

水產乾製品氨(NH₃)含量及其測定方法之比較

陳再發·薛月娥

Determination of Ammonia (NH₃) of Dried Fish Products by Modified Micro-Diffusion and Colorimetric Method

Tsai-Fa Chen and Yueh-Er Shiue

The ammonia (NH₃) content of dried fish products tested by combination of micro-Diffusion and colorimetric method was better than by distillation method and ammonia electrode method. The Standard deviation of Micro-Diffusion and Colorimetric method was less than 2mg% in all samples and the recovery close to 100%. Owing to the strong alkalinity and heating, the analytical value of Distillation and Electrode Methods were higher than that of Micro-Diffusion and Colorimetric Method.

There were no reaction of Nessler's reagent to TMA, and DMA, therefore, the ammonia content analyzed with micro-Diffusion and colorimetric method was not affected by the volatile amines. The relationship between volatile basic nitrogen (Y) and ammonia content (X) in the dried fish products can be expressed as $Y = 0.7564x + 8.4276$ with the coefficient $r = 0.9801$.

The ammonia content was low when the VBN was high. Not only because volatile amines (TMA, DMA, etc) increased after the product getting deterioration but different approach of titration and spectrography.

Micro-Diffusion and colorimetric method can examine ammonia content accurately and quickly as an index of freshness of dried fish products.

前 言

水產乾製品為簡易之水產加工品，一般缺乏良好之加工及包裝設備，在貯存中常會發生鮮度降低、腐敗、微生物生見及油脂氧化、酸敗等現象，而致品質下降。為改進其加工技術、控制產品品質，必須利用簡易又迅速之測定方法來判定其鮮度變化。有關水產乾製品鮮度品質之化學測定方法很多，常用的有揮發性鹽基態氮(VBN)、氨(NH₃、-N)、三甲基胺(TMA)、組織胺(histamine)及酸鹼度(PH)等方法。VBN之測定法一般利用微量擴散法⁽¹⁾，TMA之定量法⁽²⁾有橋本之Picrate一改良法、微量擴散法、GC法及微量擴散比色法⁽³⁾。Histamine則常利用離子交換樹脂法⁽⁴⁾。

氨 ($\text{NH}_3 - \text{N}$) 之測定法有蒸餾法、氨電極法、GC 法及比色法等，鑑於 VBN、TMA 等利用微量擴散法、微量擴散比色併用法有良好之結果，本文就氨微量擴散後，加 Nessler's reagent 比色定量，探討本法之精確性，並與常用之蒸餾法、氨電極法比較。藉以尋找出水產食品氨 ($\text{NH}_3 - \text{N}$) 簡易、迅速又精確之測定方法。

材料與方法

一材料：塩魚乾爲圓鱈 (*Round herring*) 之鹽煮乾製品

丁香乾爲灰海荷鰻 (*Silver anchovy*) 之鹽煮乾製品

鹹小管爲尖仔 (*Doryteuthis sibogae*) 之鹽煮品

香魚片爲鯖河豚之調味乾製品

二方法：

(一) 供試液調製：取細碎試料 10g 加水 80ml，均質後放置 10 分鐘，加 20% PCA 10ml 沉澱蛋白質，取遠心分離 (6000 rpm 10 分鐘) 之上澄液爲供試液。

(二) 微量擴散比色併用法：Nessler's reagent⁽⁶⁾—取 55g 之 HgI_2 及 41.25g 之 KI 溶于 250 ml 水中，另取 144g 之 NaOH 溶於水中，冷卻後攪拌加入上液中，然後加水至 1 l 於褐色瓶中保存。

取 1 ml 之供試液入擴散皿外室，1 ml 之 0.1 NH_4SO_4 入內室 (內室中先放入直徑 32 mm、高 7 mm 之小玻璃皿)⁽³⁾，再加 1 ml 之 K_2CO_3 分解劑入外室，密閉擴散皿，37°C 下 120 分鐘。擴散完成後取出內室之小玻璃皿，將其液體洗入 50 ml 之定容瓶中，加 2 ml 之 Nessler's reagent，加水至標綫處。30 分鐘後在 430 nm 下測吸光值。另取 (NH_4)₂ SO_4 標準溶液 (0.1 mg $\text{NH}_3 - \text{N}/\text{ml}$) 稀釋成 0, 0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 mg/ml 不同濃度之溶液，依上述方法行微量擴散比色，做出標準曲線。

$$\text{NH}_3 - \text{N} (\text{mg} \%) = A \times 50 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{0.1} \%$$

A—爲試液吸光值相對標準曲綫之濃度值 (mg/L)

(三) 水蒸氣蒸餾比色法⁽⁶⁾⁽⁷⁾：取 10 倍供試稀釋液 2 ml，入微量蒸餾裝置 (Micro Distillation Apparatus)，加 5 ml H_2O 洗淨，再加 10 ml 之 NaOH ，另以 10 ml 之 0.1 NH_4SO_4 置於冷凝管下端吹收，蒸餾 15—20 分鐘，將蒸餾液入 50 ml 之定容瓶中，加 2 ml 之 Nessler's reagent，30 分鐘後在 430 nm 下測吸光值。另取 NH_4^+ 標準液 (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 ml 入 50 ml 之定容瓶中，加水至 30 ml，加 2 ml 之 Nessler's reagent，加水至標綫處，30 分鐘後在 430 nm 下測吸光值。以吸光值對濃度做成標準曲線。

$$\text{NH}_3 - \text{N} (\text{mg} \%) = A \times 10 \times \frac{50}{2} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{0.1} \%$$

A：爲試液吸光值相對標準曲綫之濃度值 (mg/L)。

(四) Ammonia 電極測定法⁽⁸⁾⁽⁹⁾：供試液 A 之調製如上述(一)之方法即 PCA 抽出液，供試液 B 之調製法爲取細碎試料 10g 加水 90 ml，均質後放置 10 分鐘，離心 (6000 rpm 10 分鐘) 取上澄液 50 ml 爲供試液，即水溶液。

將氨電極 (Ammonia electrode 95-12) 連接於離子分析儀 (Orion 901 型) 上，測定時先校正儀器後，將電極分別放入供試中 PCA 抽出液 (A) 加 2 ml 之 10M NaOH 及水溶液 (B) 加入 1 ml 之 10M NaOH ，使 PH 保持在 12 左右，於儀器上讀出濃度值。

表 1 不同分析方法測定水產乾製品氨 (NH₃) 含量之比較
 Table 1 Comparison of the various analytical methods of ammonia contents in dried fish products.

種 類	微量擴散比色法 Micro-diffusion and		蒸餾比色法		氨 電 極 法		製 品 貯 藏 條 件 Preservation condition of products	
	Colorimetric Method		Distillation Method		Ammonia Electrode Method			
	樣品數 No	量 含 量 NH, mg %	樣品數 No	量 含 量 NH, mg %	樣品數 No	量 含 量 NH, mg %		
丁香乾 Sliver anchovy	10	28.15 ± 1.28	6	137.42 ± 31.41	2	25.2	56.7	Frozen at, -10°C, 3 days
丁香乾 Sliver anchovy	10	43.65 ± 1.49	6	154.28 ± 21.18	2	81.9	170.1	Room temperature
鱈 魚 Round herring	10	62.57 ± 1.11	6	219.33 ± 28.46	2	132.2	170.1	Room temperature
鱈 魚 Round herring	10	61.57 ± 1.85	6	233.25 ± 30.24	2	132.3	157.5	Room temperature
小管內臟粉 Squid	10	68.24 ± 1.40	6	218.58 ± 19.11	2	359.1	346.5	Frozen, -10°C, 3 Months
小 管 干 Squid	10	49.92 ± 1.62	6	167.12 ± 23.16	2	283.5	188.0	Frozen, -10°C, 3 Months
鹹 小 管 Salted squid	10	58.43 ± 1.90	6	202.73 ± 30.22	2	270.9	277.2	Room temperature
鹹 小 管 Salted squid	10	43.73 ± 1.58	6	128.10 ± 20.68	2	94.5	132.9	Frozen, -5°C, 6 Months
鹹 小 管 Salted squid	10	43.75 ± 1.53	6	127.43 ± 25.60	2	296.1	330.4	Frozen, -5°C, 6 Months

$$\text{NH}_3\text{-N (mg \%)} = M \times \frac{90 \times 14}{10} \times 100 \%$$

M: 測得之濃度 (mole / L)

(五)揮發性鹽基態氮 (VBN) ⁽¹⁾—依微量擴散滴定法測定之。

結果與討論

三種不同氮測定法之比較

由表 1 測定結果, 可明顯的看出水產乾製品之氮含量, 因測定方法不同, 其 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量有相當顯著之區別。微量擴散比色法對於同一試料之多次測定值間之差異值較少, 氮電極次之, 蒸餾比色法之差異值最大。以微量擴散比色法測定九個不同試料, 每個試料分析 10 次, 每個試料測定值之標準誤差 (Standard deviation) 小於 $\pm 2 \text{ mg \%}$, 而蒸餾比色法之標準誤差却高達 $\pm 30 \text{ mg \%}$ 。

蒸餾比色法及氮電極法之 $\text{NH}_3\text{-N}$ 測定值比微量比色法之測定值高出甚多。由於蒸餾比色法為 100°C 溫度加熱蒸餾, 供試料中所含之蛋白質、氨基酸、核苷酸等物質可能因強鹼 (NaOH) 之分解作用產生 NH_3 , 而致此法之分析值偏高。另氮電極法亦可能因測定過程中加 10M NaOH, 產生分解物 NH_3 , 而致測定值偏高, 或者因其他因素影響尚不得而知。R.M.STO 及 REY 等魚肉揮發性胺類迅速測定法之報告¹⁰中曾提及強鹼、蒸餾等強烈作用會使含氮化合物分解致使揮發性胺之分析值偏高。

三種分析法之回收率 (Recovery) 如表 2 所示。以微量擴散比色法之回收率最接近 100%, 蒸餾比色法之回收率略低, 原因可能為蒸餾過程中 NH_3 逸失之故。另氮電極之回收率却偏高, 但氮電極測定標準溶液時 (如表 3), 發現氮電極在測定高濃度時, 其測定值比計算值略高, 而在低濃度時則沒有差別, 整體來說氮電極對標準液之反應仍相當理想。

納氏反應劑 (Nessler's reagent) 對 NH_4^+ 之發色範圍為 $0.1 - 2.0 \text{ mg / L NH}_4^+\text{-N}$ 。標準曲線如圖 1 及圖 2 所示直線性相當良好。微量擴散比色與一般標準比色間並沒有什麼差異。Nessler's reagent 需以良質褐色瓶保存, 以避免 HgI_2 氧化沈澱, 放置冰箱中保存可達數個月以上。

三種不同測定方法之可信賴性, 可另由試料 3 保存條件與官能檢定來區別。試料 1 之丁香乾為剛製造好短期凍藏之原料, 官能上色澤, 鮮度最佳, 以微量擴散比色法測定 NH_3 含量亦最低。試料 2、3、7 為在室溫保存之原料, 鮮度較差。所以 NH_3 量較高。即微量擴散比色法與保存條件、官能判定之結果較一致。蒸餾比色法及氮電極法因本身測定方法之缺失, 與上述之條件並不符合。

Robert F. Thomas 利用氮電極法測定水與海水中氮含量之報告¹¹中指出氮電極法與 Indophenol blue 法之測定值兩者誤差大都在 $\pm 10 \%$ 以內, 並測出回收率, 氮電極為 91 ~ 96%, 而 Indophenol blue 法為 93 ~ 94%, Jan Barica 在魚槽中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量之報告¹²中指出利用氮電極及 Phenol hypochlorite 法兩者之絕對誤差值為 $\pm 8.3 \%$, 誤差值亦相當可觀, 另 Thomas R. Gilbert¹³利用氮電極測定水族箱及海水中氮含量之報告中亦發現氮電極法與 Phenol hypochlorite 法有相當程度之誤差。以上三位學者之氮電極法分析結果比本文之測定值佳。可能為他們所採取之試料液為較單純之海水或魚槽水而非本試驗之蛋白質均質液。孫等⁽⁹⁾研究鹽乾蝦的品質同樣的以蛋白質均質液却得到良好之結果。此與本文有所不同。

利用微量擴散比色法測定水產品氮含量之報告不多。中村邦典等於真鮭乾製品貯藏中成份變化之報告¹⁴中。其 NH_3 含量利用微量擴散及 Nessler 比色併用法。測定 NH_3 含量在 20 - 50 mg

表2 三種不同氮含量分析法之回收率
Table 2 The recovery of $\text{NH}_3\text{-N}$ for various analytical methods.

分析方法 Methods	標準液濃度 mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$ Concentration of standard soln	標準液+供試液濃度mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$ Concentration of Std Soln + Sample soln	回收率 % Recovery
微量擴散比色法 Micro-diffusion and Colorimetric method	0	0.134	
	0.2	0.305	85.5
	0.4	0.548	103.5
	0.8	0.971	104.6
	1.2	1.368	102.8
	1.6	1.802	104.2
蒸餾比色法 Distillation method	0	0.442	
	0.2	0.605	81.5
	0.4	0.794	88.0
	0.8	1.192	93.75
	1.2	1.553	92.58
	1.6	2.246	112.8
氨電極法 Ammonia electrode method	0 Mole/L	0.002 Mole/L	
	0.0025	0.004	80
	0.005	0.007	100
	0.010	0.013	110
	0.020	0.025	115

%，與本文之測定值相似。但其在文中並未詳述其步驟，在擴散終了後究竟為抽取內室液，或者如本試驗先置小玻璃皿，擴散終了後整個取出比色定重，則不得而知。日本衛生檢驗法則⁹⁵中氮含量之測定係採用微量擴散後抽出內室液 0.1ml，再以 Indophenol 發色，步驟較為繁雜。本文之微量擴散比色法為模仿中村邦典等在另文 TMAO 簡易測定法中所示在擴散皿內室中置小玻璃皿，擴散終了後，取出小玻璃皿，取全量內室液再 Nessler's reagent 比色定量。方法相當簡便，所加之反應劑僅有 Nessler's reagent 一種，可簡易、精確的測定水產品氮含量。

水產乾製品氮 (NH_3) 含量與揮發性鹽基態氮 (VBN) 之關係

揮發性鹽基態氮 (Volatile basir Nitrogen)，許久以來即被廣泛的採用為水產品鮮度檢驗法。含有氮 (NH_3)、三甲胺 (TMA)、二甲胺 (DMA)、吲哚 (judol) 及其他低分子

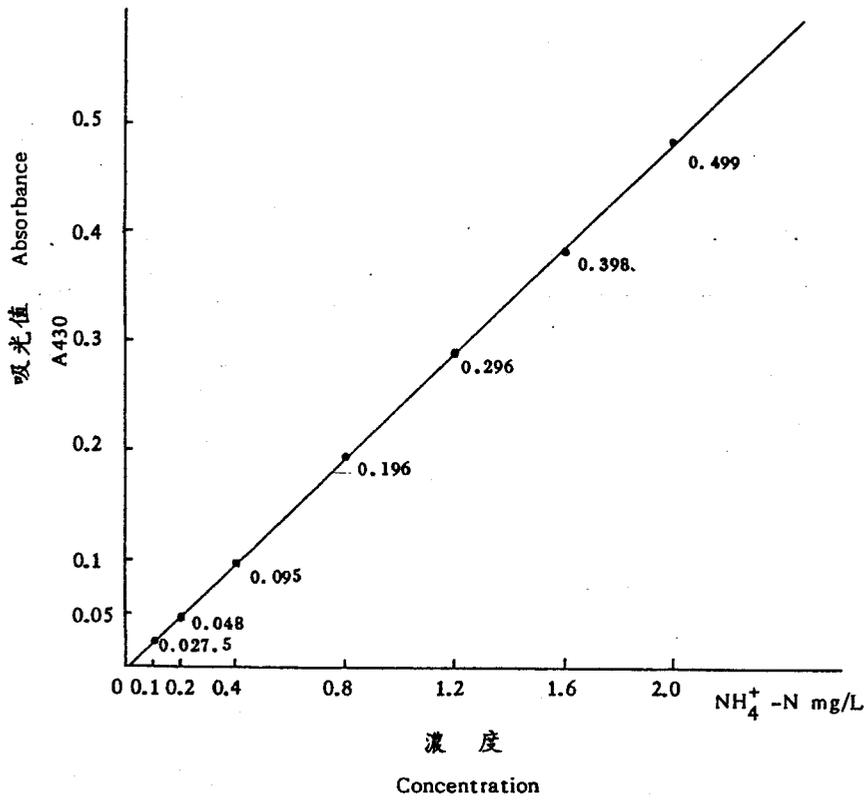


圖 1 微量擴散比色法NH₄⁺-N之標準曲線

Fig. 1 Ammonium standard curve of micro-diffusion and colorimetric method at 430 nm.

表 3 Ammonia 電極對標準溶液之測定值

Table 3 The analytical value of standard solution by ammonia electrode method.

No	標準溶液 Std Soln 0.1 M	蒸 餾 水 distilled water	計 算 濃 度 Concentration calculated	測 定 濃 度 Concentration measured with Ammonia electrode
1	0ml	100	0 M	0 M
2	5ml	95	0.005 M	0.005 M
3	10ml	90	0.010 M	0.010 M
4	20ml	80	0.020 M	0.021 M
5	40ml	60	0.040 M	0.042 M
6	80ml	20	0.080 M	0.085 M
7	100ml	0	0.100 M	0.105 M

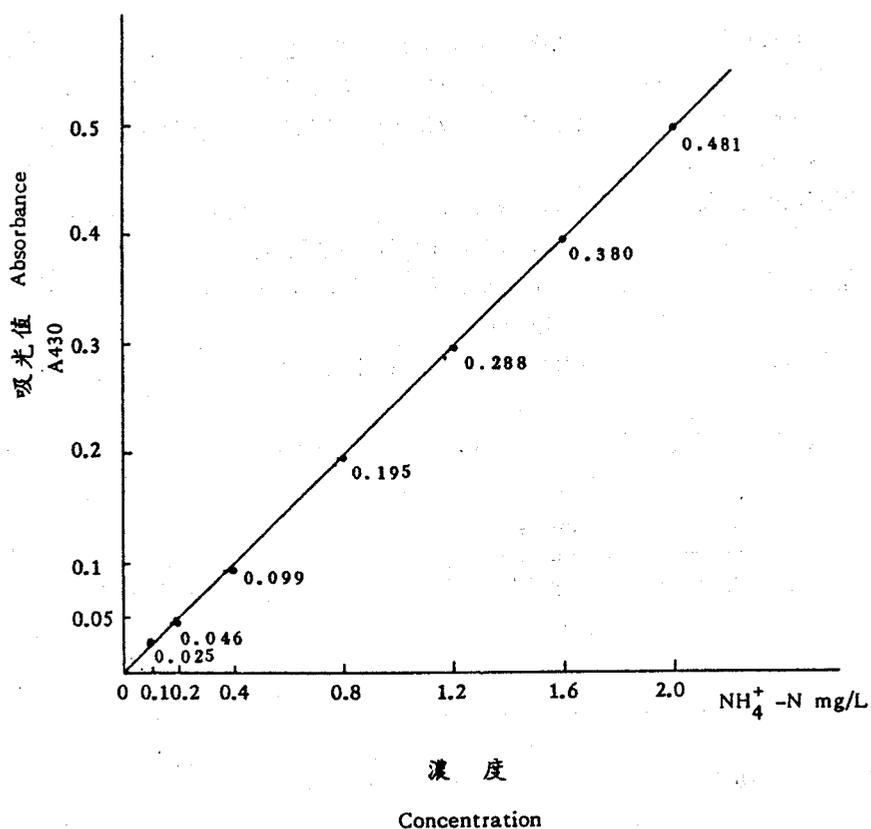


圖 2 蒸餾比色法 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 之標準曲線 430 nm

Fig. 2 Ammonium standard curve of distillation method at 430 nm.

表 4 三甲胺及二甲胺與納氏反應劑作用 430 nm 下之吸光值

Table 4 Absorbance of TMA and DMA at 430 nm after incubation with Nessler's reagent.

種類	濃度	吸光值	種類	濃度	吸光值
Sample	mg/ml	Absorbance	Sample	mg/ml	Absorbance
Sample	Concentration	Absorbance	Sample	Concentration	Absorbance
三甲胺	0	0.044	二甲胺	0	0.027
	0.5	0.028		0.5	0.031
TMA	1	0.026	DMA	1	0.035
	2	0.050		2	0.041
	4	0.058		4	0.022
	6	0.031		6	0.021
	8	0.016		8	0.010
	10	0.017		10	0.010

揮發性胺類 (Volatile amines) 等物質。氨 (NH_3) 在魚死後可由許多途徑產生，為腐敗初期時揮發性鹽基態氮中之最主要物質，另外氧化三甲胺 (TMAO) 為水產物抽出物 (extracts) 中之一重要物質。氧化三甲胺會因細碎之腐敗作用產生 TMA，或低溫保存時自身酵素分解作用產生 DMA 及甲醛 (FA)。

以微量擴散比色法測定水產品氨含量時，TMA、DMA 等物質，雖然亦會擴散至內室中，但如表 4 所示，Nessler's reagent 與 TMA、DMA 兩者並不會發生作用。不同濃度之 TMA 及 DMA 之標準溶液加發色劑，在吸光度上並沒有差異。即以 Nessler's 比色定量值為真正氨 (NH_3) 濃度值，不受其他揮發性胺類之影響。

水產乾製品其揮發性鹽基態氮 (VBN) 與氨 (NH_3) 含量間之相關性，可由表 5，40 個

表 5 水產乾製品揮發性鹽基態氮 (VBN) 及氨 (NH_3) 含量
Table 5 The Content of Volatile Basic Nitrogen and Ammonia in Dried Fish Products

種 類	揮發性鹽基態氮 mg %	氨 含 量 mg %	種 類	揮發性鹽基態氮 mg %	氨 含 量 mg %
Sample	V. B. N.	NH_3	Sample	V. B. N.	NH_3
丁香乾	22.23	28.5	丁香乾	17.36	21.0
Sliver anchovy	20.51	27.5	Sliver anchovy	16.24	20.5
丁香乾	23.81	30.0	丁香乾	26.32	29.0
Sliver anchovy	23.42	25.5	Sliver anchovy	26.18	28.5
丁香乾	47.08	43.5	丁香乾	23.24	28.15
Sliver anchovy	48.16	44.5	Sliver anchovy	22.40	28.0
鹹小管	45.51	41.0	丁香乾	28.84	31.0
Salted squid	44.45	40.5	Sliver anchovy	29.68	33.9
鹹小管	63.50	55.0	鹹小管	48.72	44.0
Salted squid	60.86	49.5	Salted squid	42.56	36.4
鹹小管	42.34	40.5	鹹小管	42.56	36.25
Salted squid	40.51	41.0	Salted squid	49.84	45.0
小管內臟粉	79.12	68.0	香魚片	11.20	16.4
Squid waste	79.12	69.5	Dried sabafuku	10.64	16.4
魚 鬆	22.76	20.5	香魚片	48.86	45.5
Fish bit	22.49	21.0	Dried sabafuku	48.30	44.8
魚 鬆	31.47	27.5	香魚片	17.64	21.4
Fish bit	31.75	29.0	Dried sabafuku	16.52	20.8
蝦 米	69.06	66.0	魚 鬆	25.76	31.7
Dried shrimp	70.38	67.14	Fish bit	24.64	31.7

不同樣品間兩者之關係找出。圖 3 為以 VBN (Y), NH_3 (X) 作直綫相關, 兩者可以表示為 $Y = 0.7564x + 8.4276$

相關係數 $r = 0.9801$

由表 5 及圖 3 明顯的看出, VBN 數值低時 (小於 30 mg %) NH_3 -N 比 VBN 高, 而 VBN 高時 (大於 40 mg %) NH_3 -N 比 VBN 值為低。此結果雖然與上述鮮度佳時揮發性鹽基態氮以 NH_3 為主, 鮮度差時 NH_3 所佔之比率減少之上述理由相等。但 NH_3 測定值比 VBN 值為高之原因令人懷疑? 二者之計算方式不同, VBN 為中和滴定法, 而 NH_3 為標準溶液比色法, 可能會有誤差存在。

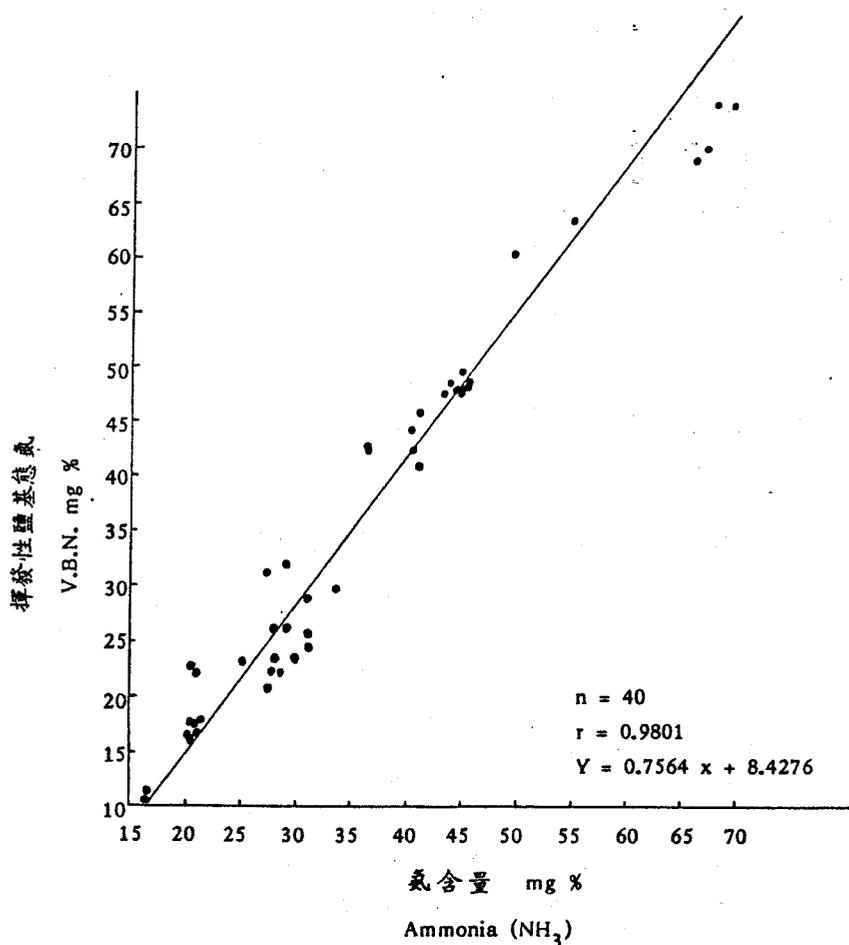


圖 3 水產乾製品揮發性鹽基態氮與氨含量之相關性

Fig. 3 The relationship of volatile basic nitrogen and ammonia content in dried fish products.

由表 6, 淡鹽小管 (水份 75 % 鹽份 2.50 %) , 在冰藏時 VBN 與 NH_3 因貯存期間之延長而增加, 同樣的冰藏初期 NH_3 含量較高, 鮮度不佳時 VBN 值大增。但可以發現 NH_3 與 VBN 相同, 為一鮮度判定之良好指標。

綜合上述結果, 微量擴散比色法, 精確性高, 操作簡便, 沒有微量擴散滴定法在終點顏色判

表6 淡鹽小管在冰藏中VBN與NH₃之變化情形
 Table 6 The changes of VBN and NH₃ of dry squid during ice storage.

冰藏日數 Ice storage days	揮發性鹽基態氮 mg % V.B.N	氮含量 mg % NH ₃	冰藏日數 Ice storage days	揮發性鹽基態氮 mg % V.B.N	氮含量 mg % NH ₃
0	6.16	7.8	0	6.72	8.2
1	6.72	9.1	2	8.40	12.6
3	9.52	13.2	4	13.44	14.5
5	10.08	14.5	6	16.80	16.0
7	20.16	25.2	8	20.72	22.4
9	26.32	31.6	10	26.32	28.5
11	39.2	36.4	12	34.16	30.6
13	43.46	33.8	14	43.12	33.8
15	45.36	37.2	16	45.92	40.2

定之困難點。又與VBN值間有明顯之相關性，值得採用為水產品鮮度判定法。

摘 要

以微量擴散比色法、蒸餾比色法及氨電極法三種不同方法測定水產乾製品氮(NH₃)含量，結果發現微量擴散比色法，對不同試料測定值之標準誤差在±2 mg %以下。蒸餾比色法及氨電極法結果不佳，測定值偏高且標準誤差極大。微量擴散比色法之回收率(Recovery)比其他兩者為佳，TMA及DMA對Nessler's reagent發色之影響極少，即測定NH₃不受TMA、DMA之影響。

水產乾製品之揮發性鹽基態氮(VBN)，Y表示，與氮(NH₃)，X表示。兩者間成綫性關係，可以用 $Y = 0.7564X + 8.4276$ 表示，相關係數 $r = 0.9801$ 。揮發性鹽基態氮濃度低時NH₃含量較高，反之揮發性鹽基態氮含量高時，NH₃含量比揮發性鹽基態氮低。原因可能為兩者計算方式不同與高含量NH₃時產生逸失之故。但此結果與水產品鮮度較佳時其主要之揮發性鹽基態氮為氨，但鮮度較差時，因腐敗作用，產生大量TMA、DMA及其他低分子胺類，致使氮含量在比例上降低之理論相符。

因此以微量擴散比色法測定水產乾製品NH₃含量為一簡便又精確之測定法，可以迅速測知水產乾製品之鮮度狀態為一良好之鮮度品質指標。

謝 辭

本試驗承蒙胡分所長多方鼓勵與指正，分所同仁王惠娟、陳伶俐小姐之幫忙，方得以順利完成

，謹此致謝。

參考文獻

1. 日本食品衛生協會編 (1973). 食品衛生檢查指針 (I) 檢查法則，厚生省環境衛生局鑑修，26 ~ 32.
2. 日本食品工業學會編 (1981). 食品分析法，光琳書局，675 - 681.
3. Kunisuke N. and Shiyezo T. (1980). The Dtection of Fish Meats Added to Ham and Sausage by Determination of the Content of TMAO, *Bull. Tokai, Reg, Fish, Res, Lab*, 103, 93 - 98.
4. 河端俊治等 (1974). 水產生物化學、食品學實驗書，恒星社厚生閣，300 - 305.
5. D.C. Willians (1964). The Colorimetric Determination of Total Nitrogen in Feeding Stnffs, *Analyst*, 89, 276 - 281.
6. R. T. Lovell (1975). Laboratory Manual for Fish Feed Analysis and Fish Nutrition Studies, Auburn University, 6 - 10.
7. 李秀、賴滋漢 (1976). 食品分析與檢驗，精華出版社，161 - 165.
8. 台灣省水產試驗所、台灣省漁業局合編 (1981). 常用漁獲物鮮度測定方法，3 - 4.
9. 孫寶年、蔣文欽 (1979). 市售鹽乾蝦的品質及貯存中的變化，*食品科學*，6，24 - 35.
10. R.M. Storey (1984). Rapid Approximate Estimation of Volatile Amines in Fish. *J of Food Technol.* 19, 1 - 10.
11. Robert F. Thomas (1973). Selective Electrode Measurements of Ammonia in Water and Waste Environmental Science & Technology 7, 523 - 526.
12. Jan Barica (1973). Reliability of on Ammonia Probe for Electrometric Determination of Total Ammonia Nitrogen in Fish Tanks, *J. Fish. Res Board. Can.* 30, 1389 - 1392.
13. Thomas R. Gilbert (1973). Determination of Ammonia in Aquaria in sea Water Using the Ammonia Electrode Analytical chemistry, 45, 1757 - 1759.
14. Kunisuke N. and Senji. Ishikawa (1980). Change of chemical component contents in different portions during storage, *Bull, Tokai, Reg, Fish, Res, Lab. No.* 102.
15. 日本藥物衛生試驗法則 (1976). 食品成份試驗法，163 - 165.