

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

海洋次表層含氮無機營養鹽與生物密集層間關係之研究 II

Preparation of NSC Project Reports

計畫編號：NSC 89-2611-M-002-034

執行期限：89 年 8 月 1 日至 90 年 7 月 31 日

主持人：白書禎 台灣大學海洋研究所

一、中文摘要

本研究發展一種可測海水中超微量 (<1 μM) 氮氮的靛藍光度法，並應用於研究船上觀測海洋次表層的氮氮濃度。此法經實驗室測試可偵測 0.02 μM 的氮氮。在南海航次中現場測定，發現水下 60 公尺處有一氮氮之信號，但濃度不超過 0.1 μM。

關鍵詞：氮氮、生物密集層

Abstract

A low-level indophenol blue method has been developed for the determination of ammonia in the sub-surface layer in open ocean. Laboratory test showed that the method is capable of measuring ammonia at 0.02 μM level. On-board measurement indicated that a small maximum signal of less than 0.1 μM ammonia was observed at ca. 60 m in the South China Sea.

Keywords: Ammonia, sub-surface layer

二、緣由與目的

氮氮是海洋氮循環中相當重要的一環。科學家過去推斷海洋的次表層生物作用最密集的區域，氮氮、亞硝酸鹽、硝酸鹽三者的濃度與生物生長的關係密不可分。但是遍查文獻，大多只有亞硝酸鹽與硝酸鹽的數據，氮氮很少被報導。推其原因，基本上有下列困難：(1)測氮的分析技術上本來就很困難；(2)濃度真的很低；(3)可能因為生物吸收氮氮的速率太快，即使有氮氮其半生期太短；(4)濃度變化太快，採樣後樣本無法儲存。有鑑於此，欲確認海洋中次表層是否有氮氮存在，首先要建立一套偵測低濃度氮氮的方法；同時為避免儲樣問題，樣水採得後必須立刻在海上

進行測定。

本研究(第一年計畫)已建立了一套專用來測海水中氮氮的靛藍光度法(indophenol blue colorimetry)，可進一步採用長光徑提高其靈敏度。使其適用濃度範圍在 0-0.5 μM N-NH₃之間(文獻 1)。改進後之可行性則利用海研一、三號航次在南海實際測試驗證之。

三、材料與方法

實驗用水：因空氣所含之氣態氮足以造成嚴重污染，實驗室用水均經特殊處理。原水為自來水(導電度約 100 μS cm⁻¹)，先經逆滲透處理(reverse osmosis, ROW)降低離子成份使導電度降至 5 μS cm⁻¹，再經兩次蒸餾得到兩次蒸餾水(double-distilled water, DDW)，導電度可降至 1 μS cm⁻¹以下。再經 Milli-Q 離子交換(簡稱 QW)，阻抗為 18.2 MΩ。QW 水基本上必須立即使用，不能儲存於桶中以免空氣中的氮不斷溶入。但在研究船上，實驗室製備之 QW 係裝桶攜帶，在出水龍頭上另裝一隻陽離子交換管柱，所取之水簡稱為 IXW)。

試劑：以下試劑均由 QW 或 IXW 配製，填裝於分注器(dispenser)中。為便於描述分別以代號 R1, R2, R3, R4 及 R5。

R1-phenol reagent (PHL)將 10 克的 phenol 溶於 100ml 的 95% 酒精中。

R2-citrate reagent (CIT)將 50 克的檸檬酸三鈉鹽溶於 100ml 的水中。

R3-hypochlorite reagent(DIC)將 1 克的 DIC 與 3.6 克的氫氧化鈉溶於 100ml 的水中。此試劑必須現場配製。

R4-alkaline reagent (NaOH)將 4 克的氫氧化鈉溶於 100ml 的水中。

R5-nitroprusside(NP) 將 0.5 克的 sodium nitroprusside 溶於 100ml 的水中。

以上試劑中 R1, R5 須保存於褐色瓶中以避免光反應。

反應瓶：容積為 50ml 之窄孔有蓋玻璃瓶。

分光光度計：採用 Shimadzu 160-A 雙光束分光光度計，光槽為十公分。光槽一旦固定後不再移動，換樣時以針筒抽取或注入。

酸鹼度計：採用 Radiometer Precision PH-85 pH meter，以 pH=7 及 10 之標準緩衝溶液校正。

操作步驟：樣水以量筒取 25ml 置於有蓋玻璃瓶中，立即依序注入五種試劑各(利用 dispenser 噴嘴注入瞬間混合)。最後體積為 30ml。如為淡水則 R4 不必加則最後體積為 29ml。加藥完成關蓋靜置一小時。以針筒取樣少許約 1-2 ml，注入光槽中，以幫浦吸除，重複三次，最後注入約 10 ml 水樣(保持可測液高度約 2.5 公分)。在 640nm 波長記錄吸光值。測量完畢後，以 pH meter 確認剩下水樣之 pH 在 10.4-10.6 之間。如 pH 不在此範圍則吸光值不予採信。

四、結果與討論

1. 檢量線

本文所採用方法的檢量線在標準蒸餾水測試的 0-0.5 μ M 範圍內均為線性，最大可測上限約 3 μ M(Table 1)。莫耳吸光係數約 $2.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。精密度在 0.1 μ M 時(RSD%)約 2%，在 0.5 μ M 時(RSD%)約在 0.5%。以此計算，本法的解析能力(相對於分光光度計之最小讀值 0.001)約為 0.005 μ M 或 5nM(操作之誤差不計)。

2. 空白測試

測微量氮最大的障礙在於試劑空白的穩定性。一般操作而言，以新鮮製成的 Milli-Q 水(QW)為最低，空白值約 0.042-0.044 之間，有正負 0.001 的不確定

值(Table 2)。相對於 QW，蒸餾水(DDW)的空白值達 0.051，自來水的測值達 0.114。顯示實驗室中有許多氮的污染源，包括空氣與水。因此，在船上操作時有必要取一個最低污染的背景。在 Table 3 中此一現場 IXW 的空白值為 0.041 ± 0.0009 ，尚稱滿意。因此全操作的偵測下限(detection limit)應在 0.02 μ M 左右。

3. 海上測試

本法在海研一號 639 航次中進行測試。測點為國科會海科中心指定之長期觀測參考站-南海 KK1 站。測定分兩梯次進行，Cast A 為白天採樣，Cast B 為晚上採樣。採樣深度為表水 5m 向下至 150m。水樣取得後立即處理、在一小時內完成測定。

原始數據及計算之氮濃度見 Table 3，垂直分佈圖見 Fig. 1。由表列三次重複數據可研判整個實驗之穩定度，可確定在 60 公尺深度有一氮之訊號。此深度正在海洋次表層生物最密層之下方，也是亞硝酸鹽剖面之最大值所在。因此可確認本研究的方法為可行，所得到的南海氮剖面也為首次記錄。

五、結論

本研究利用改進之靛藍光度法在海上直接進行測試，證實了在南海 50-80 公尺之間的生物密集層中，3 種含氮無機營養鹽之分佈有密切的關係。在過去文獻中只知道此處亞硝酸鹽的最大值，也為硝酸鹽向下漸增之開始，但很少人能了解氮在此層的分佈，本實驗確實找到了氮存在的證據，但是其生物利用轉換率太快，以致於可測到的濃度最高僅 0.1 μ M。

六、參考文獻

- [1] S.C. Pai, Y.J. Tsau, T.I. Yang, pH and buffering capacity problems involved in the determination of ammonia in saline water using the indophenol blue spectrophotometric method, Anal. Chim. Acta, 434 (2001) 209-216.

Table 1 Laboratory test for the calibration in QW

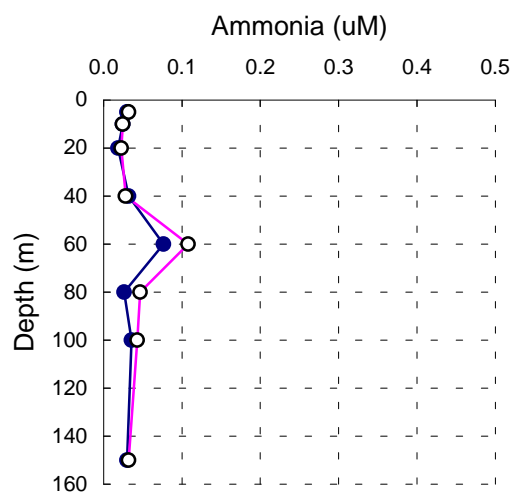
Sample	Abs	±	sd	n	Conc(uM)
QW	0.042	±	0.0010	7	-
QW+0.1 uM	0.065	±	0.0017	7	0.12
QW+0.2 uM	0.079	±	0.0018	7	0.20
QW+0.3 uM	0.104	±	0.0010	7	0.33
QW+0.4 uM	0.125	±	0.0012	7	0.45
QW+0.5 uM	0.141	±	0.0007	7	0.53

Table 2 Laboratory test for DDW, tap and lake water

Sample	Abs	±	sd	n	Conc(uM)
QW	0.043	±	0.0011	7	-
QW+0.1uM	0.064	±	0.0021	7	0.12
QW+0.5uM	0.142	±	0.0016	7	0.55
DDW	0.051	±	0.0010	7	0.04
Tap water	0.114	±	0.0034	7	0.39
Lake water	0.055	±	0.0021	7	0.07

Table 3 On-board measurement for ammonia

Sample	Abs	±	sd	n	Conc(uM)
<i>Calibration</i>					
IXW bk	0.041	±	0.0009	5	0.00
IXW+0.2uM	0.078	±	0.0012	5	0.20
IXW+0.4uM	0.116	±	0.0009	5	0.40
<i>Cast A, South China Sea</i>					
5 m	0.046	±	0.0006	3	0.03
10 m	0.045	±	0.0006	3	0.02
20 m	0.044	±	0.0012	3	0.02
40 m	0.047	±	0.0012	3	0.03
60 m	0.055	±	0.0006	3	0.08
80 m	0.046	±	0.0012	3	0.03
100 m	0.047	±	0.0015	3	0.03
150 m	0.046	±	0.0006	3	0.03
<i>Cast B, South China Sea</i>					
5 m	0.047	±	0.0021	3	0.03
10 m	0.045	±	0.0015	3	0.02
20 m	0.045	±	0.0000	3	0.02
40 m	0.046	±	0.0017	3	0.03
60 m	0.060	±	0.0006	3	0.11
80 m	0.049	±	0.0032	3	0.04
100 m	0.049	±	0.0038	3	0.04
150 m	0.047	±	0.0006	3	0.03



圖一 南海 KK1 站(ORI-639)氨之垂直分佈圖。同一測站兩次測定，實心圓為白天採樣，空心圓為晚上採樣。

