

周界空氣中鄰-苯二酚、對-苯二酚及4,4'-二胺基二苯甲烷有害空氣污染物檢測方法—高效液相層析／串聯式質譜儀法草案

NIEA A813.10B

一、方法概要

以定流率之空氣採樣泵採集空氣樣品至含吸收液之衝擊瓶中，其中鄰-苯二酚 (Catechol) 及對-苯二酚 (Hydroquinone) 之吸收液為 1% 醋酸-甲醇，4,4'-二胺基二苯甲烷 (4,4'-Methylenedianiline, 4,4'-MDA) 之吸收液為甲醇，採樣後再以高效液相層析/串聯式質譜儀 (HPLC/MS-MS) 分析樣品中鄰-苯二酚、對-苯二酚及 4,4'-二胺基二苯甲烷之含量。

二、適用範圍

本方法適用於分析空氣中鄰-苯二酚、對-苯二酚及 4,4'-二胺基二苯甲烷。適用範圍依採樣體積與吸收液的穿透效應而定，增加採氣體積或稀釋樣品溶液均可增加定量範圍。

三、干擾

- (一) 連續分析高濃度與低濃度樣品時可能發生交互污染，分析高濃度樣品後，可分析甲醇溶劑以確認是否有交互污染現象。
- (二) 對-苯二酚及鄰-苯二酚易受到 pH 值影響而氧化成對-苯醌，採樣時甲醇吸收液應加入 1% 醋酸作保存。

四、設備與材料

(一) 採樣設備

1. 氣體吸收瓶 (Impinger)：約 120 mL (或適當容積) 之衝擊瓶，於採樣時串聯使用。
2. 採樣泵：需為無洩漏型內襯鐵氟龍材質之抽氣泵、隔膜型泵或具相同功能者。
3. 流率校正器：流率範圍涵蓋實際採樣流率，且經校正合格之流率校正器，用來校正採樣泵流率，Gilian、SKC 或其他同級品，可讀至 0.01 L。
4. 量瓶：50 mL、100 mL 或適當容積。
5. 濾膜：孔徑為 0.45 μm 以下。
6. 溫度計。
7. 大氣壓力計。

(二) 分析設備

1. 高效液相層析/串聯式質譜儀 (HPLC/MS-MS) 裝置，規格至少包含如下：
 - (1) 高效液相層析系統。
 - (2) 離子源：電噴灑游離 (ESI)。
 - (3) 四極桿式串聯式質譜儀：可設定等於或優於分離 1 個質量單位之解析度。
2. 層析管柱：Poroshell 120 EC-C18 管柱，2.7 μm (150 mm \times 2.1 mm) 或同等級層析分離管柱。
3. 數據處理系統：能顯示分析物的滯留時間及尖峰面積之定量系統。

五、試劑

- (一) 試劑水：不含待測物質之去離子水。
- (二) 乙腈 (Acetonitrile)：LC/MS 級或同級品。
- (三) 甲醇 (Methanol)：LC/MS 級或同級品。
- (四) 醋酸 (Acetic acid)：純度 99.8% 以上。
- (五) 1% 醋酸-甲醇吸收液：吸取 1 mL 醋酸，以甲醇定量到 100 mL。
- (六) 鄰-苯二酚 (Catechol)：純度 99% 以上，用於標準品製備；或市售可追溯濃度證明文件之標準品。
- (七) 對-苯二酚 (Hydroquinone)：純度 99% 以上，用於標準品製備；或市售可追溯濃度證明文件之標準品。
- (八) 4,4'-二胺基二苯甲烷 (4,4'-Methylenedianiline, 4,4'-MDA)：純度 97% 以上，用於標準品製備；或市售可追溯濃度證明文件之標準品。
- (九) 氮氣 (N_2) 或液態氮氣 (N_2)：純度 99.99% 以上。

六、採樣與保存

(一) 樣品採樣

1. 準備 3 個吸收瓶串聯使用，前 2 個衝擊瓶各裝入約 40 mL 吸收液，第 3 個衝擊瓶作為緩衝與保護採樣泵，最後連結氣體採樣裝置 (採樣設備圖例，如圖一所示)。
2. 採樣前須於吸收瓶前端 (進氣口端) 連接流率校正器，確認採樣流率 (採樣流率約 1.0 L/min) 並記錄。
3. 採樣時間約 1 小時，採氣體積約 60 L，可依周界空氣中濃度適當增減；記錄採樣時間、採樣流率、採樣體積、大氣溫度及大氣壓力等，採樣時需冰浴於 6°C 以下及避光。

4. 採樣結束後，再次連接流率校正器進行採樣流率確認；若採樣前後流率誤差超出 10%，則該次採樣無效。

5. 以吸收液清洗衝擊瓶，並分別定量至 50 mL 或適當體積。

(二) 樣品保存

樣品避光保存於 6°C 以下，且應在 14 天內完成待測物之分析工作。

七、 步驟

(一) 檢量線製備及確認：

1. 檢量線標準液：配製至少 5 種不同濃度之鄰-苯二酚、對-苯二酚及 4,4'-二氨基二苯甲烷於吸收液中，做為檢量線製作使用。檢量線建議濃度範圍鄰-苯二酚為 5 ng/mL 至 100 ng/mL、對-苯二酚為 25 ng/mL 至 200 ng/mL、4,4'-二氨基二苯甲烷為 0.1 ng/mL 至 10 ng/mL。檢量線最低的濃度宜與方法定量極限（3 倍方法偵測極限）之濃度相當。

2. 檢量線的製備係採用線性迴歸法（Linear regression），以線性迴歸法製作檢量線，線性相關係數（Correlation coefficient, r ）不得小於 0.995。

3. 檢量線確認：檢量線製備完成後，應即以第二來源標準品配製接近檢量線中點濃度，進行檢量線確認，所測得濃度之相對誤差不得超過 $\pm 25\%$ 。

(二) 樣品前處理

1. 將六、（一）5. 採樣後之吸收液樣品混合均勻。

2. 以 0.45 μm 以下濾膜過濾樣品後，直接以高效液相層析/串聯式質譜儀（HPLC/MS-MS）分析。

(三) 樣品分析

1. 在每批次樣品分析前，須執行檢量線查核，以確認滯留時間及檢量線之穩定性，以求樣品分析後定性定量結果之可信度。

2. 如果樣品濃度超過檢量線濃度範圍，可以適當之吸收液稀釋。

3. 高效液相層析/串聯式質譜儀參考條件如下：

(1) 層析條件

A. 層析管柱：Poroshell 120 EC-C18 管柱，2.7 μm （150 \times 2.1 mm）或同等級層析分離管柱。

B. 移動相 A：試劑水。

C. 移動相 B：甲醇或乙腈。

D. 流速：0.2 mL/min。

E. 樣品注入量：5 μ L。

F. 管柱溫度：40 $^{\circ}$ C。

(2) 正/負電荷模式串聯式質譜儀條件（電灑法）：參考表一所示。

(3) 多重反應監測模式（Multiple reaction monitoring mode, MRM）
主次要離子對及層析條件如表二所示。

(4) 儀器必須將質譜儀的條件調整至最佳化，以達到要求之質量解析度。在 HPLC/MS-MS 中如層析管柱材質種類、管柱的長度、內徑、層析的流速、移動相及添加劑的選擇，都可能影響分析效果及儀器感度。而電灑法又和待測物、溶劑及流速的關係密切，所以需考量液體本身的電導係數及介電常數，以減少離子抑制的情況，以達到 MS-MS 分析效率的最佳化。

(四) 鑑定與分析

1. 使用高效液相層析串聯質譜系統之多重反應監測模式，對每一種化合物監測其主次要離子對 2 組（主次要離子對層析圖如圖二所示）。

2. 定性與定量準則：

(1) 待測物之滯留時間須落在當日檢量線查核樣品之滯留時間 $\pm 2.5\%$ 範圍之內。

(2) 若不同化合物間離子對無干擾，以待測物感度較高的監測主次要離子對之面積來定量該待測物的含量，若有干擾，亦可以另一主次要離子對作為定量。

(3) 待測物之兩監測主次要離子對須同時出現，定量離子對的訊噪比（S/N）必須 ≥ 10 ，定性離子對的訊噪比（S/N）必須 ≥ 3 。

(4) 當樣品中待測物濃度定量結果未超過法規管制標準二分之一時，即可出具報告；若超過法規管制標準二分之一時，須完整進行第（5）點之確認動作。

(5) 各化合物之主次要離子對參數如表二；待測物之定性離子/定量離子（積分面積或高度）的相對比率（Ion ratio）須以檢量線標準品或添加樣品分析的主次要離子對的比率為基準計算應符合表三所列之管制範圍內。

八、 結果處理

(一) 採氣量

總採氣量可由下式求得：

$$V_m = \frac{(T)(Q)}{1000}$$

V_m = 總採氣量 (m^3)

T = 採樣時間 (min)

Q = 平均採樣流率 (L/min)，前後流率平均值

(二) 樣品在空氣中之濃度可由下式求得：

$$C = \frac{(C_f \times V_{s1}) + (C_b \times V_{s2})}{V_m} \times 10^{-3}$$

C ：周界空氣中待測物之濃度 ($\mu g/m^3$)

C_f ：前段樣品中待測物濃度 (ng/mL)

C_b ：後段樣品中待測物濃度 (ng/mL)

V_{s1} ：前段樣品溶液之最終定量體積 (mL)

V_{s2} ：後段樣品溶液之最終定量體積 (mL)

並可由下式可將待測物空氣濃度作轉換：

$$C' = \frac{C \times 22.4 \times \frac{T_m}{273} \times \frac{760}{P}}{MW}$$

C' ：周界空氣中待測物之濃度 (ppbv (v/v))

T_m ：採樣時大氣絕對溫度 (K)

P ：採樣時大氣壓力 (mmHg)

MW ：待測物分子量 (g/mole)

莫耳體積：S.T.P 下，任何氣體體積為 22.4 L/mole。

九、品質管制

- (一) 檢量線查核：每批次樣品分析前、每 12 小時及樣品完成分析後，應作檢量線查核，所測得濃度之相對誤差值不應超過 $\pm 25\%$ 。
- (二) 試劑空白分析：每批次或每 10 個樣品，應執行試劑空白樣品，空白樣品分析值須小於 2 倍方法偵測極限。
- (三) 現場空白分析：每批次或每 10 個樣品，應執行現場空白樣品，空白樣品分析值須小於 2 倍方法偵測極限。
- (四) 查核樣品：每批次或每 10 個樣品，應執行查核樣品分析，回收率應介於 75% 至 125%。

- (五) 重複樣品分析：每批次或每 10 個樣品，應執行重複樣品分析，相對差異百分比應小於 30% 內。
- (六) 添加樣品分析：每批次或每 10 個樣品，應執行添加樣品分析，其回收率應在 70 %至 130% 範圍內。
- (七) 後瓶吸收液中待測物濃度測值應小於 2 倍方法偵測極限，或小於前瓶之 10%；後瓶吸收液中待測物濃度測值超過 2 倍方法偵測極限，且超過前瓶之 10%時，需加總前後瓶吸收液中待測物。

十、精密度與準確度

單一實驗室所測得之精密度、準確度及方法偵測極限如表四。

十一、參考資料

行政院環境保護署，排放管道及周界中環亞乙基硫脲等空氣污染物調查技術開發，中華民國 108 年。

表一 正/負電荷模式串聯式質譜儀條件 (MS-MS) 系統參數

| 待測物 | ESI | IS | CUR | GS1 | GS2 | TEM | CAD |
|--------------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 對-苯二酚 | 負電荷 | 4500 | 20 | 20 | 35 | 300 | 12 |
| 鄰-苯二酚 | | | | | | | |
| 4,4'-二氨基二苯甲烷 | 正電荷 | 5500 | 40 | 50 | 40 | 500 | 12 |

表二 MRM 離子對參數及層析條件

對-苯二酚及鄰-苯二酚

| 待測物 | Q1 | Q3 | DP | Dwell Time | CE | CXP |
|-------|-------------|------------------------------------|---------------------------|------------|--------------|-------|
| 對-苯二酚 | 109 | 108 | -49.1 | 200 | -24.0 | -6.0 |
| | 109 | 81 | -49.1 | 200 | -17.7 | -14.0 |
| 鄰-苯二酚 | 109 | 108 | -70.1 | 200 | -24.0 | -10.0 |
| | 109 | 91 | -40.1 | 200 | -26.9 | -10.0 |
| 梯度 | 時間 (min) | 流速 ($\mu\text{L}/\text{min}$) | 移動相 A H ₂ O | | 移動相 B ACN | |
| | 0 | 200 | 90 | | 10 | |
| | 0.2 | 200 | 90 | | 10 | |
| | 2.5 | 200 | 25 | | 75 | |
| | 3.5 | 200 | 25 | | 75 | |
| | 4.0 | 200 | 0 | | 100 | |
| | 8.0 | 200 | 0 | | 100 | |
| | 8.1 | 200 | 90 | | 10 | |
| | 16 | 200 | 90 | | 10 | |

4,4'-二氨基二苯甲烷

| 待測物 | Q1 | Q3 | DP | Dwell Time | CE | CXP |
|------------------|-------------|------------------------------------|-------------------------------|------------|-------------------|------|
| 4,4'-二氨基二 苯甲烷 | 199 | 106 | 77 | 200 | 30.8 | 7.7 |
| | 199 | 182 | 77 | 200 | 24.0 | 10.0 |
| 梯度 | 時間 (min) | 流速 ($\mu\text{L}/\text{min}$) | 移動相 A H ₂ O (%) | | 移動相 B MeOH (%) | |
| | 0 | 200 | 80 | | 20 | |
| | 2.2 | 200 | 80 | | 20 | |
| | 3.5 | 200 | 30 | | 70 | |
| | 4.5 | 200 | 30 | | 70 | |
| | 7.0 | 200 | 10 | | 90 | |
| | 11.0 | 200 | 10 | | 90 | |
| | 11.1 | 200 | 80 | | 20 | |
| | 16 | 200 | 80 | | 20 | |

表三 HPLC/MS-MS 主次要離子對之離子強度比率 (Ion ratio) 規範

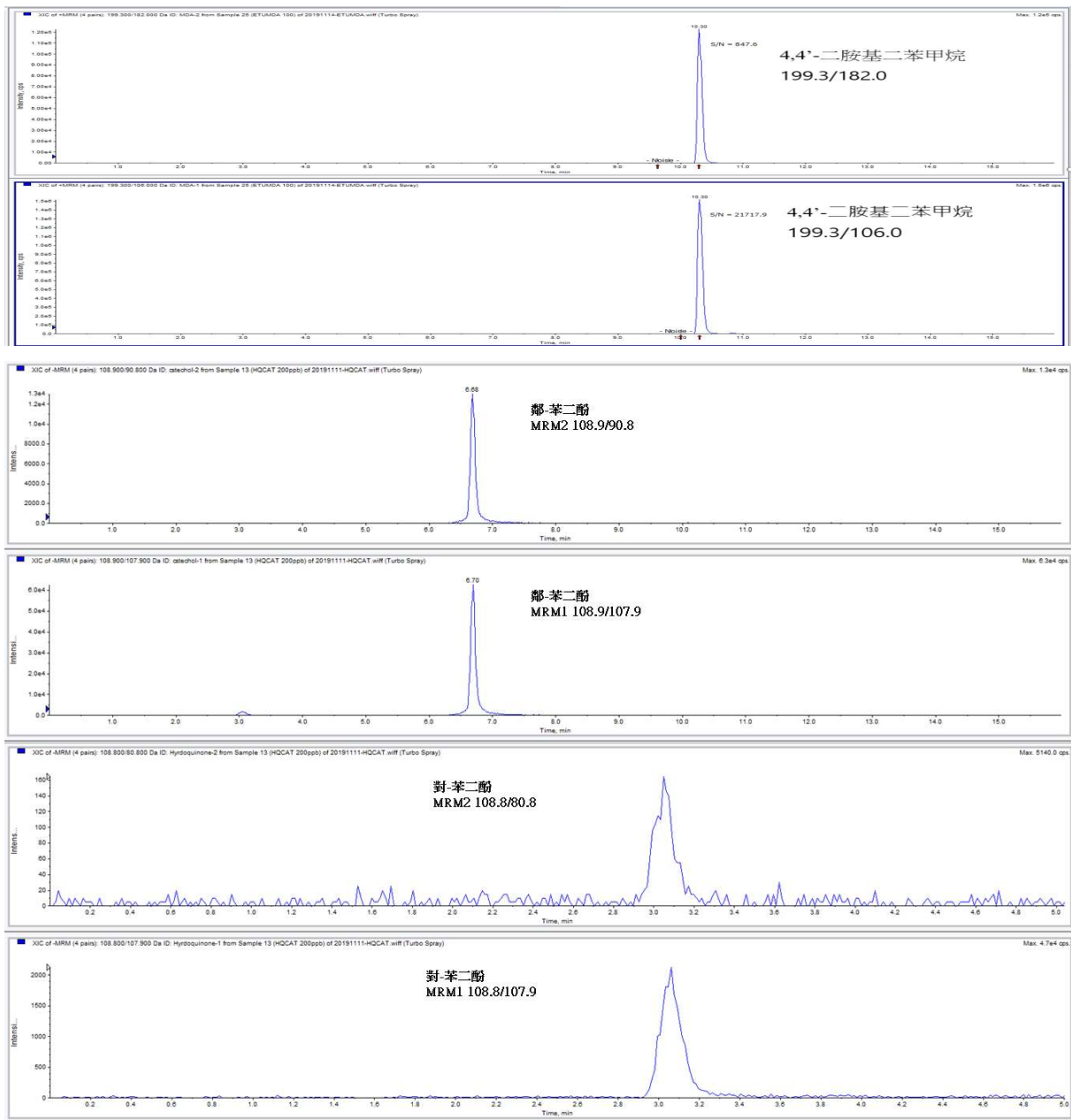
| 相對強度 (% of Base peak) | 離子強度比率的最大允許誤差 (%) |
|-----------------------|-------------------|
| >50 | ±20 |
| 20-50 | ±25 |
| 10-20 | ±30 |
| ≤10 | ±50 |

表四 單一實驗室之精密度、準確度與 MDL (n=7)

| 待測物 | 樣品濃度 (ppbv) | 測定平均值 | 平均回收率 (%) | 相對標準偏差 (%) | MDL (ppbv) |
|--------------|-------------|-------|-----------|------------|------------|
| 對-苯二酚 | 10.17 | 10.34 | 102 | 5.68 | 0.323 |
| 鄰-苯二酚 | 3.39 | 3.37 | 99.4 | 7.88 | 0.118 |
| 4,4'-二胺基二苯甲烷 | 0.075 | 0.076 | 101 | 5.09 | 0.007 |



圖一 採樣設備



圖二 鄰-苯二酚、對-苯二酚及 4,4'-二胺基二苯甲烷之層析圖
(層析條件：參考本方法七、(三)3.(3))