

凱氏氮之消化與流動注入分析法—類靛酚法

中華民國 89 年 11 月 30 日(89)環署檢字第 71165 號公告

自中華民國 90 年 3 月 2 日起實施

NIEA W438.50C

一、方法概要

將水樣置於塊狀消化裝置 (Block digester) 中，以硫酸及硫酸銅 (催化劑) 之混合液消化。樣品中源自生物之含氮物質，如胺基酸、蛋白質與胜肽 (peptides) 可被轉化為硫酸銨，將已消化之含銨水樣注入含磷酸二鈉鹽鹼性緩衝溶液之流動注入分析 (Flow injection analysis, FIA) 系統之設備組裝架構中，此線上中和系統將銨離子 (NH_4^+) 全部轉化成氨 (NH_3)，同時防止未耗盡之硫酸影響其後對 pH 值敏感之發色反應效果。生成之氨和水楊酸鹽 (Salicylate) 以及次氯酸鹽 (Hypochlorite) 共熱後產生藍色化合物，此藍色強度與氨濃度成正比並於加入亞硝醯鐵氰化鈉 (Nitroprusside) 後會更加強烈，此藍色物質於 660 nm 波長量測其波峰吸光值並定量水樣中之凱氏氮濃度。

二、適用範圍

本方法適用於飲用水、地面水、地下水及廢 (污) 水之水樣。但是消化裝置無法將某些工業廢棄物中之胺類 (amines)，如硝基化合物 (nitro-compounds)、三氮 (胛類) 化合物 (hydrazones)、縮胺基尿 (semicarbazones) 及硝酸根離子 (nitrate) 等轉化成氨。FIA 系統中如使用 130 μL 樣品環 (Sample loop)，其方法偵測極限 (MDL) 為 0.034 mg N / L。

三、干擾

(一) 最主要之干擾來源為空氣中之氨。在試藥、試劑用水、玻璃器皿以及樣品之保存程序中，應確保能免除氨之污染，尤其是在消化過程中防止氨之污染更屬重要。打開硫酸試藥瓶時應遠離曾使用過氨或氯化銨為試劑之實驗室，同時硫酸之儲存處也應遠離這些藥劑。在消化過程中要確認消化裝置之開口端不會受到來自排氣櫃入補空氣中氨之污染。

(二) 樣品中硝酸鹽氮含量若超過 10 mg / L 時，會造成正干擾。

- (三) 本方法中添加消化試劑之目的是將消化溫度提升至 375 ~ 385 °C 左右。但若樣品中含有大量的溶解性鹽類或無機固體時，則在消化過程中溫度可能會提升至 400 °C 以上，導致氮化物在此高溫下熱解生成氮氣，而造成逸失。為了避免消化溫度過高，可加更多的 H₂SO₄ 以保持酸-鹽平衡。雖然並非所有鹽類造成之溫度上升情況相同，但每克鹽加入 1 mL H₂SO₄ 可得到較合理結果。除了加過量的酸於樣品外，亦須加於試劑空白中。過多的酸將造成消化溫度低於 360 °C，導致不完全的消化及低回收率。
- (四) 在消化過程中，硫酸會將有機物氧化成二氧化碳及水。樣品中若含有大量有機物，則會消耗大量的酸，導致鹽類對酸的比例增加，造成消化溫度上升。如果有機物質過量，溫度將超過 400 °C，造成 N₂ 之熱分解漏失。在消化過程中，若樣品消耗超過 10 % 之硫酸，則對 pH 值敏感之發色效果會表現出基質效應。發色反應之緩衝溶液對於已稀釋之消化樣品可以容忍消耗 5.4 ± 0.4 % (v / v) 範圍之硫酸。樣品基質中含有高濃度的碳水化合物或其他有機物質，在消化時可能會消耗 10 % 以上之硫酸。當有此疑慮時，應用標準濃度之氫氧化鈉來滴定已消化水樣，以確認在消化過程中是否消耗超過 10 % 以上之硫酸。消化裝置之設計也應考慮到在消化期間防止硫酸從消化管口逸出。
- (五) 水樣中較大及纖維性之粒子會造成干擾，可使用玻璃棉濾除之。
- (六) 緩衝溶液中之乙二胺四乙酸二鈉鹽
(Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, EDTA)
可防止鈣及鎂離子之鹼性沉澱。

四、設備

(一) 消化

1. 消化裝置：凱氏氮消化設備可參照表一使用容量為 20 ~ 100 mL 之凱氏燒瓶並具有加熱單元以及煙氣出口之負壓排除。加熱單元可提供 375 ~ 385 °C 範圍之有效消化需求。消化管能迴流加熱至 380 °C 並持續 2 小時，且具有防氨氣污染與防止硫酸逸失裝置。
2. 天平：可精稱至 0.1 mg。

3. pH 計：附有溫度補償裝置。

(二) 流動注入分析系統之設備包含下列各樣裝置：

1. 附有樣品環或同等裝置之 FIA 注入閥。

2. 多管式蠕動泵。

3. 流動注入分析設備：具管式加熱套與流穿式樣品槽(Flow cell)之 FIA 設備，組裝架構如圖一。圖中所示之各管徑體積及相對流率可視實際需要依其相對比例調整。組裝之管材(除蠕動泵使用 Tygon 管外)應使用惰性材質，如鐵氟龍(TFE)或同級品。

4. 具 660 nm 波段吸收度之偵測器，光學狹縫寬 10 nm。

5. 含注入閥之控制以及數據拮取系統。

五、試劑

(一) 試劑水：比電阻值 $\geq 16 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ，以其配製載流液與所有之溶液。

(二) 用氮氣吹除載流液與緩衝溶液中之氣體並防止氣泡生成。氮氣之使用壓力為 140 kPa (20 psi)，流經一氮氣除氣管，一升溶液之除氣時間約為一分鐘。

(三) 消化溶液：一升定量瓶中，溶解 134.0 g 硫酸鉀及 7.3 g 硫酸銅至 800 mL 試劑水中，然後慢慢加入 134 mL 濃硫酸，冷卻後加試劑水至標線並混合均勻之。

(四) 沸石：以分子篩沸石效果較佳，使用前須於清洗蒸餾裝置時一同清洗。

(五) 載流稀釋液：一升容器中置入 496 mL 消化溶液(五之(三)小節)與 600 g 試劑水，攪拌直到溶解。

(六) 氫氧化鈉溶液，0.8 M：一升塑膠容器中置入 32.0 g 氫氧化鈉(NaOH)及 985.0 g 試劑水，攪拌直到溶解。

(七) 緩衝溶液：一升容器中置入 941 g 試劑水，再加入 35.0 g 磷酸

氫二鈉 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)，待溶解後加入 20.0 g EDTA disodium salt。EDTA 不會完全溶解而形成濁狀溶液，最後再加入 50.0 g 氫氧化鈉，攪拌直到溶解。

(八) 水楊酸 / 亞硝醯鐵氰化鈉溶液：一升棕色容器中置入 150.0 g 水楊酸鈉 [$\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})(\text{COONa})$] 和 1.00 g 亞硝醯鐵氰化鈉二水合物 (Sodium nitroferricyanide, $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 及 908 g 試劑水，攪拌直到溶解，每月配製以保新鮮。

(九) 次氯酸鹽溶液：250 mL 容器中置入 16 g 5.25 % 次氯酸鈉 (NaOCl 漂白水) 及 234 g 試劑水，混合均勻之。

(十) 氮 (原) 儲備溶液，250 mg N / L：一升定量瓶中置入 0.9540 g 經 110 °C 乾燥二小時之氯化銨 (NH_4Cl)，加入約 800 mL 試劑水，溶解混合均勻後以試劑水定量至標線。

(十一) 氮標準溶液：使用上述 (五之 (十) 小節) 之氮 (原) 儲備溶液，再稀釋到所需之工作範圍濃度。

(十二) 模擬已消化標準品：以未經消化之氮標準溶液 (見五之 (十一) 小節) 製作檢量線標準品如下：

氮 (模擬) 儲備溶液，5.0 mg N / L：250 mL 之容器中置入約 5.0 g 氮 (原) 儲備溶液 (見五之 (十) 小節)，以每次加溶液 0.02 g 至實際重量，並以 (五之 (五) 小節) 之載流稀釋液補足至所要濃度，搖盪混合之。同時也以 (五之 (五) 小節) 之載流稀釋液 (不可用試劑水) 稀釋此氮 (模擬) 儲備溶液以配製工作標準品。

(十三) 去氯試劑：溶解 3.5 g 硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 於試劑水中，再稀釋至 1 L。

註：試劑之劑量配製方式可選擇"重量／體積"代替"重量／重量"。

六、採樣與保存

(一) 採樣：使用經試劑水清洗過之清潔塑膠瓶或玻璃瓶。在取樣前，採樣瓶要用擬採集之水樣洗滌二至三次。若水樣中有含餘氯之虞，可於採集現場加入亞硫酸鈉 (Na_2SO_3) 以去除干擾。

- (二) 保存：樣品儘速分析可得到最可靠之分析結果，如果無法立即分析，用濃硫酸將樣品酸化至 pH 值為 1.5 至 2.0，並於 4 °C 及暗處下儲存。在此條件下，樣品可保存 14 天。

七、步驟

- (一) 決定樣品體積：(見表一)

- (二) 原樣品中氮之移除：

以移液管吸取 50 mL 或適量之原樣品到 100 mL 燒杯並加試劑水至 50 mL，加入 3 mL 緩衝溶液並以 NaOH 調整 pH 值至 9.5。定量地轉移樣品至 100 mL 容量之凱氏燒瓶並煮沸至 30 mL。若不須移除原樣品中之氮則以下列步驟消化之。

- (三) 消化步驟：標準溶液與水樣二者均要經此步驟。

在 75 mL 消化管中置入 25.0 mL 水樣或標準品，然後添加 10 mL 消化溶液(見五之(三)小節)混合之。放入數顆鋁氧石(Alundum)沸石至消化管中以避免突沸。先將管柱置於預熱之消化裝置中，在 200 °C 下加熱 1 小時，然後升溫至 380 °C 再於此溫度下消化約 1 小時。當藍色之硫酸銅褪色變透明時，並產生大量白煙(如樣品有機物含量多則可能是黑煙)後，再繼續強熱消化 10 分鐘。消化結束後，從消化裝置中移除管柱並冷卻約 10 分鐘。各樣品以試劑水稀釋至 25.0 mL 並以渦流混合器(Vortex mixer)混合之。覆蓋管柱以避免氮之污染。

- (四) 建立如同圖一之 FIA 設備組裝架構或同等裝備。

1. 首先樣品(或標準品)注入定體積之樣品環中，然後藉注入閥注入多管式 FIA 載流液內，依設計目的混合、緩衝、反應、加熱、呈色，最後流經流穿式樣品槽而於 660 nm 波長檢測定量。
2. 依據本法及儀器製造廠商之指引所建立之標準操作程序(SOP)指示操作。

八、結果處理

製作以本 FIA 設備組裝架構所建立凱氏氮濃度對應 660 nm 波長

吸光度之檢量線，此檢量線為線性。

九、品質管制

- (一) 檢量線：檢量線之相關係數應大於或等於 0.995。
- (二) 空白分析：每十個樣品或每批次樣品至少執行一次空白樣品分析，空白分析值應小於二倍方法偵測極限。
- (三) 重覆分析：每十個樣品或每批次樣品至少執行一次重覆分析，其差異百分比應在 10 % 以內。
- (四) 查核樣品分析：每十個樣品或每批次樣品至少執行一次查核樣品分析，並求其回收率。回收率應在 85 ~ 115 % 範圍內。
- (五) 添加標準品分析：每十個樣品或每批次樣品至少執行一次添加標準品分析，其回收率應在 85 ~ 115 % 範圍內。

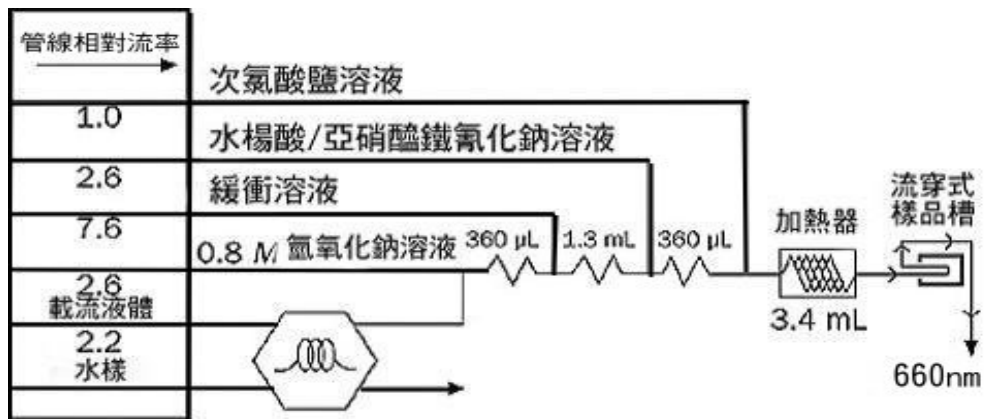
十、精密度與準確度

- (一) 回收率與相對標準偏差：單一實驗室在特定基質之研究結果，見表二。
- (二) MDL：上述 FIA 系統中如使用 130 μ L 樣品環並以 U.S. EPA 公告之"方法偵測極限之定義與測定步驟"重覆分析 0.1 mg N / L 標準品 21 次，得到其平均值為 0.103 mg N / L，標準偏差為 0.014 mg N/L，MDL 為 0.034 mg N / L。欲獲得較低之 MDL 可經由增加樣品環體積以及增加載流液/試劑流速比而達成。

十一、參考資料

- (一) American Public Health Association, American Water Works Association & Water Pollution Control Federation. Standard method for the examination water and wastewater, 20th ed., Method 4500-Norg D. , pp.4-126~4-128, APHA, Washington, DC., USA, 1998.
- (二) U.S. Environmental Protection Agency. "Definition and Procedure for the Determination of Method Detection Limits." Appendix B to 40 CFR 136 rev. 1.11 amended June 30, 1986. 49 CFR 43430, 1989.

註：廢液分類處理原則 — 本檢驗廢液依一般無機廢液處理。



圖一 凱氏氮之 FIA 設備組裝架構

表一 各樣品含氮濃度與消化樣品體積

樣品中有機氮濃度 (mg/L)	取樣體積 (mL)
4-40	50
8-80	25
20-200	10
40-400	5

表二 單一實驗室在特定水樣基質之研究結果

樣品種類	樣品/空白	已知添加濃度 mg N/L	回收率 %	相對標準偏差 RSD %	
廢水處理廠 進水口水樣	參考樣品*	—	97	—	
	空白 ⁺	3.0	97	—	
		6.0	99	—	
	取樣點 A ^{‡§}	0.0	—	—	3.3
		3.0	91	—	—
		6.0	95	—	—
	取樣點 B ^{‡§}	0.0	—	—	3.6
		3.0	115	—	—
		6.0	93	—	—

表二 單一實驗室在特定水樣基質之研究結果 (續)

樣品種類	樣品/空白	已知添加濃度 mg N/L	回收率 %	相對標準偏差 RSD %	
廢水處理廠 進水口水樣	取樣點 C ^{‡§}	0.0	—	5.1	
		3.0	97	—	
		6.0	107	—	
廢水處理廠 出水口水樣	參考樣品*	—	92	—	
	空白 ⁺	3.0	97	—	
		6.0	100	—	
	取樣點 A [‡]	0.0	—	—	5.4
		3.0	94	—	—
		6.0	100	—	—
	取樣點 B [‡]	0.0	—	—	4.1
		3.0	119	—	—
		6.0	81	—	—
取樣點 C [‡]	0.0	—	—	7.3	
	3.0	93	—	—	
	6.0	105	—	—	
垃圾掩埋場 滲漏水	參考樣品*	—	96	—	
	空白 ⁺	3.0	101	—	
		6.0	99	—	

樣品種類	樣品/空白	已知添加濃度 mg N/L	回收率 %	相對標準偏差 RSD %
	取樣點 A ^{‡#}	0.0	—	3.3
		3.0	95	—
		6.0	98	—
	取樣點 B ^{‡#}	0.0	—	4.4
		3.0	134	—
		6.0	85	—
	取樣點 C ^{‡#}	0.0	—	3.8
		3.0	98	—
		6.0	105	—

*美國環保署品管樣品，1.52 mg N / L。

+ 重複樣品

‡ 樣品未添加已知濃度者測定四次，添加已知濃度者測定二次。

S 樣品稀釋：A 稀釋成 1 / 5, ; B 稀釋成 1 / 10 ; C 稀釋成 1 / 5, 重複樣品間相對差異值為 3 %。

|| 樣品稀釋：A 未作稀釋；B 稀釋成 1 / 2, C 未作稀釋，重複樣品間相對差異值為 1 %。

樣品稀釋：A、B 與 C 均稀釋成 1 / 25, 取樣點 B 樣品稀釋成 1 / 150, 重複樣品間相對差異值為 4 %。