

...

空氣中酚及甲酚測定方法－高效能液相層析法

中華民國87年7月6日（87）環署檢字第 43255 號公告
自中華民國87年10月6日起實施
NIEA A502.70B

...

一、方法概要

將空氣通入兩個內含 15mL 0.1N 氫氧化鈉的小型衝擊吸收瓶(Midget impinger)，酚類被吸收形成酚鹽。將吸收瓶中的溶液倒入附有鐵氟龍墊片螺旋蓋的玻璃瓶中，送回實驗室。此溶液置於冰浴中，加入 1mL 5% v/v 硫酸以調整 pH 低於 4，再加入試劑水使最終體積為 25 mL，將之注入高效能液相層析儀 (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) 分析。使用逆向高效能液相層析儀測定酚類時，所用的偵測方式為：紫外光吸收偵測(270nm)、電化學偵測或螢光偵測。通常，對於相當乾淨的樣品應使用紫外光偵測方式。

二、適用範圍

本方法適用於測定空氣中酚及甲酚之測定。傳統常用的酚類測定方法為比色法或氣相層析法，其偵測極限較高。本方法使用 HPLC 以降低偵測極限。若注意試劑純度與其他因素，本方法能偵測酚為 7 ppbv，鄰甲酚為 5 ppbv 間、對-甲酚為 3 ppbv。使用者可依各別需要來選擇 HPLC 的偵測系統。對於相當乾淨的樣品而言，最常用的是紫外光偵測系統。但增加採氣量或稀釋試樣溶液時，均可使可定量範圍增大。

三、干擾

- (一) 與本方法中待測化合物滯留時間相同的化合物會形成干擾。這種干擾可藉改變分離條件(例如，改用其他分析管柱或改變移動相組成)，或改變偵測器來克服。此外，在採樣過程中，待測酚類化合物可能會被氧化，若有需要，進行確認實驗以證明四種待測化合物沒有衰變。
- (二) 對於疑有干擾之“髒”的樣品，則可能須先進行“淨化”步驟，可先記錄紅外線光譜以確認干擾物，再利用特定的離子交換層析管柱來分離之。若層析尖峰重疊，可藉著增高或降低移動相組成成份的濃度使其分離。
- (三) 所有試劑使用前必須檢查有無污染。

四、設備

- (一) HPLC 系統－包括移動相儲瓶、高壓幫浦、注射閥、層析管柱 C-18RP(25cm x I.D 4.6mm) 或同級品。紫外光偵測器(使用 270 nm)、數據處理系統或記錄器，如圖一所示。
 1. 抽氣過濾裝置－用於過濾 HPLC 移動相。
 2. 量瓶－100 mL 及 500 mL。
 3. 移液管－1~10 mL，各種容量者。
 4. 錐形瓶，1 L－用於製備 HPLC 移動相。
 5. 刻度量筒，1 L－用於製備 HPLC 移動相。
 6. 微量注射針，100~250 μ L－用於將樣品注入 HPLC。
- (二) 採樣系統－能準確且精密地以 100~1000 mL/min 採集周界氣體，如圖二所示。
 1. 馬錶
 2. 金屬罐，例如一加侖油漆罐－用以置放樣品。
 3. 溫度計－記錄周界溫度

- 4.氣壓計－若有必要時則使用。
- 5.分析天平－靈敏度 0.1 mg。
- 6.小型衝擊吸收瓶(Midget impinger)－噴氣入口式(jet inlet type)，25mL。

五、試劑

- (一) 附鐵氟龍墊片螺旋蓋的玻璃瓶，350 mL－用於儲存採樣試劑。
- (二) 附鐵氟龍墊片螺旋蓋的小玻璃瓶，25 mL－用以保存樣品。
- (三) 可拋棄式移液管及吸球。
- (四) 粒狀活性炭。
- (五) 甲醇－經玻璃蒸餾器蒸餾，或殘量級。
- (六) 氫氧化鈉－分析試藥級。
- (七) 硫酸－分析試藥級。
- (八) 試劑水－經離子交換及活性碳過濾純化或蒸餾。
- (九) 聚酯濾膜，0.45 μm －Nuclepore，或同級品。
- (十) 酚、鄰-甲酚、間-甲酚及對-甲酚標準品－純度 99+%。
- (十一) 吸收液，0.1 N 氫氧化鈉－溶解 4.0 g 氫氧化鈉於試劑水中，稀釋至 1L。儲存於附鐵氟龍墊片螺旋蓋的玻璃瓶中。
- (十二) 硫酸，5% v/v－緩緩將 5 mL 濃硫酸加入 95 mL 試劑水中。
- (十三) 醋酸緩衝溶液，0.1 M，pH 4.8－溶解 5.8 mL 冰醋酸及 13.6 g 三水合醋酸鈉($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)於 1L 試劑水中。
- (十四) 乙腈－光譜級。
- (十五) 冰醋酸－分析試藥。
- (十六) 三水合醋酸鈉－分析試藥級。

六、採樣與保存

- (一) 依圖二所示組裝採樣裝置。所有的玻璃器皿(例如，吸收瓶、採樣瓶等)於使用前須以甲醇徹底洗淨且烘乾備用。
- (二) 採樣前須先組裝整套採樣裝置(包括空的樣品吸收瓶)，並設定所須流速，檢查流速是否正確。一般常用流速為 100~1000mL/min。流速不可大於 1000mL/min，否則會降低吸收瓶的收集效率。通常在氣流出口連接皂泡流量計或校正過的濕式氣體流量計來校正流速，校正時整套系統應該是密閉的，如註一。
註一：ASTM Method D3686 中敘述一種在幫浦後端不須密閉整套系統即可校正的方法，可供參考。
- (三) 若流量夠大，採樣系統中最好裝有一個乾式氣體流量計或類似的總流量顯示計，以記錄總流量。若沒有乾式氣體流量計，則操作者必須於採樣，開始及結束分別測定並記錄採樣流速，以決定採樣體積。若採樣超過二小時，則亦應於採樣中段時間測量及記錄流速。理想之採樣裝置中應包括一個浮子流量計。以便在不干擾採樣過程的情形下即可觀察流速。
- (四) 採樣空氣樣品時，將二個各盛有 15mL、0.1N 氫氧化鈉之乾淨小型吸收瓶安裝於採樣裝置上，開始採樣。記錄下列參數於數據記錄表中(例如，表一之記錄表)：日期、採樣地點、時間、周界溫度、氣壓(如可取得)、流速、浮子流量計設定值、0.1N 氫氧化鈉試劑之批號、乾式氣體流量計與幫浦之編號。
- (五) 採樣器可在適當的時間內操作，設定所需之採樣時間，開始採樣，每隔一定時間記錄上述之參數，總採樣體積不得超過 80L。操作員須確定採樣結束時，吸收瓶中至少留有 5mL 試劑。(注意：若周界溫度較高，則可能須減少採樣體積)。
- (六) 在採樣結束時，記錄六(四)中所列參數值，再停止採樣。如果沒有使用乾式氣體流量計，則採樣結束時必須測量及記錄流速。若採樣開始與採樣結束時之流速差異大於 15%，則此樣品應丟棄。

- (七) 採樣結束後，立即將吸收瓶取下，將其內的溶液分別倒入 25mL 附鐵氟龍墊片螺旋蓋的乾淨玻璃瓶中。以 5mL 試劑水淋洗吸收瓶，洗液併入玻璃瓶中。蓋上瓶蓋，以鐵氟龍帶密封後，置於金屬罐中，罐內裝有 1-2 英吋厚的活性炭粒。將樣品儲存於此罐中送回實驗室，並且冷藏直到進行分析前。若於 48 小時內分析，則樣品不致變質。
- (八) 若未使用乾式氣體流量計或類似的總流量顯示計，則依據下式計算平均採樣流速：

$$Q_A = \frac{Q_1 + Q_2 + Q_3 + \dots + Q_N}{N}$$

其中：

Q_A ：平均流速(mL/min)

Q_1 、 Q_2 、...、 Q_N ：採樣開始、採樣結束及各採樣中段時間之流速

N ：測定流速之總次數

- (九) 依據下式計算採樣體積：

$$V_m = \frac{(T_2 - T_1) \times Q_A}{1000}$$

其中：

V_m ：周界溫度及壓力下之採樣體積(L)

T_2 ：採樣結束時間

T_1 ：採樣開始時間

$(T_2 - T_1)$ ：總採樣時間(min)

Q_A ：平均流速(mL/min)

- (十) 空氣樣品採樣體積，通常是記錄採樣時大氣條件下(如周界條件)之體積，但此體積應依據下式轉換為標準條件(0 °C，760mm-Hg 壓力)下之體積：

$$V_s = V_m \times \frac{P_A}{760} \times \frac{273}{273 + T_A}$$

其中：

V_s ：0 °C，760mm-Hg 壓力下之採樣總量(L)

V_m ：周界條件下之採樣總量。由第六(九)節計算而得或由乾式氣體流量計上讀出。

P_A ：周界氣壓(mm-Hg)

T_A ：周界溫度(°C)

七、步驟

(一) 樣品製備

1. 送回實驗室的樣品係裝於 25 mL 螺旋蓋玻璃瓶中，將每個玻璃瓶中的溶液倒入 25 mL 量瓶中，置於冰浴中，加入 1mL 5% 硫酸，以調整 pH 低於 4，再以試劑水調整體積至 25 mL。
2. 將溶液充分混合後倒入 25 mL 螺旋蓋玻璃瓶中冷藏，直到進行 HPLC 分析時。

(二) HPLC 分析

1. HPLC 系統的組裝及校正

(1) 組裝及校正 HPLC 系統。建議分析條件如下：

管柱：C-18RP

移動相：30% 乙腈/70% 醋酸鹽緩衝溶液

偵測器：紫外光多頻偵測器，使用波長 270 nm

流速：1 mL/min

- (2) 以乾淨的 HPLC 注射針吸取 50 μ L 之樣品，將注射閥轉至“載入(load)”位置，注入樣品至 200 μ L 之注射閥迴路中，同時啟動數據擷取系統(若有)，標示注射點於記錄紙上。
 - (3) 約一分鐘後，以水沖洗注射針及注射閥，以準備分析下一個樣品。
 - (4) 最後一個待測成分流出後，停止擷取數據，並依據第八節所述計算各待測物成分的濃度。
 - (6) 在基線穩定後，儀器可繼續一上述步驟進行其他樣品之分析。
 - (7) 如待測物的濃度超過儀器線性範圍，應先以移動相稀釋樣品或減少注入體積。
 - (8) 假如滯留時間與建立檢量線時所得者不同，可以增加或減少乙腈/水的比例以獲得正確的流出時間(參見圖 3)。流出時間過長，增加比例，過短則減少比例。
2. 混合 300mL 乙腈與 700mL、pH4.8 的醋酸鹽緩衝溶液，此即為 HPLC 移動相。使用附有 0.45 μ m 聚酯濾膜之玻璃及鐵氟龍製吸力過濾器過濾上述混合液。過濾後的移動相以超音波振盪 30 分鐘以除去溶液中的氣體。
 3. 移動相置於 HPLC 溶劑儲槽中，以幫浦將之送入 HPLC 系統，進行第一次分析前，幫浦流速設定為 0.3 mL/min，先令移動相流過 HPLC 系統 20-30 分鐘，偵測器打開 30 分鐘以上，同時將偵測器輸出顯示在記錄器或類似得輸出裝置上。一般使用操作波長為 270 nm 之紫外光偵測器。
 4. 檢量線標準液係以高純度標準品溶於移動相中配製而成。溶解 10 mg 的固態衍生物於 100 mL 移動相中，配製成所需濃度範圍的混合檢量標準溶液(包含所有待測之酚及甲酚類)。
 5. 每一個檢量線標準液(至少五種不同濃度最低濃度稍高於方法偵測極限)各分析三次。將尖峰面積對注入質量作圖。依照六(二)節 HPLC 分析步驟分析檢量標準液。使用紫外光偵測器時，50 μ L 的注入體積應約有 0.2 至 10mg/L 的線性範圍。上述分析結果可用以製作酚的檢量線，所得相關係數至少達到 0.999，各化合物滯留時間變化須在 2% 以內。
 6. 記錄所建立之線性檢量線後作成書面文件，選擇標準液中一個中間濃度者，作為每日校正檢量線之用。此中間濃度標準液的濃度須接近每一待測酚類的預估濃度，且大於偵測極限 10 倍。每日校正檢量線時，所得各個酚類的應答變化應在 10% 以內，否則重新校正或以新的標準液重新建立新檢量線。
 7. 每一待測酚類每日校正標準液所得應答可用來計算其感應因子(response factor)，計算公式如下：

$$RF_c = \frac{C_c \times V_1}{R_c}$$

其中：

RF_c：各個待測酚類的感應因子(注入之 ng 數/應答單位)

C_c：每日校正標準液中待測物濃度(mg/L)

V₁：校正標準液之注入體積(μ L)

R_c：校正標準液中待測物的應答(面積計數，area counts)

八、結果處理

(一) 依據下式計算各樣品中各待測酚類之濃度：

$$W_d = RF_c \times R_d \times \frac{V_E}{V_1} \times \frac{V_D}{V_A}$$

其中：

W_d：樣品中待測物的總量(μ g)

RF_c：第七(二)7 節計算所得之感應因子

R_d：樣品萃取液中待測物的應答(面積計數或其他感應單位)

V_E：樣品萃液最終體積(mL)

V₁：注入 HPLC 之樣品萃液體積(μ L)

V_D：再稀釋後之體積(假如樣品經過再稀釋)

V_A：用以再稀釋之部份溶液(aliquot)(假如樣品經過再稀釋)

(二) 依據下式計算原始空氣樣品(original sample)中待測物的濃度：

$$C_A = \frac{W_d}{V_s} \times 1000$$

其中：

C_A ：空氣樣品中待測物的濃度(ng/L)

W_d ：樣品中待測物的總量(μ g)

V_s ：0 °C，760mm-Hg 下之樣品總體積(L)

(三) 上述待測物濃度可依下式轉換成 ppbv 的單位：

$$C_A(\text{ppbv}) = C_A(\text{ng/L}) \times \frac{22.4}{MW_A}$$

其中：

$C_A(\text{ng/L})$ ：使用 V_s 計算所得之原始空氣樣品
中待測物濃度

MW_A ：待測物的分子量，酚為94.1、甲酚為108.1。

九、品質管制

本節綜述所須之品質保證要求，以及提供每一實驗室內所應達成的相關績效規範的指引。

- (一) 每次採樣必須採集至少一個或每 10% 的樣品及需有一個重覆樣品(取數量較大者)。現場重覆樣品的精密度應低於 $\pm 20\%$ 。
- (二) 檢量線標準液注入 HPLC 分析時，不同日重覆分析的精密度應小於 $\pm 10\%$ 。
- (三) 採樣時，至少應採集一個或每 10% 的樣品即需有一個(取數量較大者)添加樣品。在吸收液中添加已知量的待測物水溶液，即成為添加樣品。回收率應高於80%。
- (四) 第一次使用本方法前，每個實驗室均應對每個待測物至少做三個不同濃度的添加樣品三重覆分析，且此三個不同濃度應涵蓋待測樣品中的濃度範圍。此外，亦須做空白樣品的三重覆分析。添加樣品回收率應不低於 $80\pm 10\%$ ，空白值應低於5ng/L(採樣體積 80 L)。
- (五) 程序空白(process blanks)

1. 每一批次 0.1N 氫氧化鈉試劑使用前，應分取 15mL 依第六節所述之方法分析之。一般而言，採樣體積為80L時，空白吸收液中待測物濃度應低於5ng/L。
2. 採樣時，每批樣品應至少有一個現場空白(field blank)或每 10% 的樣品即需有一個現場空白(取二者數量較大者)，一同運送及分析。每批樣品的數量應記錄，以便計算空白樣品的百分比。除了未將空氣吸入試劑中以外，現場空白與樣品的處理方式完全一樣。此現場空白中所測得的待測物濃度須符合九(一).1 節中所述。

十、精密度與準確度

單一實驗室以配製之液態標準品溶液加熱140°C 以上汽化之，經採樣組裝模擬實際採樣(採樣體積約 80 L)，以1 L/min流量將汽化之待測物吸收於吸收液中，詳見註二。

各待測物添加量約15 mL，在不同的五天中，進行三次重覆分析，所得之平均回收率。

測量結果準確度分佈範圍，酚為93.53~99.65%、鄰-甲酚為90.03~96.21%及間、對-甲酚為93.02~96.21%。至於精密度之分佈範圍，酚為1.05%、鄰-甲酚：1.47%、間、對-甲酚則為0.84%。

註二：單一實驗室之模擬採樣裝以產生標準氣體，其裝置如圖四。所有連接管宜使用鐵氟龍管或乾淨之玻璃管。先各量取40 mL, 0.1 M之氫氧化鈉吸收液，移入兩個吸收瓶中。另以空吸收瓶取代採樣裝置前端之採樣管作為汽化瓶。並在汽化瓶前端加裝一活性碳過濾器，開口先以鐵氟龍塞封住。將定量(體積不宜高於1 mL)之酚標準品溶液置於汽化瓶中。並以加熱帶纏繞汽化瓶及連接管路後，汽化瓶之底部埋入加熱包中加熱。加熱帶及加熱包溫度皆定為140 °C。再完全汽化後將空吸收液前之鐵氟龍塞取下，同時啟動抽氣幫浦，以1 L /min的抽氣速率採氣10分鐘後，測定吸收瓶中之氣體待測物。

十一、參考文獻

- (一) “Method for Determination of Phenol and Methylphenols(Cresols) in Ambient Air Using High Performance Liquid Chromatography”, Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air Method T08, 1986.
- (二) NIOSH P & CAM Method S330-1, “Phenol”, National Institute of Occupational Safety and Health, Methods Manual, Vol. 3, 1978.
- (三) Ogan, K. and Katz, E., “Liquid Chromatographic Separation of Alkylphenols with Fluorescence and Ultraviolet Detection”, Anal Chem. 53, 160-163 1981.
- (四) Shoup, R. E., and Mayer, G. S., “Determination of Environmental Phenols by Liquid Chromatography Electrochemistry”, Anal Chem.,54, 1164-1169 1982.
- (五) Annual Book of ASTM Standards, Part 113.03, Atmospheric Analysis, “American Society for Testing and Materials”, Philadelphia, Pennsylvania, 1983.
- (六) Riggin, R. M., “Technical Assistance Document for Sampling Analysis of Toxic Organic Compounds in Ambient Air”, EPA-600/4-83-027, U. S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina, 1983.
- (七) “Method 6 Determination of SO₂ Emissions from Stationary Sources”, Federal Register. Vol. 42, No. 160, August, 1977.

表一、採樣數據記錄表

採樣數據記錄表

(一個樣品使用一張表)

專案名稱：	採樣日期：
地點：	採樣期間：
位置：	採樣者：
儀器型號：	校正者：
幫浦編號：	
採樣數據	

樣品編號：

起始時間： 終止時間：

	時間	乾式氣體流量計讀數	浮子流量計讀數	流速*Q mL/min	周界溫度 (°C)	氣壓 mm-Hg	相對濕度 (%)	備註
1.								
2.								
3.								
4.								
N.								

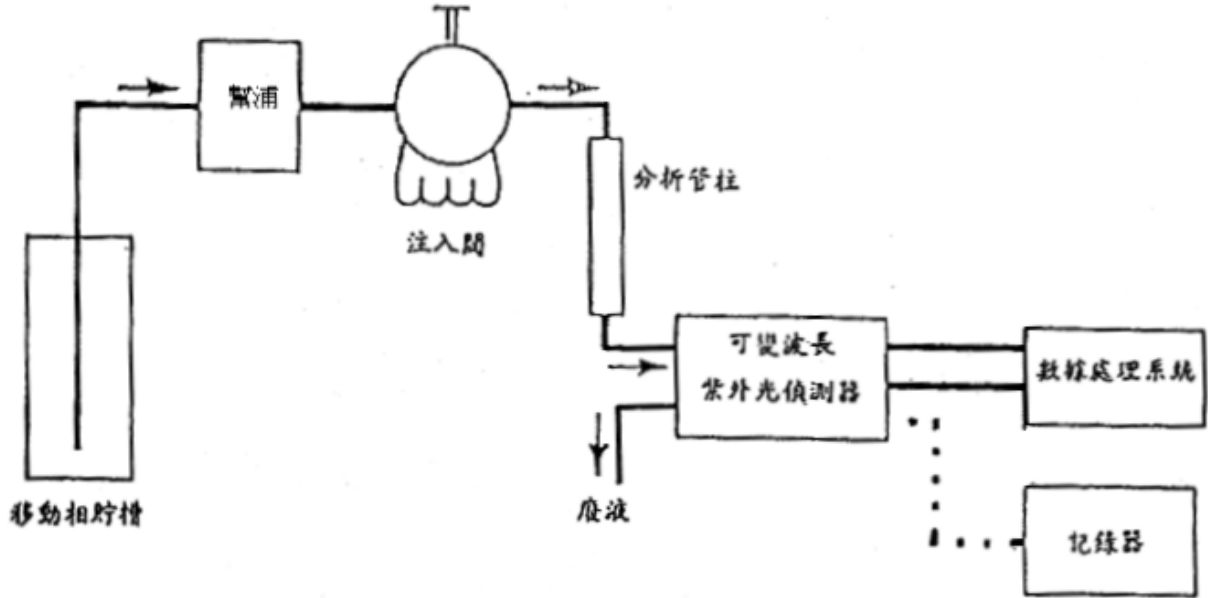
總體積數據**

Vm=(結束時－開始時)乾式氣體流量計讀數，或=_____L

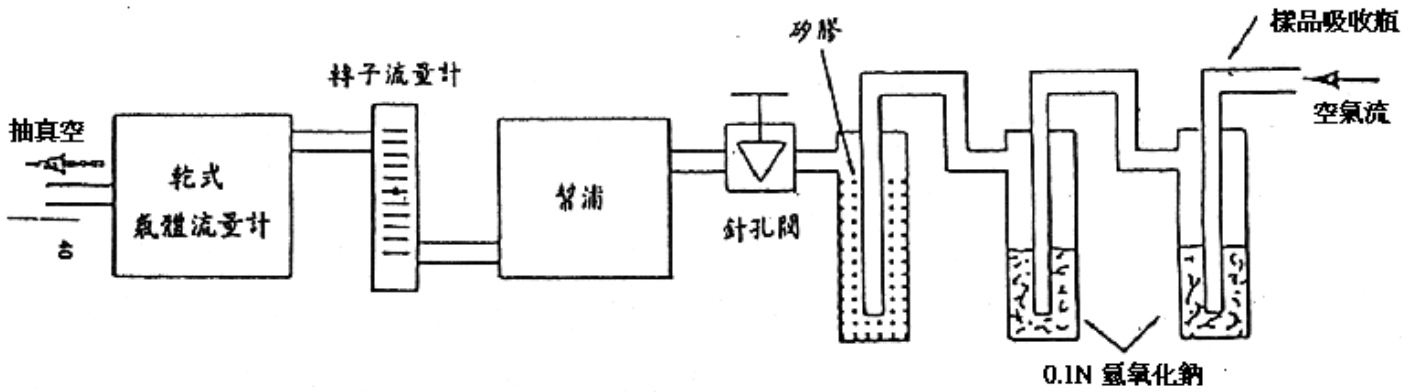
$$= \frac{Q_1+Q_2+Q_3+\dots+Q_n}{N} \times \frac{1}{1000 \times \text{採樣時間(分鐘)}} = \quad \text{L}$$

*從浮子流量計或皂泡校正器測得之流速(註明使用何者)

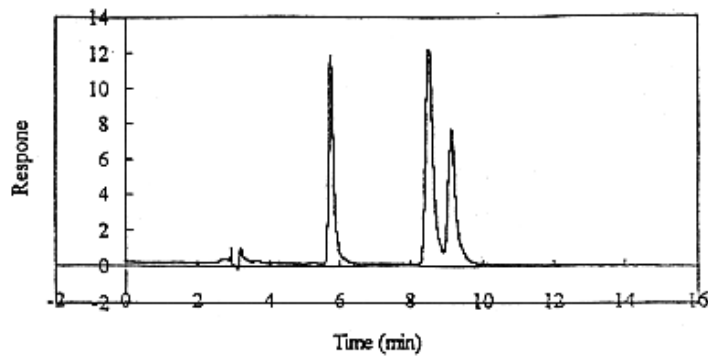
**如使用乾式氣泡流量計，採用其流速數據



圖一、HPLC系統示意圖

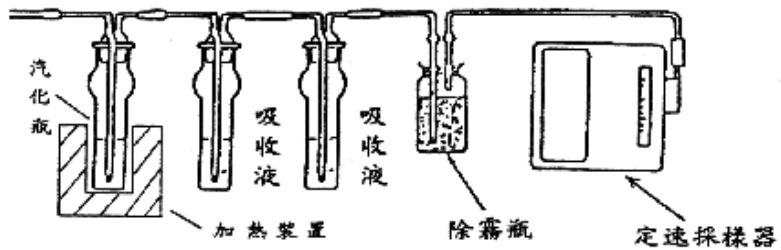


圖二、採樣系統示意圖



圖三、標準品之液相層析圖

濃度為5 ppm，注入 $50\mu\text{L}$ ，移動相為30 % ACN/ 70 % 醋酸鹽緩衝溶液，流速為1 mL/min，分析管柱為C-18RP管柱。酚的滯留時間為5.71，鄰甲酚滯留時間為8.99，間對甲酚滯留時間為8.38。



圖四、氣態酚裝置圖