹽度的水樣來做載流呢？因此本實驗使用五種鹽度的水體進行延時觀測，觀察鹽度是否影響鎘銅管的穩定度，找尋適合的載流。

### (1) 實驗儀器設備

本實驗所需設備包含分光光度計、流動槽、FIA 流程板、鎘銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管、定量瓶與酸鹼度計，可參考 2.2.1(1)。

### (2) 試劑與標準品的配製

需要配製氯化銨混合乙二胺四乙酸，酸鹼值為 7.5 的緩衝錯合試劑、酸性磺胺試劑、奈乙二胺試劑，製作鎘銅管的稀鹽酸與硫酸銅溶液，和 10  $\mu\text{M}$  多鹽度的硝酸鹽標準品等，如同 2.2.1、2.2.2 與 3.3.1 的(2)部分。

### (3) 步驟

確認分析儀正常運作後，且管路中無氣泡，再裝上鎘銅還原管，待還原率穩定後，將七向閥轉向淡水硝酸鹽標準品，連續注入 70 分鐘左右，記錄監測值，再以二次蒸餾水清洗歸零後，更換成另一鹽度標準品，重複至完成五組標準品。

### (4) 數據討論

經過一小時的連續監測，結果參考圖 3.7，發現鹽度為零的硝酸鹽標準品，其吸光值相當穩定，不太改變，但含有 25% v/v 海水的標準品其吸光值則隨著時間下降，換成以鎘銅管衰退速率來比較時(如圖 3.8)，鹽度越高的標準品在相同時間內吸光值下降的百分比越高，可能是海水中的眾離子參與鎘銅管的化學反應，造成還原率衰退較快，因此建議測定感潮帶區域的樣本時，選用二次蒸餾水作為載流，避免載流加速鎘銅管還原率衰退的情形。

## 3.4 本章綜合討論

不僅鹽度造成鎘銅管還原率的干擾，緩衝試劑也能改變還原率，經由改變緩衝試劑中的成分與濃度，和酸鹼值的試驗，得到在銨離子濃度高於 2% w/v 時，加

上少量的乙二胺四乙酸，並於適當的酸鹼值下，緩衝試劑能使鹽度對於還原率的干擾大幅降低，找尋出最適合廣鹽性樣本測定用的緩衝錯合試劑，其成分為 2% w/v 氯化銨與 0.5% w/v 乙二胺四乙酸混合溶液，並以氫氧化鈉調整酸鹼值為 7.5，重複試驗後，證實雖然每條鎳銅管的還原率仍不近相同，但緩衝試劑卻能使還原率隨鹽度呈線近似線性的變化，只需以線性公式即能修正鹽度影響，相較於傳統的修正辦法，使用新的緩衝試劑能簡化許多步驟。關於自動分析的適用性測試，樣本試劑比介於 15~25 之間不會影響測定，不受幫浦管新舊程度的干擾；試劑的保存期限也能接近兩個月，不需每次測定前又重新配製，此緩衝錯合試劑亦保有氯化銨試劑的優點。



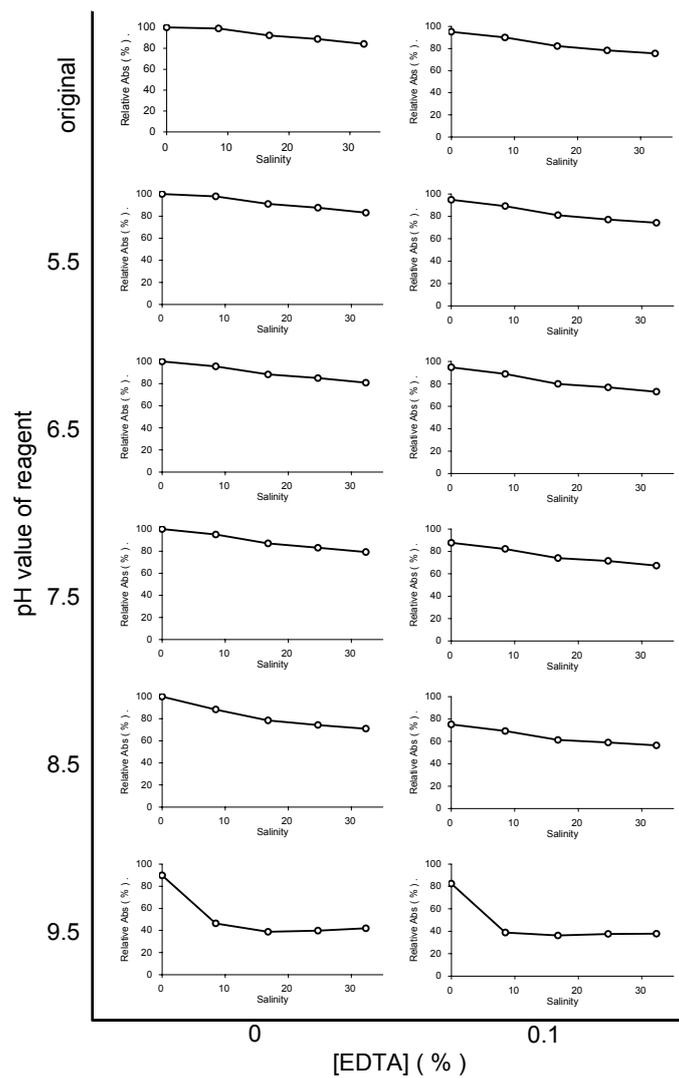


圖 3.1 試劑中乙二胺四乙酸含量與酸鹼值的改變，其相對吸光值隨鹽度的變化。不同試劑的最初酸鹼值(original)介於 4.40 到 4.90 之間。每一小圖的橫軸單位為鹽度，每一間隔為 10；縱軸區分五等分，表示 0~100% 的相對吸光值，其計算方式：分子為特定試劑與鹽度的標準品之測定吸光值，分母為當組實驗前使用 2% w/v 氯化銨試劑測定淡水標準品的吸光值。當試劑中乙二胺四乙酸含量低時，結果大致相同，相對吸光值隨鹽度呈現下彎趨勢，酸鹼值越高時則使淡海水標準品的相對吸光值差距拉大。

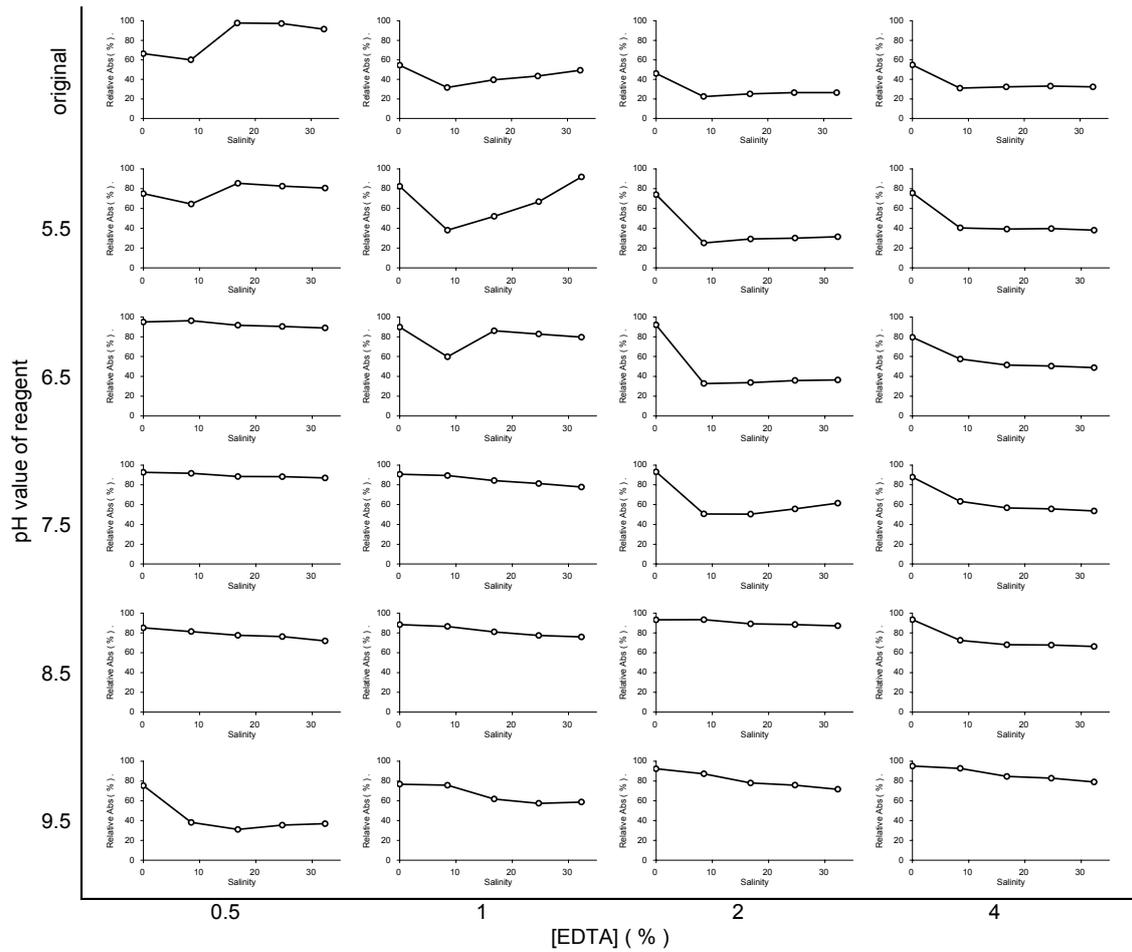


圖 3.1 (continued)。隨著乙二胺四乙酸濃度增加，趨勢開始轉變，且現象與乙二胺四乙酸的含量和試劑酸鹼值的比例有關。低酸鹼值的試劑產生下凹趨勢，但調升至一定酸鹼值後又恢復下彎現象，兩者之間有一過渡地帶(0.5~2% w/v EDTA, pH 6.5-8.5)，出現吸光值較不受鹽度影響的平緩趨勢。

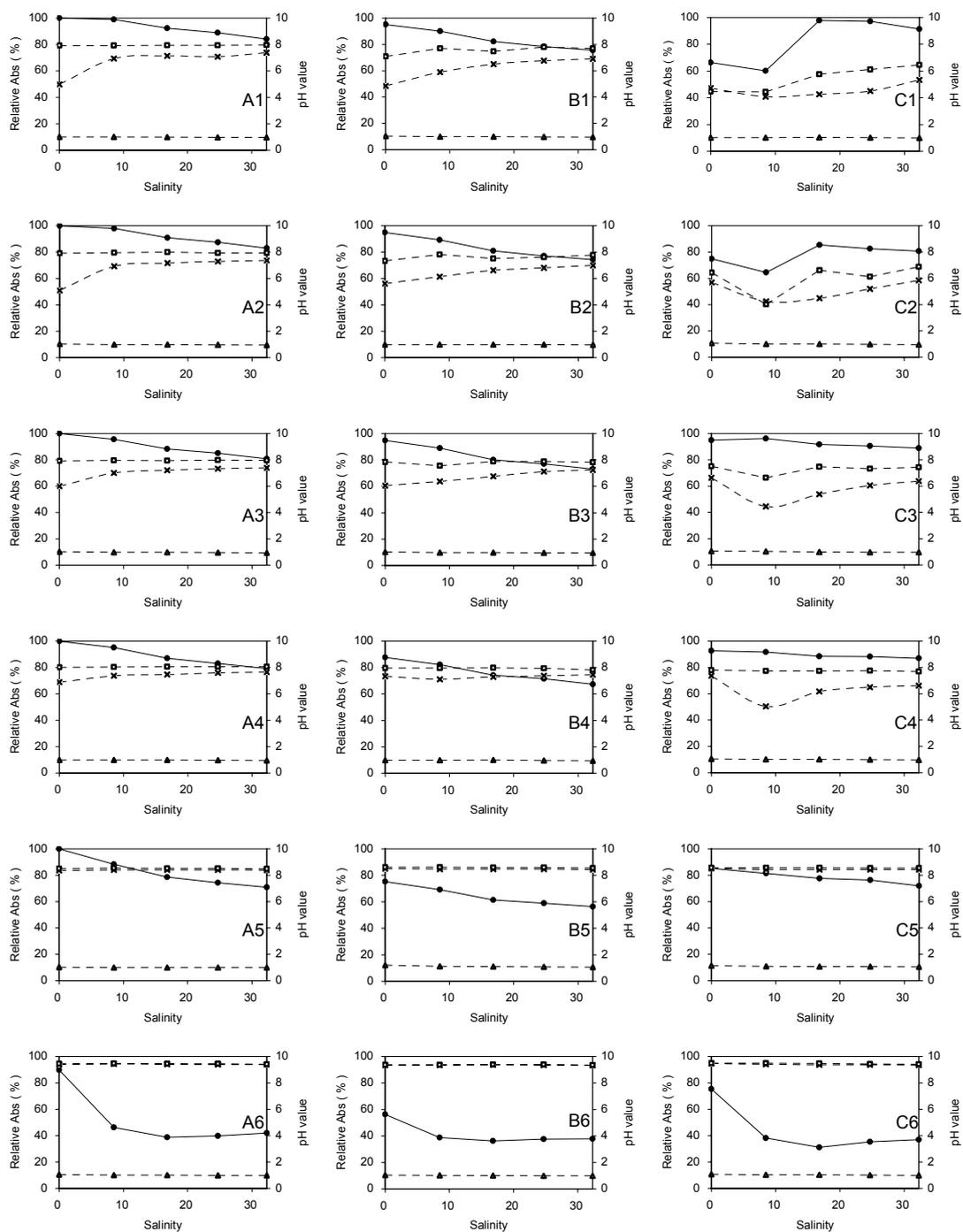
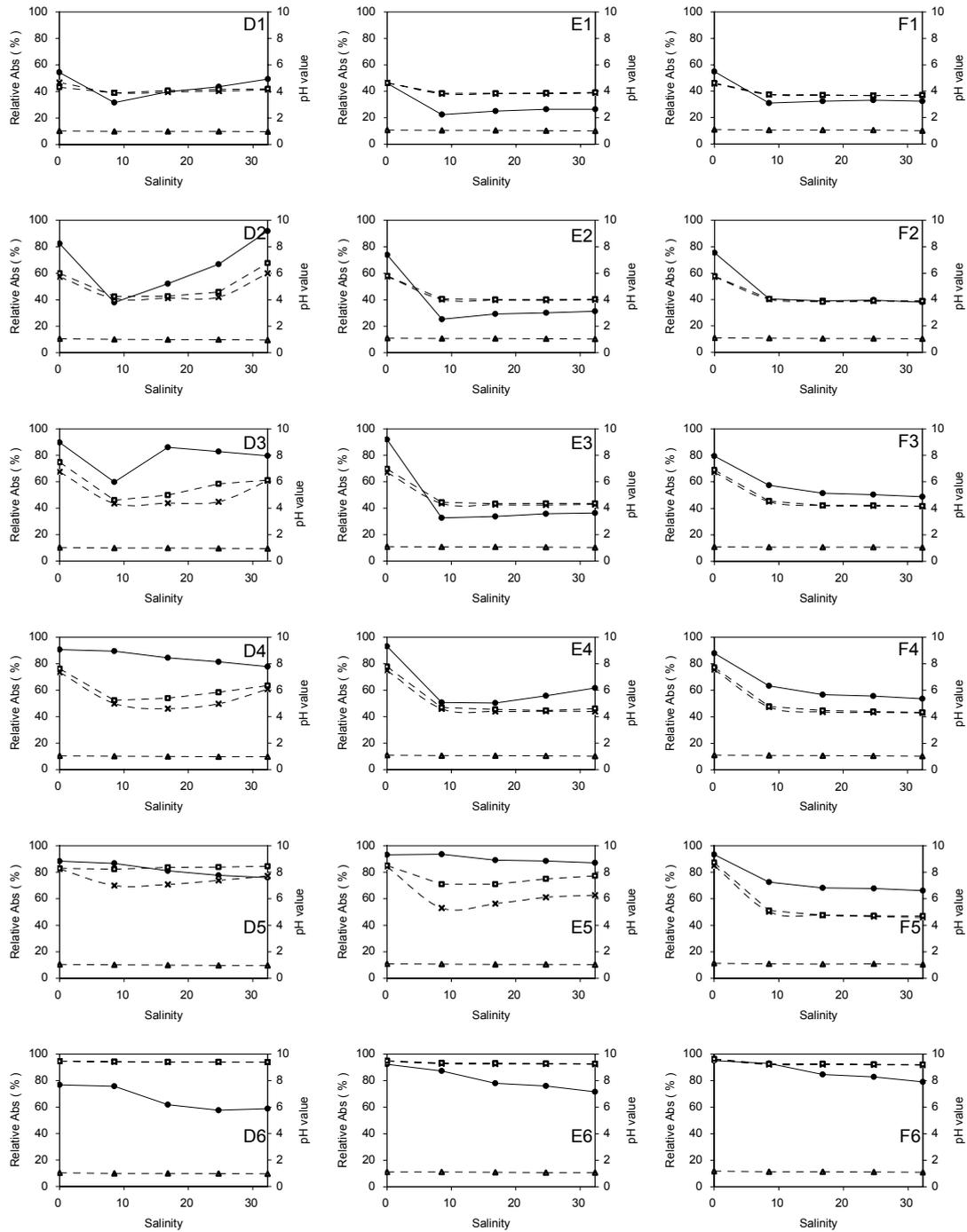


圖 3.2 不同緩衝試劑的相對吸光值以及反應過程中酸鹼值的變化。(●)相對吸光值，(x)標準品與試劑混合後，尚未進入鍍銅管前的酸鹼值，(□)混合液剛通過鍍銅管後的酸鹼值，(▲)反應的最終酸鹼值。A~F 分別表示 0%, 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 4% w/v 乙二胺四乙酸的濃度，酸鹼值從原始值(4.x)，調整至 5.5, 6.5, 7.5, 8.5, 9.5，由低至高以 1~6 代號。



3.2 ( continued )

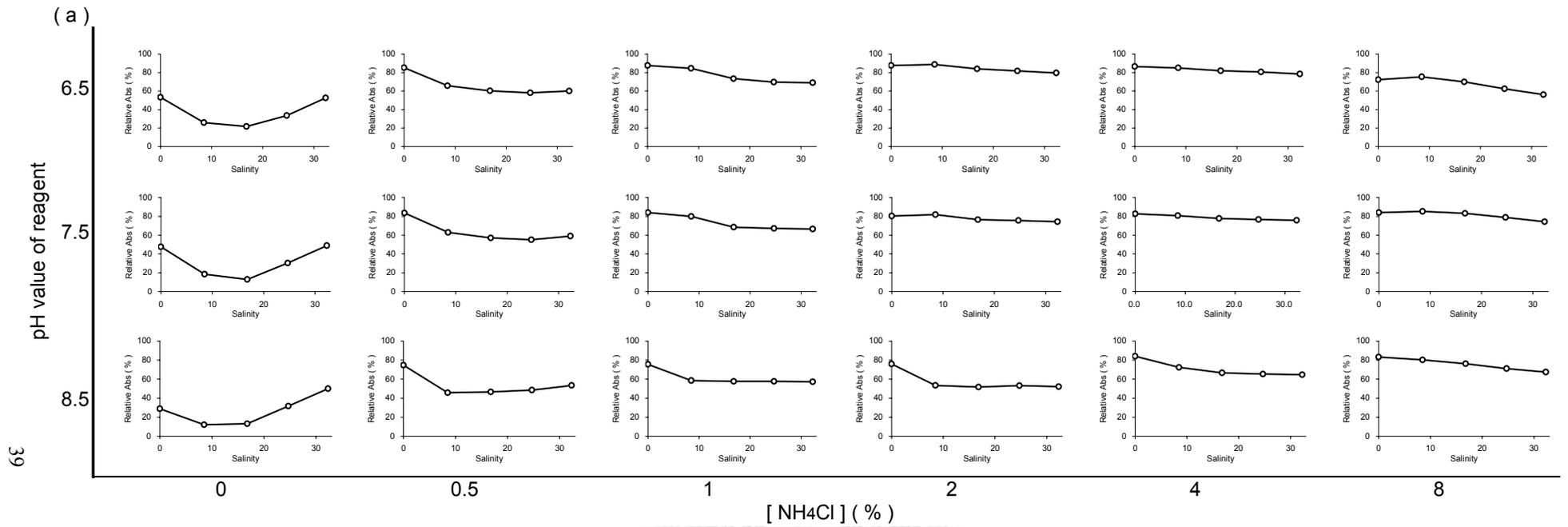


圖 3.3 不同乙二胺四乙酸、氯化銨的濃度與酸鹼值的條件下，相對吸光值隨鹽度的變化趨勢。(a),(b),(c)分別含有 0.5%, 1.0%, 2.0% w/v 乙二胺四乙酸。圖中可觀察出氯化銨濃度低於 1% w/v 時，由乙二胺四乙酸主導趨勢，銨離子含量大於 1% w/v 後，則改為乙二胺四乙酸與酸鹼值的比例決定，相對吸光值隨鹽度的變化與圖 3.1 類似。

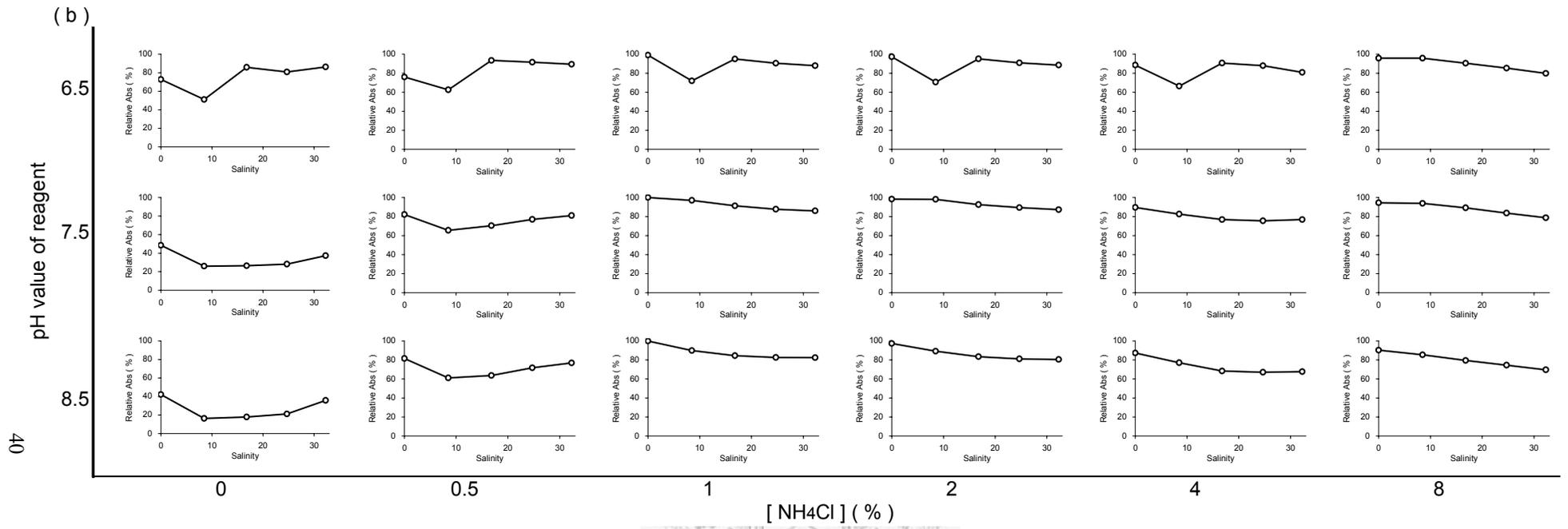


圖 3.3 ( continued )



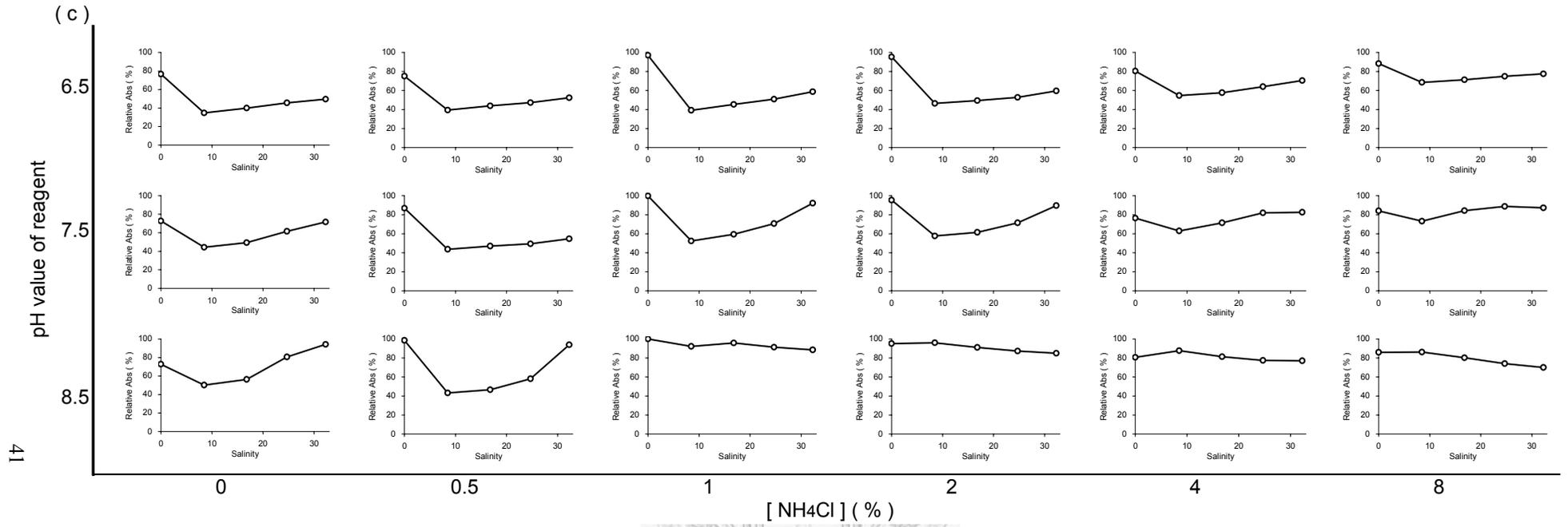


圖 3.3 ( continued )



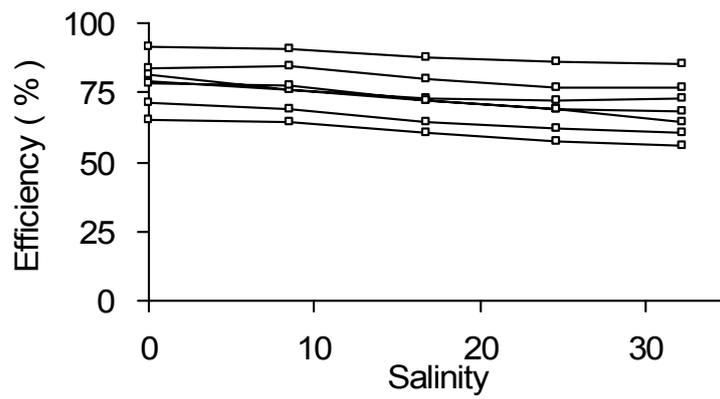


圖 3.4 氯化銨混合乙二胺四乙酸試劑的多重複測試。針對單一試劑(4% w/v 氯化銨混合 0.5% w/v 乙二胺四乙酸 pH 7.5)使用不同條鑄銅還原管進行重複測定，還原率隨鹽度呈現近乎線性變化。



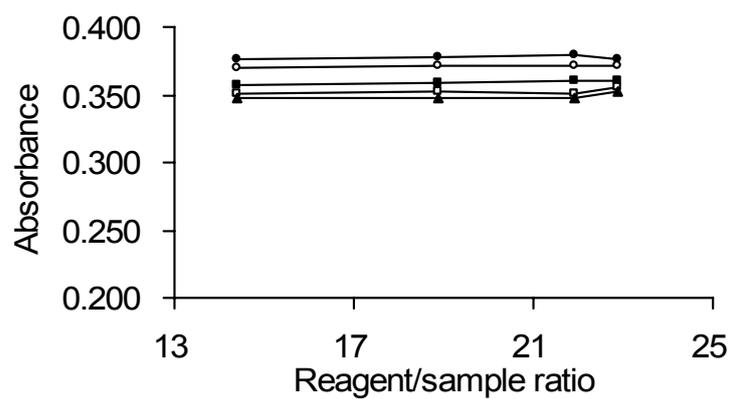


圖 3.5 緩衝試劑添加比對 10  $\mu\text{M}$  硝酸鹽標準品吸光值的影響。符號表示不同鹽度：(●)0.0，(○)8.5，(■)16.8，(□)24.7，(▲)32.3。由於幫浦管(橘-綠)使用程度的差異，當樣本與緩衝試劑添加比介於 15~25(理論值)之間，吸光值隨鹽度的變化情況類似，不受試劑添加比的影響。



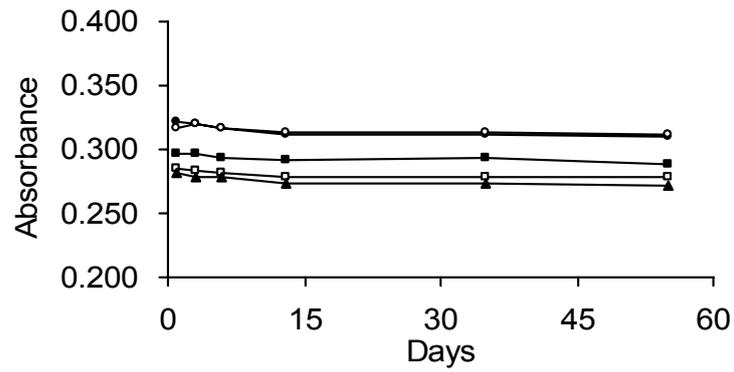


圖 3.6 緩衝錯合試劑的有效期限測試。符號代表不同鹽度：(●)0.0，(○)8.5，(■)16.8，(□)24.7，(▲)32.3。使用當天新配的試劑與存放近兩個月內的多組試劑進行 10  $\mu$ M 硝酸鹽標準品的測試，吸光值皆無顯著的差異，唯存放十天時出現吸光值小滑落，經由重複測試當天試劑確認後得知是由於銅管還原率衰退造成，並非試劑的影響。



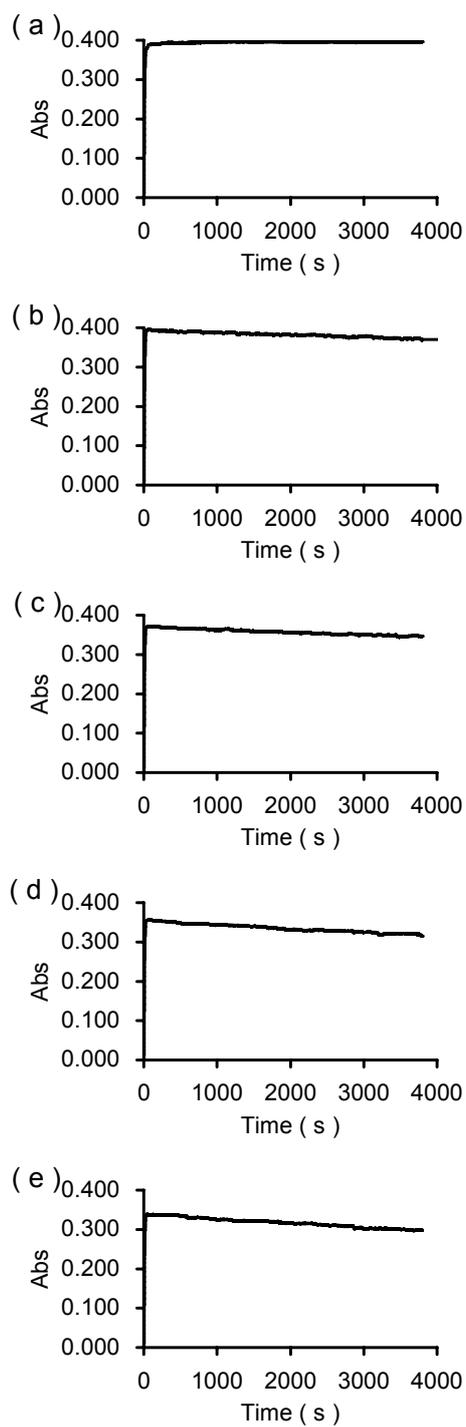


圖 3.7 硝酸鹽流動注入分析的延時觀測。(a)~(e)為不同淡海水混合比例的標準品，依序是 0%, 25%, 50%, 75%, 100% v/v 的海水組成，可以看出鹽度較高的標準品其吸光值下降速率較陡峭，也就是含有鹽度的水樣易使還原率下降。

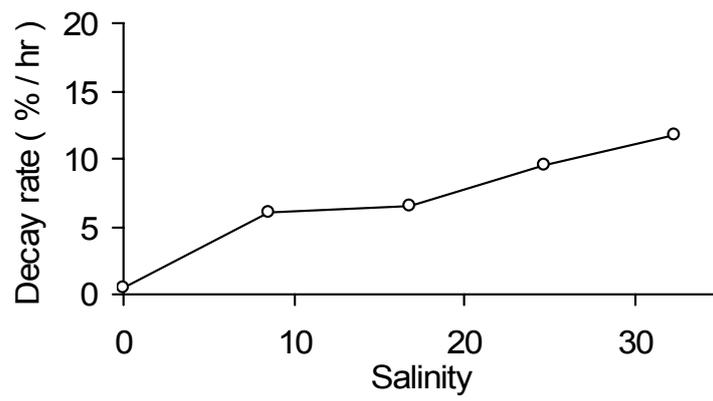


圖 3.8 鎳銅管衰退速率與鹽度的關係。測定同濃度的標準品，鹽度與衰退速率成正相關。



表 3.1 試劑酸鹼值與乙二胺四乙酸濃度的變異，其相對吸光值與反應過程酸鹼值之數據

A

Salinity	A1				A2				A3				A4				A5				A6			
	pH			Relative Abs (%)																				
	1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*	
0.0	4.97	7.93	1.00	100.0	5.10	7.92	1.03	100.0	6.00	7.92	1.03	100.0	6.88	8.03	1.00	100.0	8.36	8.50	1.03	100.0	9.39	9.45	1.06	89.8
8.5	6.93	7.93	1.00	98.9	6.93	7.95	0.99	97.9	7.01	7.95	0.98	95.6	7.37	8.05	0.98	95.1	8.40	8.54	0.99	88.3	9.44	9.48	1.02	46.4
16.8	7.14	7.95	0.98	92.3	7.18	8.00	0.99	91.0	7.22	7.94	0.98	88.3	7.48	8.06	0.98	87.0	8.41	8.53	0.99	78.5	9.42	9.46	1.02	38.8
24.7	7.07	7.95	0.97	88.9	7.29	7.93	0.97	87.6	7.33	7.97	0.97	85.0	7.59	8.06	0.97	83.1	8.41	8.52	0.98	74.4	9.40	9.45	1.00	39.8
32.3	7.37	7.96	0.97	84.1	7.38	7.94	0.94	83.1	7.40	7.95	0.94	80.8	7.65	8.06	0.94	79.2	8.39	8.49	1.00	71.0	9.39	9.42	0.99	41.9

B

Salinity	B1				B2				B3				B4				B5				B6			
	pH			Relative Abs (%)																				
	1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*	
0.0	4.84	7.09	1.03	95.2	5.62	7.34	0.99	94.9	6.05	7.84	1.03	94.8	7.34	7.96	0.99	87.7	8.51	8.61	1.20	75.2	9.36	9.38	1.05	82.5
8.5	5.89	7.70	1.00	90.1	6.15	7.82	1.00	89.2	6.37	7.57	0.99	88.9	7.11	7.97	0.99	82.2	8.47	8.61	1.12	69.2	9.36	9.38	1.03	38.9
16.8	6.50	7.46	0.99	82.2	6.63	7.52	0.99	81.0	6.76	7.88	0.99	80.1	7.30	7.98	1.00	74.2	8.47	8.60	1.11	61.4	9.37	9.40	1.01	36.3
24.7	6.76	7.80	0.97	78.4	6.81	7.62	0.98	77.2	7.12	7.88	0.97	76.9	7.37	7.95	0.96	71.5	8.48	8.60	1.08	59.0	9.35	9.39	0.99	37.6
32.3	6.91	7.70	0.96	75.6	6.98	7.78	0.96	74.4	7.24	7.82	0.96	73.1	7.46	7.82	0.95	67.4	8.44	8.56	1.06	56.4	9.33	9.35	0.98	37.9

C

Salinity	C1				C2				C3				C4				C5				C6			
	pH			Relative Abs (%)																				
	1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*	
0.0	4.72	4.46	1.02	66.4	5.68	6.44	1.07	74.9	6.63	7.51	1.05	94.9	7.36	7.79	1.06	92.7	8.52	8.57	1.14	85.2	9.48	9.50	1.07	75.4
8.5	4.09	4.45	1.02	60.1	4.26	4.03	1.02	64.5	4.45	6.64	1.03	96.2	5.04	7.74	1.02	91.6	8.43	8.57	1.09	81.4	9.42	9.49	1.04	38.2
16.8	4.26	5.76	1.03	97.7	4.49	6.61	1.01	85.4	5.38	7.46	1.00	91.7	6.18	7.73	1.01	88.5	8.43	8.56	1.08	77.6	9.37	9.48	1.04	31.0
24.7	4.51	6.12	1.02	97.2	5.21	6.13	1.00	82.5	6.05	7.32	0.98	90.4	6.50	7.75	0.99	88.3	8.42	8.55	1.08	76.3	9.38	9.44	1.02	35.4
32.3	5.33	6.46	1.00	91.4	5.85	6.88	0.97	80.7	6.37	7.42	0.97	88.9	6.61	7.70	0.98	86.9	8.43	8.54	1.06	71.9	9.35	9.41	1.00	36.9

註：A~F 分別表示 0%, 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 4% w/v 乙二胺四乙酸的濃度，酸鹼值從原始值 (4.x) 至 9.5，由低至高以 1~6 代表。(1\*) 表示加入試劑，但尚未通過錫銅管前的酸鹼值，(2\*) 代表剛經過錫銅管後，未加入呈色試劑前，(3\*) 為整個反應完成後量測。

表 3.1 ( continued )

D

Salinity	D1				D2				D3				D4				D5				D6			
	pH			Relative Abs (%)																				
	1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*	
0.0	4.67	4.32	1.03	54.5	5.74	6.01	1.06	82.4	6.75	7.48	1.04	89.8	7.36	7.62	1.03	90.7	8.24	8.28	1.05	88.4	9.47	9.46	1.04	76.8
8.5	3.92	3.89	0.99	31.7	4.10	4.24	1.02	38.0	4.37	4.61	1.00	59.9	4.98	5.23	1.01	89.4	6.99	8.22	1.00	86.6	9.41	9.43	1.00	75.8
16.8	3.96	4.07	0.99	39.6	4.13	4.27	1.00	52.0	4.38	5.00	0.99	86.0	4.61	5.39	0.98	84.4	7.08	8.36	0.99	81.1	9.40	9.42	0.99	61.8
24.7	4.04	4.16	0.98	43.5	4.21	4.58	0.99	66.8	4.49	5.83	0.96	82.8	4.96	5.84	0.97	81.4	7.38	8.38	0.97	77.5	9.40	9.41	0.96	57.5
32.3	4.13	4.19	0.96	49.4	6.01	6.77	0.95	91.8	6.08	6.13	0.94	79.6	6.09	6.35	0.96	77.8	7.73	8.44	0.96	76.0	9.40	9.40	0.94	58.8

E

Salinity	E1				E2				E3				E4				E5				E6			
	pH			Relative Abs (%)																				
	1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*	
0.0	4.64	4.62	1.08	46.0	5.75	5.79	1.10	74.0	6.71	6.97	1.10	92.0	7.49	7.77	1.10	93.2	8.43	8.51	1.09	93.2	9.47	9.49	1.11	92.4
8.5	3.82	3.85	1.05	22.5	4.02	4.07	1.08	25.2	4.37	4.45	1.08	32.7	4.59	4.68	1.06	50.6	5.31	7.09	1.06	93.5	9.28	9.33	1.10	87.3
16.8	3.81	3.86	1.06	25.1	3.98	4.03	1.07	29.2	4.26	4.35	1.07	33.8	4.39	4.54	1.05	50.4	5.63	7.09	1.05	89.2	9.26	9.31	1.09	78.0
24.7	3.82	3.88	1.04	26.5	3.96	4.03	1.06	30.0	4.24	4.36	1.06	35.8	4.40	4.46	1.03	55.7	6.10	7.51	1.04	88.4	9.25	9.30	1.07	75.9
32.3	3.88	3.91	1.01	26.5	4.01	4.04	1.04	31.4	4.28	4.37	1.04	36.3	4.39	4.60	1.02	61.5	6.27	7.73	1.02	87.2	9.23	9.27	1.06	71.6

F

Salinity	F1				F2				F3				F4				F5				F6			
	pH			Relative Abs (%)																				
	1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*		1*	2*	3*	
0.0	4.58	4.62	1.09	54.8	5.73	5.77	1.10	75.6	6.74	6.89	1.09	79.5	7.56	7.72	1.10	87.9	8.50	8.72	1.12	93.4	9.59	9.63	1.16	95.2
8.5	3.75	3.75	1.06	31.0	4.02	4.04	1.07	40.4	4.52	4.56	1.07	57.5	4.73	4.77	1.08	63.3	5.03	5.11	1.09	72.6	9.22	9.25	1.13	92.9
16.8	3.70	3.70	1.06	32.4	3.91	3.83	1.06	39.1	4.21	4.22	1.06	51.4	4.36	4.47	1.07	56.7	4.76	4.76	1.07	68.1	9.21	9.27	1.12	84.7
24.7	3.69	3.67	1.05	33.2	3.88	3.90	1.06	39.6	4.19	4.21	1.06	50.4	4.34	4.39	1.04	55.7	4.65	4.72	1.08	67.8	9.20	9.24	1.10	82.9
32.3	3.70	3.70	1.02	32.4	3.86	3.88	1.04	38.1	4.15	4.18	1.04	48.8	4.30	4.33	1.02	53.6	4.60	4.69	1.04	66.2	9.18	9.22	1.08	79.1

表 3.2 試劑酸鹼值與氯化銨、乙二胺四乙酸濃度的調整，其相對吸光值隨鹽度變化的數據

(a)

Salinity	Relative Absorbance (%)																	
	0% NH <sub>4</sub> Cl			0.5% NH <sub>4</sub> Cl			1% NH <sub>4</sub> Cl			2% NH <sub>4</sub> Cl			4% NH <sub>4</sub> Cl			8% NH <sub>4</sub> Cl		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
0.0	53.2	47.7	29.0	85.3	83.7	74.7	87.8	84.0	75.6	87.7	80.4	76.0	86.6	82.7	84.0	72.4	84.0	83.2
8.5	26.0	18.4	12.2	65.8	62.9	45.8	84.6	79.9	58.4	88.9	81.9	53.5	85.0	80.9	72.4	75.4	85.3	80.2
16.8	21.6	12.9	13.2	60.3	57.1	46.6	73.5	68.6	57.6	83.9	76.6	51.8	81.9	77.8	66.7	69.9	83.2	76.2
24.7	33.6	30.3	31.6	58.2	55.3	48.4	69.8	67.2	57.6	81.9	75.7	53.2	80.6	76.7	65.4	62.4	78.8	71.1
32.3	52.7	49.0	50.0	60.0	58.9	53.4	69.2	66.6	57.3	79.5	74.3	52.0	78.6	76.0	64.6	56.1	74.3	67.4

(b)

Salinity	Relative Absorbance (%)																	
	0% NH <sub>4</sub> Cl			0.5% NH <sub>4</sub> Cl			1% NH <sub>4</sub> Cl			2% NH <sub>4</sub> Cl			4% NH <sub>4</sub> Cl			8% NH <sub>4</sub> Cl		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
0.0	72.6	48.5	42.1	75.9	82.1	81.6	99.0	100.0	99.8	97.3	98.3	97.3	88.5	89.6	87.2	95.6	94.6	90.2
8.5	51.1	25.9	16.5	62.6	65.5	61.0	72.0	97.0	89.8	70.6	98.0	89.1	66.4	82.6	77.1	95.6	93.7	85.3
16.8	85.9	26.5	17.9	93.3	70.3	63.6	94.8	91.3	84.4	95.0	92.5	83.3	90.7	76.8	68.2	90.5	89.1	79.3
24.7	80.9	28.2	21.2	91.4	77.0	71.7	90.3	87.6	82.6	90.8	89.3	81.1	88.0	75.5	66.9	85.3	83.7	74.4
32.3	86.2	37.4	35.9	89.3	81.0	76.7	87.8	85.9	82.4	88.6	87.3	80.3	80.9	76.8	67.7	79.8	78.7	69.5

(c)

Salinity	Relative Absorbance (%)																	
	0% NH <sub>4</sub> Cl			0.5% NH <sub>4</sub> Cl			1% NH <sub>4</sub> Cl			2% NH <sub>4</sub> Cl			4% NH <sub>4</sub> Cl			8% NH <sub>4</sub> Cl		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
0.0	76.7	72.7	72.7	75.2	86.8	98.4	97.0	99.7	100.0	95.3	95.3	95.0	80.4	76.5	80.7	88.3	84.0	85.9
8.5	34.7	44.3	50.1	39.3	43.5	43.3	39.2	52.3	92.2	46.3	57.7	96.0	54.8	63.0	87.6	68.6	73.2	86.2
16.8	40.1	49.3	56.2	43.8	47.0	46.7	45.2	59.3	95.7	49.3	61.4	91.1	57.7	71.4	81.2	71.3	84.3	80.2
24.7	45.6	61.5	80.6	47.2	49.3	58.0	50.8	70.6	91.2	52.7	71.5	87.1	64.0	82.0	77.5	74.8	88.6	74.0
32.3	49.6	71.6	94.2	52.2	54.6	93.9	58.8	92.2	88.4	59.7	89.6	84.9	70.4	82.5	77.0	77.5	87.3	69.9

註：#1, #2, #3 表示改變試劑的酸鹼值至 6.5, 7.5, 8.5。(a), (b), (c) 分別含有 0.5%, 1.0%, 2.0% w/v 乙二胺四乙酸。

表 3.3 新舊幫浦管對 10  $\mu$ M 硝酸鹽標準品吸光值的影響

Salinity	Absorbance			
	#1	#2	#3	#4
0.0	0.376	0.379	0.377	0.376
8.5	0.372	0.372	0.371	0.370
16.8	0.360	0.360	0.358	0.357
24.7	0.355	0.351	0.352	0.351
32.3	0.352	0.348	0.348	0.347

註：編號#1~#4 使用不同新舊程度的橘-綠色標幫浦管，其代表樣本與緩衝試劑比依序為 22.9( 全新 )、21.9、18.9、14.4。



表 3.4 緩衝試劑的存放期限對於各種淡海水混合比例硝酸鹽標準品之吸光值數據

Preservative date ( days )	Absorbance				
	0% SW	25% SW	50% SW	75% SW	100% SW
1	0.322	0.317	0.296	0.285	0.281
3	0.320	0.320	0.296	0.284	0.279
6	0.317	0.317	0.294	0.282	0.278
13	0.311	0.313	0.291	0.278	0.274
35	0.311	0.314	0.293	0.278	0.274
55	0.310	0.311	0.289	0.278	0.272

註：以 10  $\mu$ M 的硝酸鹽標準品進行測試。



## 第四章 感潮帶樣本的實測

### 4.1 概述

經過緩衝錯合試劑成分的測試後，已經針對河口廣鹽性樣本，找尋出較佳的緩衝試劑，但仍有些微的鹽度干擾，因此本章將介紹如何利用簡單的線性公式，校正還原率，用以計算出樣品中硝酸鹽的濃度，並對新試劑的可應用濃度範圍進行實驗，再以感潮帶的自然樣本進行新試劑( 4% w/v  $\text{NH}_4\text{Cl}$  + 0.5% w/v EDTA, pH=7.5 )與傳統緩衝試劑( 2% w/v  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 無調整酸鹼值 )的比較。

### 4.2 實驗室內系統測試

對於新緩衝錯合試劑將應用於鎘銅還原法測定感潮帶樣本中硝酸鹽的含量時，需先確立計算方式，才能將吸光值換算為真實的濃度值，同時必須針對各鹽度的水樣進行標準添加測試，以確保此方法能準確量測河口樣水中的硝酸鹽，並且需要得知硝酸鹽自動分析儀搭配此種試劑時，其適用的濃度範圍為何，才不至於錯估濃度。

#### 4.2.1 數據計算的方法

##### (1) 還原率的修正

使用傳統試劑 2% w/v 氯化銨溶液時，還原率隨鹽度變化趨勢不穩定，導致進行鹽度修正時，需要配製多鹽度的標準品，過程複雜又耗時，但使用新的緩衝錯合試劑後( 成分為 4% w/v  $\text{NH}_4\text{Cl}$  + 0.5% w/v EDTA, pH=7.5 )，雖還原率在不同條鎘管中仍會改變，但其隨著鹽度的增加卻是近似線性變化，因此可以藉由還原率的線性函數進行校正。

首先需將亞硝酸鹽與硝酸鹽標準品配製淡水與海水中，再以標準品的還原率對鹽度做圖，如圖 4.1，以海、淡水還原率為端點，連接成一直線，此線段的公式

$Y = aX + b$ ，即可視為還原率為鹽度的函數：

$$E(S) = a \cdot S + E(\text{DDW std}) \dots\dots\dots (I)$$

其中  $E(S)$  為依照樣本鹽度修正後的還原率。

$a$  為鎳銅管還原率隨鹽度變化的斜率。

$S$  代表樣本的鹽度。

$E(\text{DDW std})$  為分析過程中，監測所得二次蒸餾水標準品的還原率。

又公式(I)中的斜率會因鎳銅管而異，因此每當鎳管重新安裝上流動注入分析儀後，就需要測試當次還原率隨鹽度變化的斜率，計算方式為：

$$a = (E(\text{SW std}) - E(\text{DDW std})) / \Delta S \dots\dots\dots (II)$$

其中  $E(\text{SW std})$  為使用配製於乾淨海水中的標準品所得到的還原率。

$\Delta S$  為兩標準品之鹽度差異。

將公式(I)、(II)結合，即可得到當次的經過鹽度修正的還原率，再以校正後的還原率代入硝酸鹽的濃度計算公式，即可得到較準確的數值。

## (2) 硝酸鹽濃度的計算

鎳銅還原法的原理是將樣本中的硝酸鹽還原成亞硝酸鹽，再使用磺胺奈乙二胺呈色法進行測定，因此得到的吸光值包含了樣本中原有的亞硝酸鹽以及由硝酸鹽還原的亞硝酸鹽，其可表示為如下之公式：

$$\text{Abs}_{\text{total}} = \text{Abs}_{\text{NO}_2^-} + \text{Abs}_{\text{NO}_3^-} \dots\dots\dots (I)$$

其中  $\text{Abs}_{\text{total}}$  為偵測器上所顯示的吸光值。

Abs<sub>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></sub>表示樣本中含有的亞硝酸鹽所產生的吸光值。

Abs<sub>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub>代表樣本中的硝酸鹽經過銅管被還原成亞硝酸鹽的吸光值。

於實驗前，配製不同濃度的標準品，與其吸光值做圖，得到一斜率為  $k$  (Abs /  $\mu\text{M}$ ) 的檢量線，可作為將樣本的吸光值換算成濃度之憑藉。

$$\text{Abs} = k \times [\text{conc.}] \dots\dots\dots (\text{II})$$

將公式(II)代入公式(I)，即可轉換為：

$$\text{Abs}_{\text{total}} = k_{\text{NO}_2^-} [\text{NO}_2^-] + k_{\text{NO}_3^-} [\text{NO}_3^-] \dots\dots\dots (\text{III})$$

其中  $k_{\text{NO}_2^-}$  為利用 10  $\mu\text{M}$  的亞硝酸鹽標準品求得的斜率。

$k_{\text{NO}_3^-}$  係以 10  $\mu\text{M}$  的硝酸鹽標準品得到的斜率。

$[\text{NO}_2^-]$  為樣本中亞硝酸鹽的濃度( $\mu\text{M}$ )。

$[\text{NO}_3^-]$  是樣本中硝酸鹽的含量( $\mu\text{M}$ )。

將公式(III)同除以  $k_{\text{NO}_2^-}$  後變更為，

$$\text{Abs}_{\text{total}} / k_{\text{NO}_2^-} = [\text{NO}_2^-] + E(S) [\text{NO}_3^-] \dots\dots\dots (\text{IV})$$

其中  $E(S)$  為經過鹽度修正後的還原率。

將公式(IV)移項調整後，即可得到，

$$[\text{NO}_3^-] = \{ (\text{Abs}_{\text{total}} / k_{\text{NO}_2^-}) - [\text{NO}_2^-] \} / E(S) \dots\dots\dots (\text{V})$$

上述的公式(V)中，可以從偵測器判讀得到吸光值，藉由亞硝酸鹽與硝酸鹽的標準品求出斜率以及還原率，亦可以手動加藥方式或是利用未加裝鎳銅還原管的硝酸鹽自動分析儀測定亞硝酸鹽的濃度，即可算出硝酸鹽濃度。

#### 4.2.2 標準添加試驗

由於河口環境的水樣基質較複雜，水體中容易含有還原性物質，增加測定的困難度，因此需要確認新試劑搭配鎳銅還原法測定河口樣本的可行性，欲以標準添加法評估其應用於感潮帶水樣的準確度如何。

##### (1) 實驗儀器設備

實驗所需的分光光度計、流動槽、鎳銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管、定量瓶與酸鹼度計等，見參考 2.2.1(1)。而實驗流程板主要以內徑 0.8 mm 的鐵氟龍管、三通原餅組裝而成，參見圖 4.2，將中心管線固定於壓克力板上，由五條管線為輸入源，包含載流，樣本，緩衝試劑、酸性磺胺試劑與奈乙二胺試劑，並以轉速為 25 rpm 的蠕動幫浦作為整個自動分析的動力，且利用幫浦管的管徑控制載流、樣本試劑添加比約為 25:25:1，當液體推入中心流程板，經由鎳銅管的還原反應以及在加熱槽 40°C 的條件下進行呈色反應，最後送入偵測系統進行吸光值判讀。又樣本迴圈上加裝六向閥，可選擇上樣模式，即樣本被抽進 120 cm 長的管路，再流入廢液桶中；當轉閥變更為注入模式時，載流則進入樣本迴圈，將原本管路中的樣本攜入至主流程板進行反應，由於載流是以硝酸鹽含量極低的液體為之，導致樣本在被載流運送的途中，會不斷與其混合稀釋，故存在一稀釋比，在固定幫浦轉速條件下，本分析儀的稀釋比約為 0.5，但稀釋的程度仍會隨幫浦管比例而有些微變動。在定流速、控溫的環境下，呈色反應的完成度約為 92%，還原率則隨鎳銅管改變。

## (2) 試劑與標準品的配製

關於氯化銨混合乙二胺四乙酸之緩衝錯合試劑、酸性磺胺試劑與奈乙二胺試劑， $10\ \mu\text{M}$  配製在二次蒸餾水與海水中的亞硝酸鹽、硝酸鹽標準品與浸鍍鎘粒用的鹽酸溶液與硫酸銅溶液，其配方請參照 2.2.1 和 3.3.1 (2) 部分。此外，藉由淡水河福和橋附近的河水與南海表層海水依照 0%、25%、50%、75% 和 100% 的比例混合，作為含鹽度的樣本。在定量瓶中添加 2 ml 的二次蒸餾水或次標準品( 包含 250、500、750  $\mu\text{M}$  三種濃度 )，最後以各種鹽度的樣水定量至 100 ml，即完成五種鹽度各四種濃度的自然樣本。

## (3) 步驟

確認硝酸鹽分析儀正常運轉，且鎘銅管還原率穩定，利用標準品監測還原率，從鹽度高的樣本中按照濃度低至高開始測定，完成一組鹽度的樣本後，先量測還原率，再繼續測定次高鹽度的水樣，如此反復進行試驗。

## (4) 數據討論

由於樣本係以河水與海水兩種水體依不同比例混合，因此偵測得到的水樣濃度結果為線性關係，根據圖 4.3 觀察出：添加的濃度與實測吸光值經過修正、換算得到的濃度值相當接近，回收率皆近於 100%，雖然河口水樣的基質較複雜，在同鹽度的條件下，且一定濃度範圍內，濃度與吸光值之間存在穩定的比例( 吸光係數， $\epsilon$ )，察看表 4.1，實測的濃度與理論值誤差小於 3%。

### 4.2.3 檢量線線性範圍探討

根據比爾定律( Beer's Law )得知吸光值與濃度應成正比，但是此定律只適用一定範圍的濃度，且隨著不同儀器、鎘銅管、樣本試劑比與試劑種類而改變，本小節將對氯化銨混合乙二胺四乙酸試劑進行檢量線測試，得知其對於本研究測定用

的流動注入分析儀適用範圍，由於實驗空白值為  $0.000 \pm 0.000$ ，不適用偵測極限的計算，因此本小節只討論應用於淡水與海水樣品時，線性範圍的上限濃度值。

### (1) 實驗儀器設備

本實驗需要的裝置包含分光光度計、流動槽、鎳銅還原管、蠕動幫浦、幫浦管、加熱器、移液管、定量瓶與酸鹼度計，詳細內容請參考 2.2.1(1)。

### (2) 試劑與標準品的配製

製作鎳銅還原管所用的鹽酸溶液與硫酸銅溶液，以及酸鹼值為 7.5 的 2% w/v 氯化銨混合 0.5% w/v 乙二胺四乙酸緩衝試劑、酸性磺胺試劑與奈乙二胺試劑，配方請參照 2.2.1 和 3.3.1(2) 部分。另外需以二次蒸餾水和海水配製多濃度的硝酸鹽標準品，包含 5、10、20、30、40、50、60、80 和 100  $\mu\text{M}$  等濃度。步驟如下：先取 10 ml 的 5000  $\mu\text{M}$  硝酸鹽母液，添加二次蒸餾水稀釋成 500、1000  $\mu\text{M}$ ，容量各為 100、50 ml 的次標準品，再稀釋成 50、100 ml 不等的各濃度標準品，並且重複步驟改以乾淨的南海表層海水代替蒸餾水，可配製出鹽度近 33 的標準品。

### (3) 步驟

首先啟動蠕動幫浦並確認載流試劑正常運送、管路中無任何氣泡時，再安裝鎳銅管待其還原率穩定後，便可由 5  $\mu\text{M}$  的淡水標準品開始進行測定，其中每個濃度之樣本進行三重複的測量，按著濃度由低到高依序上樣，每測定兩個濃度的標準品之後，插入 5  $\mu\text{M}$  的標準品進行確認，重複步驟直到九種濃度的標準品全數測定完畢，將樣本更換為海水標準品，記錄濃度與吸光值的關係。

### (4) 數據討論

觀察兩組實驗的測試結果：淡水組標準品的濃度與吸光值的數據見表 4.2，海

水組的檢量線測試參考表 4.3。當鎘銅管還原率對於淡水樣品約 90 %、海水樣本約 75 %時，從表 4.2 可以看出淡水的樣本濃度超過 40  $\mu\text{M}$  後，斜率  $k$  開始有點下降，在容許 2%的偏差下，量測鹽度低的樣本時，50  $\mu\text{M}$  的硝酸鹽含量應是本流動注入分析儀的濃度偵測上限；而海水組的  $k$  值下降較快，由於海水樣本容易使鎘銅管還原率衰退，因此需要藉由穿插同濃度的標準品一起比較，當測定濃度介於 30-40  $\mu\text{M}$  的標準品之間，以 5  $\mu\text{M}$  的標準品測定得到斜率約為 0.0149，因此適用海水中硝酸鹽濃度的上限約為 40  $\mu\text{M}$ 。在一般河口環境硝酸鹽的測量，因表層海水稀釋的緣故，鹽度較高的水樣其濃度會較低，故整體來說，將此氯化銨混合乙二胺四乙酸試劑搭配本流動注入分析儀的組合，其適用的濃度範圍需小於 50  $\mu\text{M}$  ( 但線性範圍仍會隨著鎘銅管還原率變動 )，若濃度太高的樣本需要經過稀釋後再進行測定，才能獲得準確的濃度值。

### 4.3 實測河口環境樣本

確立了專用於河口感潮帶樣本的緩衝錯合試劑和訂立修正公式與濃度換算方式後，亦得知適用濃度範圍，即可比較傳統的氯化銨試劑與本文建議的氯化銨混合乙二胺四乙酸試劑，兩者應用在河口環境研究的情況。

#### (1) 採樣地點與方式

本次實驗樣本由溫良碩老師實驗室提供，採樣站位如圖 4.4，僅針對鹽度變異明顯的區域，即新店溪與大漢溪匯合後的淡水河主河段( A3-T5 站之間 )，進行兩種試劑的比較。採樣方式以幫浦為動力，將鐵氟龍製的採水管放在船邊抽水，經過 0.45  $\mu\text{m}$  的濾球(GE, Polypropylene Capsule Filters )過濾，以營養鹽瓶(Nalgene, 250 ml LDPE Bottle )裝樣後放置冰桶中保存，隨即帶回實驗室放入冷凍庫儲存。

## (2) 實驗儀器設備

流動注入分析儀參考 4.2.2(1)，鎘銅還原管配製，移液管、定量瓶與酸鹼度計同 2.1.1(1)。

## (3) 試劑與標準品的配製

根據 2.2.1、2.2.2 和 3.3.1(2) 的部分，調配 3N HCl 與 0.1% CuSO<sub>4</sub> 溶液製作鎘銅還原管，測定所需的緩衝試劑(4% w/v NH<sub>4</sub>Cl + 0.5% w/v EDTA, pH=7.5，以及 2% w/v NH<sub>4</sub>Cl)、HSUL 試劑和 NED 試劑，確認鎘銅管還原率用的多鹽度亞硝酸鹽、硝酸鹽標準品。

## (4) 步驟

確認流動注入分析儀正常運作後安裝鎘銅管，選擇二次蒸餾水為載流，氯化銨混合乙二胺四乙酸溶液為緩衝試劑，注入硝酸鹽標準品觀察吸光值是否穩定，若再現性佳即可進行樣本測定，每兩三個樣品中間可插入配製於淡水中的硝酸鹽與亞硝酸鹽標準品確認還原率，待全數樣本皆測試後，再測定五種標準品的還原率。更換氯化銨溶液做緩衝試劑，重複上述步驟，最後再測量標準品的還原率。

## (5) 數據討論

首先訂立本次實驗的修正公式，如圖 4.5，使用氯化銨試劑的測定，經由五種鹽度的標準品之還原率，得到二次方程式： $E(S) = 0.00019 \cdot S^2 - 0.01370 \cdot S + E(\text{DDW std})$ ，而採用氯化銨混合乙二胺四乙酸試劑的實驗，分為兩種修正公式，一為五個實測點得到的公式： $E(S) = 4.8 \cdot 10^{-6} \cdot S^3 - 0.00021 \cdot S^2 - 0.017 \cdot S + E(\text{DDW std})$ ，另一為僅以淡、海水標準品決定的鹽度線性函數： $E'(S) = -0.0035 \cdot S + E(\text{DDW std})$ ，將測定過程中持續監測的淡水標準品還原率代入修正公式，即可得到三種鹽度校正後的還原率(參考表 4.4)，再代入 4.2.1(2) 的硝酸鹽濃度計算，即

可得到樣本的濃度值。

以本實測案例討論，雖然使用兩種不同的緩衝錯合試劑，共三條的校正方程式，但修正後的濃度相當接近（見圖 4.6），濃度差小於 3%，而以氯化銨混合乙二胺四乙酸試劑求出的兩條方程式，其計算出的還原率誤差小於 1%，顯示只以海、淡水兩標準品訂立的簡易公式仍擁有好的準確度，簡化了原本繁瑣的步驟，對於感潮帶硝酸鹽的監測提供了方便準確的新選擇。



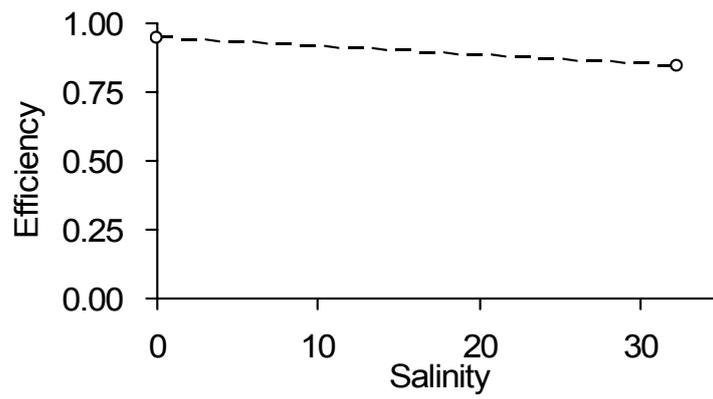


圖 4.1 還原率修正示意圖。利用配製於海水、淡水中硝酸鹽標準品的還原率作為端點，連接成一直線，此線段即為還原率隨鹽度變化的校正公式( $E(S) = a \cdot S + E(\text{DDW std})$ )。



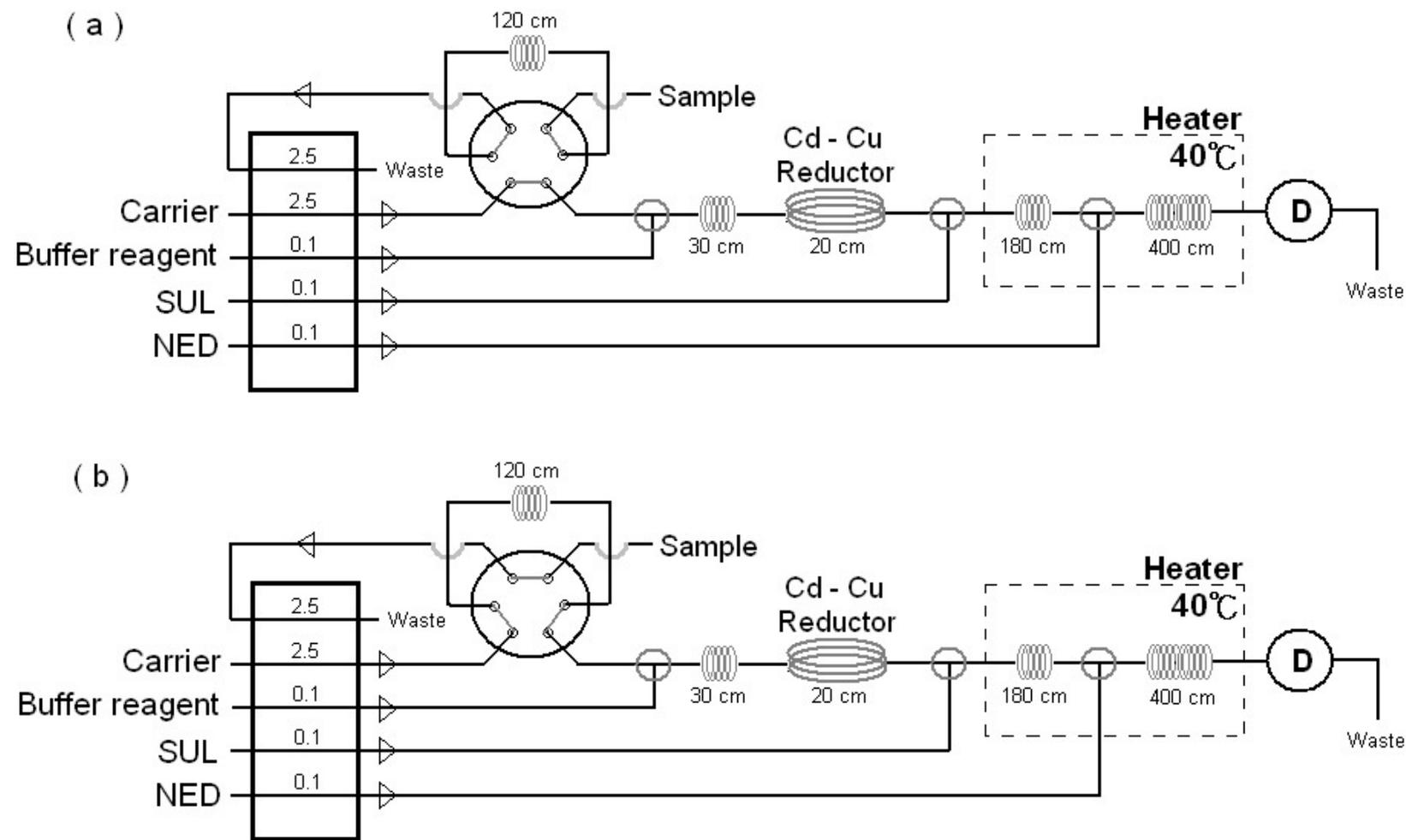


圖 4.2 硝酸鹽流動注入分析儀示意圖。(a)為上樣，樣本被抽入迴圈至廢液回收桶。(b)為注入樣本，轉動六向閥，藉由載流攜帶樣本進入反應流程版。

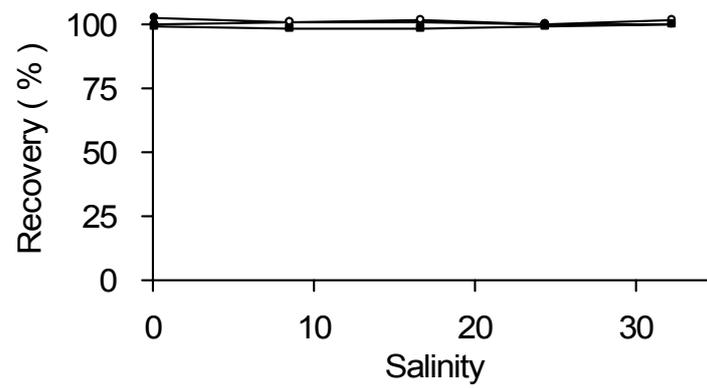


圖 4.3 含鹽度硝酸鹽樣水標準添加之回收率。代號表示添加不同濃度硝酸鹽的標準品：(●) 5 μM，(○) 10 μM，(■) 15 μM。圖中顯示在一定的濃度範圍內，回收率不受鹽度影響。



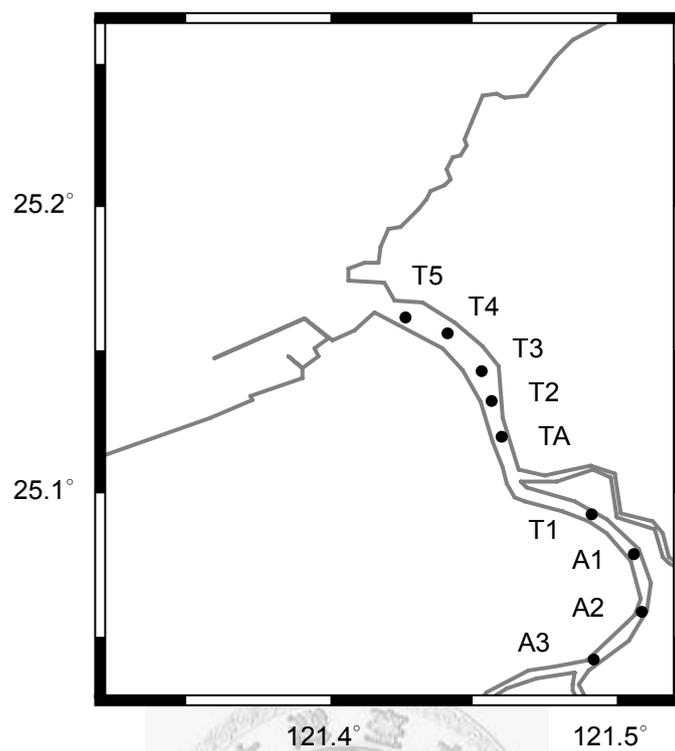


圖 4.4 淡水河採樣站位圖。本次實驗僅討論淡水河段(A3-T5)的樣本(感潮區域)，不包含三條支流。

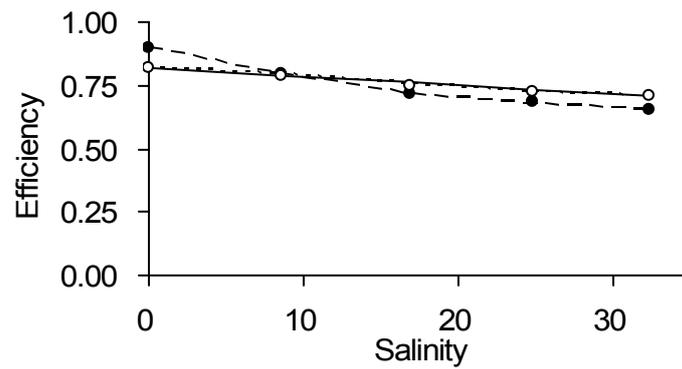


圖 4.5 鹽度校正公式示意圖。(●)使用氯化銨試劑，(○)以氯化銨混合乙二胺四乙酸溶液為試劑。點為硝酸鹽標準品實際測出的還原率，線為修正公式模擬本次還原率隨鹽度變化的曲線，疏線以氯化銨試劑測試標準品得到的結果所訂立之公式  $E(S)_{\text{NH}_4\text{Cl}}$ ，而採用氯化銨、乙二胺四乙酸混合溶液為緩衝試劑計算出的方程式，以較密集的虛線(由五種鹽度標準品計算出  $E(S)$ )與實線(以淡、海水標準品求出  $E'(S)$ )表示。



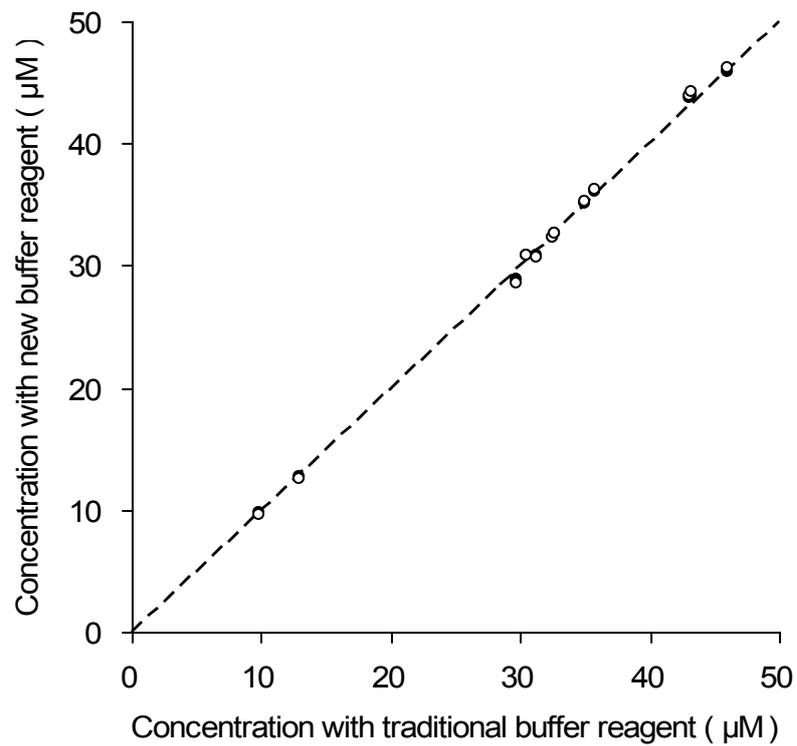


圖 4.6 選用不同緩衝溶液測定淡水河流域之硝酸鹽濃度值的比較。(●)以氯化銨混合乙二胺四乙酸溶液為試劑，經由  $E(S)$  計算得到，(○)選擇氯化銨混合乙二胺四乙酸作為試劑，但採用  $E'(S)$  公式校正，虛線代表一比一。使用兩種緩衝試劑得到的修正後濃度值相當，沒有顯著的差異；不同修正公式計算出的濃度值亦相當接近。

表 4.1 模擬河口樣本標準添加之實測濃度值與回收率

NO <sub>3</sub> addition ( $\mu\text{M}$ )	Salinity									
	0.1		8.6		16.7		24.4		32.3	
	Conc. ( $\mu\text{M}$ )	R (%)								
0	20.5	x	15.1	x	9.2	x	4.5	x	0.0	x
5	25.6	102.2	20.2	100.9	14.2	100.5	9.5	99.8	5.0	100.0
10	30.5	100.1	25.2	100.9	19.3	101.1	14.5	100.0	10.2	101.6
15	35.3	99.0	29.8	97.7	23.9	98.2	19.3	98.7	14.9	99.3

註：以河水混合乾淨表層海水模擬河口水樣。

Conc. ( $\mu\text{M}$ )表示實測濃度值。

R (%)代表回收率，計算方式為實測增加濃度除以理論添加濃度。



表 4.2 淡水樣本之檢量線線性範圍

[ NO <sub>3</sub> ] ( μM )	Absorbance			k ( average Abs / μM )
	#1	#2	#3	
5	0.093	0.094	0.094	0.0187
10	0.187	0.186	0.188	0.0187
20	0.373	0.373	0.375	0.0187
30	0.558	0.559	0.556	0.0186
40	0.742	0.742	0.738	0.0185
50	0.910	0.908	0.909	0.0182
60	1.064	1.065	1.062	0.0177
80	1.394	1.391	1.400	0.0174
100	1.738	1.740	1.744	0.0174



表 4.3 海水樣本之檢量線線性範圍

[ NO <sub>3</sub> ] ( μM )	Absorbance			k ( average Abs / μM )
	#1	#2	#3	
5	0.077	0.076	0.076	0.0153
10	0.153	0.152	0.152	0.0152
20	0.303	0.303	0.300	0.0151
30	0.448	0.446	0.444	0.0149
40	0.586	0.583	0.587	0.0146
50	0.717	0.711	0.717	0.0143
60	0.850	0.845	0.848	0.0141
80	1.122	1.113	1.112	0.0139
100	1.386	1.378	1.374	0.0138



表 4.4 淡水河樣本實驗數據

Station no.	Salinity	2% NH <sub>4</sub> Cl			4% NH <sub>4</sub> Cl + 0.5% EDTA, pH = 7.5		
		Absorbance	E (DDW std)	E (S)	Absorbance	E (DDW std)	E(S)
A3	0.2	0.607	90	89	0.570	81	81
A2	0.2	0.633	89	89	0.597	81	81
A1	1.2	0.726	89	87	0.677	80	79
T1	1.1	0.738	88	87	0.697	79	79
TA	3.3	0.879	88	84	0.851	79	78
T2	4.7	0.847	88	82	0.840	79	77
T3	6.1	0.822	87	79	0.809	78	76
T4	12.0	0.570	87	73	0.589	78	74
T5	13.4	0.588	86	71	0.594	78	73
TA'	17.1	0.501	86	68	0.507	78	72
T2'	28.8	0.195	86	62	0.203	77	67
T3'	30.7	0.143	85	61	0.152	77	66

註：TA'、T2'、T3'為漲潮時重複採樣點。

E(S)以實測五個標準品訂出的方程式，計算後的修正還原率。

E'(S)採用淡、海水兩標準品求得的線性修正公式推算的還原率。

## 第五章 結論

河口位於河海交接處，不僅有河川持續的輸出，也有來自海洋的浪與潮在此激烈地進行混合作用，再加上人為活動造成影響，因而形成特殊的河口環境。本研究以鎘銅還原法測定河口廣鹽性樣本的準確性為主軸，模擬測定感潮帶水樣中的硝酸鹽，當以濃度 2% 的氯化銨溶液做緩衝試劑時，同濃度的硝酸鹽標準品其吸光值會隨著鹽度增加而減少；在整理多組的實驗數據後，發現鎘銅管還原率隨鹽度變化的趨勢其再現性不佳，無法以一條經驗方程式解決鹽度干擾的問題，而是需要每次測定一批樣本後，以多鹽度的標準品求得當次的修正公式，方法複雜且耗時。因此，將目標轉為利用緩衝錯合試劑來減緩鹽度的影響，實驗發現試劑的成分與酸鹼值皆會改變鹽度與吸光值的關係，經由交叉測試得到本文建議的緩衝錯合試劑，其成分為濃度 4% w/v 的氯化銨與 2% w/v 的乙二胺四乙酸混合溶液，並以氫氧化鈉將試劑酸鹼值調整至 7.5。

若將原本使用的氯化銨試劑變更為新配方的緩衝錯合試劑，則鹽度對吸光值的影響大幅縮小，經過重複試驗皆呈現近似線性的鹽度干擾，只需每次測定完全數樣本後，利用海、淡水標準品取得修正公式的斜率：

$$a = (E(SW\ std) - E(DDW\ std)) / \Delta S$$

求得斜率後再代入還原率的修正通式中，

$$E(S) = a \cdot S + E(DDW\ std)$$

依照每個樣本的鹽度及測定時的還原率，計算出鹽度修正後的還原率，代入硝酸鹽濃度的計算，

$$[NO_3^-] = \{ (Abs_{total} / k_{NO_2^-}) - [NO_2^-] \} / E(S)$$

即可得到準確的濃度值。

以本試劑搭配自行組裝的 FIA 流程板，在鎘銅管還原率測定淡水樣品約 90 %、海水樣本近 75 % 的條件下，應用於淡水樣本的測定，其線性範圍之濃度上限約為 50  $\mu\text{M}$ ，而海水適用濃度需低於 40  $\mu\text{M}$ ，若感潮帶水樣中硝酸鹽的濃度高於 50  $\mu\text{M}$ ，則需稀釋後再測定，以免低估樣本濃度。由於河口水樣有機物質成分較高，使得鎘銅管還原率衰減速度加快，建議每測定三個樣本之後，穿插亞硝酸鹽與硝酸鹽的標準品，用以確認鎘銅管的還原率，便於得到準確的濃度。



## 參考文獻

APHA, 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18<sup>th</sup>,  
Washington D. C., 4-85~4-91

Armstrong, F. A. J., 1963. Determination of nitrate in water by ultraviolet  
spectrophotometry. Analytical Chemistry, Vol. 35, pp. 1292

Bianchi, T., S., 2007. Biogeochemistry of estuaries. Oxford University Press, Inc. New  
York

Chow, T. J., Johnstone, M. S., 1962. Determination of nitrate in sea water. Analytica  
Chimica Acta., Vol. 27, pp. 441

Frank, J. M., 2006. Chemical oceanography. 3<sup>rd</sup>, CRC Press, pp. 305-314

Grasshoff, K., 1999. in Grasshoff, K., Ehrhardt, M., Kremling, K. eds., Methods of  
seawater analysis. 3<sup>rd</sup>, Verlag Chemie, Weinheim, pp. 180-186

Griess, P., 1879. Bemerkungen zu der Abhandlung der H.N. Weselky und Benedikt  
Ueber einige Azoverbindungen. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft, Vol.  
12, pp. 426-428

Head, P. C., 1985. Practical estuarine chemistry. Cambridge University Press, Inc. pp.  
98-109

Hobbie, J. E., 2000. Estuarine science : a synthetic approach to research and practice. Island Press, Washington DC, pp. 1-11

Jenkins, D., Medsker, L. L., 1964. Brucine method for determination of nitrate in ocean estuarine + fresh waters. Analytical Chemistry, Vol. 36, pp. 610-612

Langmuir, D., Jacobson, R. L., 1970. Specific-ion electrode determination of nitrate in some freshwater and sewage effluents. Environmental science & technology, Vol. 4, pp. 834

Libes, S. M., 1992. An introduction to marine biogeochemistry. John Wiley & Sons, Inc. New York, pp. 154-155

Liu, K. K., Kao, S. J., Wen, L. S., Chen, K. L., 2007. Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter and biogeochemical processes in the eutrophic Danshuei Estuary in northern Taiwan. Science of the total environment, Vol. 382, pp. 103-120

Morris, A. W., Riley, J. P., 1963. The determination of nitrate in sea water. Analytica Chimica Acta., Vol. 29, pp. 272-279

Mullin, J. B., Riley, J. P., 1955. The spectrophotometric determination of nitrate in natural waters, with particular reference to sea-water. Analytica Chimica Acta, Vol. 12, pp. 464-480

Pai, S. C., Yang, C. C., 1990. Formation kinetics of pink azo dye in the determination of nitrite in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, Vol. 232, pp. 345-349

Pai, S. C., Riley, J. P., 1994. Determination of nitrate in the presence of nitrite in natural waters by flow injection analysis with a non-quantitative on-line cadmium reductor. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, Vol. 57, pp. 263-277

Riley, J. P., Chester, R., 1971. *Introduction to marine chemistry*. Academic Press, London, pp. 152-167

Small, H., Stevens, T. S., Bauman, W. C., 1975. Novel ion-exchange chromatographic method using conductimetric detection. *Analytical Chemistry*, Vol. 47, pp. 1801-1809

Stainton, M. P., 1974. Simple Efficient reduction column for use in automated determination of nitrate in water. *Analytical Chemistry*, Vol.46, pp. 1616

Strickland, J. T. H., Parsons, T. R., 1972. *A practical handbook of sea water analysis*. 2<sup>nd</sup>, Canadian Museum of Nature, Ottawa, pp. 71-76

Wood, E. D., Armstrong, F. A. J., Richards, F. A., 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, Vol. 47, pp. 23-31

江承濂, 2003. 鎘銅還原法測定水中硝酸鹽實驗條件優化暨無載流自動分析儀之設計. 國立台灣大學理學院海洋研究所碩士論文

施英隆, 2000. 環境化學. 3<sup>rd</sup>, 五南圖書出版股份有限公司, 台北, pp.570

謝志強, 2007. 自助式無觸硝酸鹽分析儀之研究. 國立台灣大學理學院海洋研究所  
碩士論文

