

毒性化學物質丙烯醯胺、丙烯腈及丙烯醛液相層析儀檢測法

中華民國92年6月27日環署檢字第0920046311號公告

自中華民國92年9月27日起實施

NIEA T701.10C

一、方法概要

本方法為分析毒性化學物質丙烯醯胺、丙烯腈及丙烯醛，係將 200 μL 之樣品注入液相層析儀，以 C18 逆相層柱管柱分析，流洗出來之化合物以紫外光偵測器偵測之，必要時須經稀釋再行檢測。

二、適用範圍

(一) 本方法可測定下列毒性化學物質丙烯醯胺 (Acrylamide CAS No. 79-06-1)，丙烯腈 (Acrylonitrile CAS No. 107-13-1) 及丙烯醛 (Acrolein CAS No. 107-02-8)。

(二) 本方法之分析待測物其偵測極限 (MDL) 如表一。

三、干擾

由於分析高濃度樣品再接著分析低濃度樣品時，會引起跨樣品的污染，為減低跨樣品間的污染，樣品注射針須用溶劑清洗，遇到異常濃度樣品時須注射一針空白溶劑以檢查樣品間之交叉污染之可能。

四、設備及材料

(一) 液相層析儀由下列組成：

1. 高壓幫浦
2. 逆相層析管柱 (Reverse phase column)：管柱 250 mm \times 4.6 mm 內徑，小於 10 μm 粒徑之 C18 填充劑 (Zorbax) 或同級品。
3. 可調波長紫外光偵測器。
4. 數據處理系統：具量測尖峰面積、高度與滯留時間功能之資料處理系統。

(二) 其他設備

1. 分析天平：可精稱至 ± 0.0001 g。
2. 除氣裝置：一公升過濾瓶與壓力管組成。

(三) 材料

1. 注射針：容積為 10, 25, 50, 250 μ L 及 10 mL。
2. 玻璃定量移液管 (A 級)：1, 5 及 10 mL。
3. 定量瓶：5, 10, 50 及 100 mL。
4. 樣品瓶：25 mL，玻璃材質具鐵氟龍內襯螺旋蓋或夾壓式密封蓋。
5. 樣品過濾器：塑膠注射筒裝有可拋棄式 0.45 μ m 過濾膜。

五、試劑

- (一) 所有檢測時使用的試劑必須是 HPLC 級，若使用其他等級試藥，則在使用前必須確認該試藥的純度足夠高，使檢測結果的準確度不致降低。試劑須儲存在玻璃容器內，避免使用塑膠容器而造成之污染物溶入其中。
- (二) 丙烯醯胺， $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$ ，電泳級試劑，純度 99% 以上。
- (三) 丙烯腈， $\text{CH}_2=\text{CHCN}$ ，純度 99% 以上。
- (四) 丙烯醛， $\text{CH}_2=\text{CHCHO}$ ，純度 99% 以上。
- (五) 不含有機物試劑水：本方法所有使用之試劑水製備，參見本署公告之有機物檢測樣品製備法總則 (一) 中五、(二)。
- (六) 儲備標準溶液：可由純標準品配製或購自市售確認過之溶液。商業備製之儲備標準溶液由廠商確認，且由純物質配製之標準品。

1. 丙烯醯胺

- (1) 將 0.0100 g 丙烯醯胺置入 100 mL 定量瓶內，加不含有機物試劑水至刻度。因標準品純度大於 99% 時，故其重量可直接用於計算儲備標準品的濃度，而不需作修正。
- (2) 把儲備標準溶液移入有鐵氟龍內襯螺旋蓋或夾壓式密封蓋

的小瓶內，以 4°C 冷藏、避光儲存之。

(3) 儲備標準溶液六個月後要替換，若與查核標準品比較有問題時立即更換。

(注意：丙烯醯胺具毒性，備製標準品時應戴護目鏡及手套在抽氣櫃內進行)

2. 丙烯腈及丙烯醛儲備標準溶液，分別備製如下：

(1) 在瓶子及瓶蓋稱重前，取約 9.8 mL 不含有機物試劑水置入 10 mL 定量瓶內，稱重量至 0.0001 g，紀錄重量。以 50 μ L 注射針取標準品溶液，滴兩滴於定量瓶內，此溶液應直接滴入試劑水中，不要碰到定量瓶內壁。

(注意：丙烯腈及丙烯醛具毒性，備製標準品時應在抽氣櫃內進行)

(2) 蓋上瓶蓋再稱重，以不含有機物試劑水定容至刻度。由淨重量計算濃度，如標準品純度大於 96% 時，其重量可直接用於計算儲備標準品的濃度，而不需作修正。

(3) 儲備標準溶液六個月後要替換，若與查核標準品比較有問題時立即更換。

(七) 檢量線標準品

1. 檢量線標準品：由儲備標準品以不含有機物試劑稀釋，至少五種不同濃度為檢量線標準溶液。

2. 其中一個濃度要接近但要稍高於方法偵測極限，其餘濃度應配合真實樣品之預估濃度範圍內或液相層析儀操作範圍內 (1 mg/L 到 10 mg/L)。

六、樣品採樣及保存

(一) 樣品從採集至分析的這段期間，將樣品儲存於 4 °C，且避免陽光直射，樣品不建議添加保存劑以免產生不必要之分析干擾。

(二) 樣品須於採集後儘速完成溶解，並於溶解後 7 天內完成分析，高濃度純品化合物不在此限。

七、步驟

(一) 建議液相層析儀條件

移動相： 除氣之不含有機物試劑水（以氦氣曝試劑水趕走氧氣以避免氧氣對 195 nm 波長之吸收）。

注射體積： 200 μ L。

流速： 2.0 mL/min。

壓力： 38 atm，依據廠商建議之最好參數。

溫度： 室溫。

偵測器紫外線波長：195 nm。

依上述之層析條件，所得之液相層析圖如圖一。

(二) 檢量線製作

標準品溶液備製參見五（七）1，每一溶液以 200 μ L 注入液相層析儀內，以外標準校正法定量參考本署公告之層析檢測方法總則八。

1. 執行溶劑空白檢測以確保系統潔淨無污染。（檢測前，必需將樣品及標準品先回溫至室溫）。
2. 依本方法七、（一）節所建議之層析分析條件進行校正標準品之檢測，並將波峰面積與校正標準溶液之濃度（單位為 μ g/mL）製作檢量線。
3. 將波峰面積與對應之校正標準溶液之濃度製作檢量線，以計算各待測物於每一濃度之校正因子（ CF ）：

$$CF = \frac{\text{標準溶液之波峰面積}}{\text{注入標準品總量}(ng)}$$

4. 校正標準品之平均校正因子（ CF ）的百分相對標準偏差（%RSD）應小於 15%。否則，即應系統檢查。若經系統檢查後，校正標準品查核仍無法符合規範需求，系統即應重新校正。若經重新校正後仍無法符合規範需求，即應重新製備校正標準品。

(三) 樣品分析

1. 使用與檢量線相同之液相層析儀分析條件分析樣品，待測物之滯留時間應落於檢量線標準品之滯留時窗內。
2. 樣品稱重後置入定量瓶內加不含有機物試劑水至刻度，充分震盪使其確實溶解，並以 $0.45\ \mu\text{m}$ 過濾膜過濾。
3. 若樣品波峰面積超出校正曲線之線性範圍，則應注入較小體積的樣品量；或者，以試劑水稀釋此處理完成的樣品，再重新檢測。
4. 於目標待測物皆沖提出來後，依八、結果處理中公式計算樣品中待測物的濃度。
5. 每檢測 10 個樣品或每批少於 10 個樣品時，必須進行一個校正標準品檢測，以確認從檢量線計算求得之每一待測物的校正因子 (CF_v) 和起始校正時所求得到之平均校正因子 (CF) 的百分差異不得超過 $\pm 15\%$ 。

$$\text{偏差百分比(\%)} = \frac{\overline{CF} - CF_v}{\overline{CF}} \times 100$$

其中：

CF_v ：待測物的校正因子(面積/ng)

CF ：由起始校正所得的平均校正因子(面積/ng)

6. 樣品若有檢測出待測物時，必要時須以其他檢測方法定性確認待測物。

八、結果處理

由計算樣品之波峰面積，依下式計算丙烯醯胺（或丙烯腈、丙烯醛）的濃度：

$$C(\mu\text{g}/\text{g}) = \frac{A \times V_r \times F}{W(\text{g}) \times \overline{CF} \times V_i}$$

其中：

C ：樣品濃度 ($\mu\text{g/g}$)

A ：待測物所得波峰面積 (或高度)。

V ：樣品備製體積 μL 。

F ：樣品稀釋倍數。

W ：稱取檢體重量 (g)。

V_i ：注射之萃取液體積 (μL)。

\overline{CF} ：由起始校正所得的平均校正因子(面積/ μg)

九、品質管制

- (一) 進行樣品分析前，分析人員必須做方法空白分析，以確保所有玻璃器皿及試劑均無干擾。更換試劑時，也必須分析一方法空白，以保障分析過程未受到污染。
- (二) 檢量線：平均校正因子的百分相對標準偏差 (% RSD) 應小於 15%。
- (三) 空白分析：每十個或每批樣品 (當該批樣品少於十個時) 至少執行一次空白分析，空白分析值應小於方法偵測極限之二倍。
- (四) 重覆分析：每十個或每批樣品至少執行一次重覆分析，其差異百分比應在其管制圖之可接受範圍。
- (五) 品管查核樣品分析：每十個或每批樣品至少執行一次品管查核樣品分析。其品管標準品回收率應在品管圖管制範圍內。
- (六) 添加分析：每十個或每批樣品至少執行一次添加分析做為樣品基質之添加分析。
- (七) 本方法限由對高效能液相層析儀 (HPLC) 經驗豐富且熟悉層析圖譜解析之分析人員使用，或在其督導下使用。每一分析人員必須證明其具有以本方法產生可接受之分析結果的能力。

十、精確度與準確度

本方法無方法績效數據。

十一、參考資料

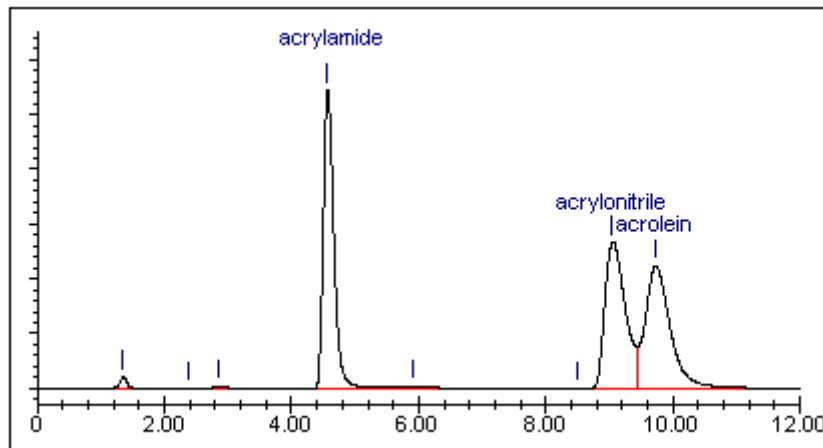
1. U.S. E.P.A. Acrylamide, Acrylonitrile and Acrolein by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Test Methods for Evaluating Solid Waste, Method 8316, 1994.
2. 行政院環境保護署環境檢驗所，廢棄物土壤檢測方法，層析檢測方法總則，NIEA M150.00C，2002。

註一：廢液分類處理原則 — 本廢液為非含氯廢液，需倒入非含氯有機廢液桶中，並定期送交合格處理機構處理。

註二：C18 層析管柱分析完後，應以甲醇流洗使其整支管柱充滿甲醇，以利保存管柱。

表一 待測物滯留時間及方法偵測極限

化 合 物	滯留時間 (min)	方法偵測極限 ($\mu\text{g/L}$)
丙烯醯胺 (Acrylamide)	4.6	10
丙烯腈 (Acrylonitrile)	8.9	20
丙烯醛 (Acrolein (Propenal))	10.1	30



圖一、丙烯醯胺、丙烯腈、丙烯醛液相層析圖

毒性化學物質丙烯醯胺、丙烯腈、丙烯醛液相層析儀分析流程圖

