

水中極性有機物檢測方法—液相層析串聯式質譜儀法

中華民國 110 年 9 月 27 日環署授檢字第 1101004958 號

自中華民國 111 年 1 月 15 日生效

NIEA W547.51B

一、方法概要

樣品流經固相萃取管匣後，續以溶劑清洗並抽乾固相萃取管匣，再以酸性混合溶劑沖提，收集沖提液濃縮、定容及過濾後，以液相層析串聯式質譜儀(LC/MS/MS)檢測。

二、適用範圍

本方法適用於地面水體、地下水體、廢（污）水、放流水、飲用水、飲用水水源中 N-甲基吡咯烷酮(1-Methyl-2-pyrrolidone)、2-甲氧基-1-丙醇 (2-Methoxy-1-propanol)、二甲基乙醯胺(Dimethylacetamide)、N-甲基甲醯胺(N-Methylformamide)、二乙二醇二甲醚(Diethylene glycol dimethyl ether)之檢測。

三、干擾

- (一) 本方法的干擾可能來自於溶劑(註 1)、試劑、玻璃器皿及樣品處理過程中所使用的硬體設備之污染，干擾物質會導致層析圖基線之漂移，須執行空白樣品的測試，以確認無干擾情形。
- (二) 干擾物質可能是樣品中之其他物質，基質干擾的程度隨樣品之來源而不同。由於本方法所使用之偵測系統具選擇性，因此可降低來自基質中的干擾，如果有干擾發生，可用適當的淨化程序去除。
- (三) 儀器必須將質譜儀的條件調整至最佳化，以達到要求的解析度及質量的準確度。在 LC/MS/MS 中如層析管柱材質種類、管柱的長度、內徑、層析的流率、移動相及添加劑的選擇，都可能影響分析效果及儀器感度。而電噴灑法游離效率又和化合物、溶劑及流率的關係密切，需考量移動相本身的電導率及介電常數，以減少離子抑制的情況，以達到 MS/MS 分析效率的最佳化。

四、設備與材料

- (一) 樣品瓶：容量 250 mL 以上之聚丙烯(Polypropylene, PP)或聚乙烯(Polyethylene, PE)樣品瓶，並附螺旋瓶蓋。使用前需先用試劑水及甲醇清洗並乾燥之。
- (二) 標準品瓶：瓶身、瓶蓋為 PP 或 PE 材質，用於保存標準品，容量約 2 mL。

- (三) 上機樣品瓶：瓶身、瓶蓋為 PP 或 PE 材質，容量約 0.8 mL。
- (四) 定量瓶：硼矽玻璃材質，容量 10 mL 或其他適當體積。
- (五) 分析天平：可精稱至 0.1 mg。
- (六) 滴管：玻璃或塑膠材質。
- (七) 液相層析串聯式質譜儀 (LC/MS/MS) 。
 - 1. 液相層析儀。
 - 2. 自動注射系統。
 - 3. 逆相層析管柱：Hypersil Gold PFP 管柱，1.9 μm (粒徑)，2.1 mm (內徑) \times 100 mm (長度) 或同級品。
 - 4. 親水性作用液相層析管柱：CORTECS HILIC 管柱，1.6 μm (粒徑)，2.1 mm (內徑) \times 100 mm (長度) 或同級品。
 - 5. 電噴灑游離串聯式質譜儀。
 - 6. 數據處理系統：能顯示化合物的滯留時間及尖峰面積之定性及定量系統。
- (八) 固相萃取管匣(膜)：吸附量約 400 mg 之 Sep-Pak AC2 Plus 或同級品。
- (九) 針頭式過濾膜：孔徑 0.22 μm (含)以下，直徑 13 mm，PVDF 材質。
- (十) 蠕動幫浦：Gilson Minipuls 3 型；或其他類似之蠕動幫浦，可調整流率。
- (十一) 抽氣幫浦。
- (十二) pH 試紙或 pH 測定儀：測量 pH 範圍 1 至 14。
- (十三) 氮氣吹乾裝置：可調整氮氣吹出量。
- (十四) 塑膠針筒及針頭：1 mL 或以上。
- (十五) 濾膜：孔徑 1 μm 、4 μm 或其他適合孔徑，建議直徑為 47 mm。
- (十六) 冷藏設施：儲放樣品，溫度可達 4°C 以下。
- (十七) 冷凍設施：儲放標準品，溫度可達 -10°C 以下。
- (十八) 離心機：離心力可達 900 \times g 以上 (註2)，具冷卻系統。

五、試劑

- (一) 試劑水：不含待測化合物之去離子水。
- (二) 甲醇(Methanol)、乙腈(Acetonitrile)、異丙醇(Isopropanol)、甲酸(Formic acid)、氨水(Ammonia)：LC 級或 LC/MS 級。
- (三) 正己烷(n-Hexane)：殘量級或以上。
- (四) 酸性混合溶劑：取乙腈 85 mL、甲醇 12 mL、試劑水 3 mL 與甲酸 0.5 mL 混合而得。
- (五) 含 0.5% 甲酸之甲醇：取甲酸 0.5 mL，加甲醇至 100 mL。
- (六) 含 0.5%甲酸的異丙醇：取甲酸 0.5 mL，加異丙醇至 100 mL。
- (七) 含 0.1%甲酸的試劑水：作為移動相 A，取甲酸 0.1 mL，加試劑水至 100 mL，使用當天配製。
- (八) 含 0.1%甲酸的乙腈：作為移動相 B，取甲酸 0.1 mL，加乙腈至 100 mL，使用當天配製。
- (九) 含 0.5%甲酸的乙腈：作為稀釋溶劑，取甲酸 0.5 mL，加乙腈至 100 mL。
- (十) 抗壞血酸(Ascorbic acid)：試藥級。
- (十一) 標準溶液可用高純度標準品配製或市售可追溯濃度證明文件之溶液。

1. 儲備標準溶液：稱取約 10 mg（精稱至 0.1 mg）各待測化合物標準品，並分別以適當量的甲醇定容至 10 mL；若該化合物的純度為 96%或更高時，則所稱之重量，可直接計算儲備標準溶液之濃度，而不需考慮因標準品純度不足 100%所造成之誤差。
2. 工作標準溶液：將儲備標準溶液以適當溶劑（註 3）稀釋，配製成所需單一或混合化合物之工作標準溶液（2-甲氧基-1-丙醇配製濃度為 10 mg/L，其他化合物配製濃度為 1 mg/L），貯存於標準品瓶，於 -10°C 以下保存。

- (十二) 內標準品溶液：內標準品名稱如表一，各化合物對應之內標準品如表二。

1. 儲備內標準品溶液：稱取約 10 mg（精稱至 0.1 mg）內標準品，並分別以適當量的甲醇定容至 10 mL；若該化合物的純度為 96%或更高時，則所稱之重量，可直接計算儲備標準溶液之濃度，而不需考慮因標準品純度不足 100%所造成之誤差；或購買市售可追溯濃度證明文件之標準溶液。
2. 工作內標準品溶液：將儲備內標準品溶液以適當溶劑（註 3）

稀釋，配製成所需單一或混合化合物之工作內標準品溶液（配製濃度為 1 mg/L），貯存於標準品瓶，於 -10°C 以下保存。

六、採樣與保存

- (一) 採樣方法可參考本署公告之飲用水水質採樣方法 NIEA W101.5、監測井地下水採樣方法 NIEA W103.5、河川、湖泊及水庫水質採樣方法 NIEA W104.5、事業放流水採樣方法 NIEA W109.5 等相關水質樣品採樣方法。
- (二) 以樣品瓶採集水樣後保存於 4°C ± 2°C，14 天內完成分析。
- (三) 含餘氯水樣每公升需加入 100 mg 抗壞血酸。

七、步驟

- (一) 本方法係使用內標準法定量之效能基準(Performance-based) 分析方法，分析人員可依使用固相萃接管匣、前處理程序、液相層析儀、層析管柱及串聯式質譜儀之不同，適當修改本方法之檢測程序，修改後之方法其執行檢測所有步驟及程序，應符合本方法品質管制規範。

(二) 檢量線製備

1. 檢量線建立：

- (1) 逆相層析法：配製至少 5 種不同濃度之化合物標準品於試劑水中，N-甲基吡咯烷酮、二乙二醇二甲醚、二甲基乙醯胺濃度範圍為 2 µg/L 至 50 µg/L，2-甲氧基-1-丙醇濃度範圍為 10 µg/L 至 500 µg/L，內標準品濃度為 10 µg/L，依個別化合物感度適當調整之。
- (2) 親水性作用液相層析法：配製至少 5 種不同濃度之化合物標準品於含 0.5% 甲酸的乙腈中，N-甲基甲醯胺濃度範圍為 1 µg/L 至 50 µg/L，內標準品濃度為 10 µg/L，依個別化合物感度適當調整之。（註 4）

2. 以線性迴歸法製作檢量線（註 5），其線性相關係數(Correlation coefficient, r)，必須大於或等於 0.99。

3. 檢量線確認：檢量線製備完成後，應以第二來源標準品(若無第二來源標準品且無不同批號標準品時時，至少應使用另一獨立配製之標準品) 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 ±30%。

(三) 樣品前處理

1. 取 10 mL 或適量體積樣品。
 2. 查核樣品與添加樣品加入2-甲氧基-1-丙醇濃度100 mg/L、其他化合物濃度10 mg/L之標準品溶液 10 μ L (註3)，每個樣品添加濃度 10 mg/L之內標準品溶液 10 μ L (註3)。
 3. 以 pH 試紙或 pH 測定儀量測樣品，若樣品 pH 值未落在 7 至 8，以甲酸或氨水調整至7至8。
 4. 樣品中如果含有微粒或是懸浮物時，可將樣品倒入離心管中，以 900 \times g 離心(溫度控制 4 $^{\circ}$ C \pm 2 $^{\circ}$ C)，離心約 15 分鐘，或通過濾膜以真空抽引過濾。
 5. 固相萃取：
 - (1) 固相萃取管分別以 6 mL 含 0.5% 甲酸之異丙醇及 6 mL 含 0.5% 甲酸之甲醇流洗一次後，再以6 mL 試劑水流洗一次。
 - (2) 樣品以大約每秒一滴之流率流經固相萃取匣。
 - (3) 續以 6 mL 之試劑水清洗固相萃取匣，抽乾固相萃取匣約 5 分鐘，再以 6 mL 正己烷清洗固相萃取匣，抽乾固相萃取匣約 5 分鐘。
 - (4) 固相萃取匣內加入酸性混合溶劑約 8 mL 進行沖提，收集沖提液，以酸性混合溶劑定容至 10 mL。
 - (5) 定容之萃液分成兩管各 5 mL，作為逆相層析法與親水性作用液相層析法使用。
 - (6) 逆相層析法：萃液續吹氮至約 0.25 mL，以試劑水定容至 5 mL，再以過濾膜過濾，以逆相層析法之液相層析串聯式質譜儀分析。
 - (7) 親水性作用液相層析法：萃液續吹氮至約 0.25 mL，以含 0.5% 甲酸的乙腈定容至 5 mL，再以過濾膜過濾，以親水性作用之液相層析串聯式質譜儀分析。
- (四) 液相層析串聯式質譜儀參考條件如下，可依實際需要適當調整之：
1. 逆相層析法(Reversed-phase chromatography)：用於二乙二醇二甲醚、二甲基乙醯胺、N-甲基吡咯烷酮與 2-甲氧基-1-丙醇之檢測
 - (1) 管柱：Hypersil Gold PFP 管柱，1.9 μ m (粒徑)，2.1 mm (內徑) \times 100 mm (長度)或同級品。
 - (2) 移動相組成與梯度

移動相 A：含 0.1% 甲酸的試劑水

移動相 B：含 0.1% 甲酸的乙腈

時間(分鐘)	移動相A (%)	移動相B (%)
0	98	2
1.5	90	10
5	50	50
6	2	98
10	2	98
11	98	2
15	98	2

(3) 流率：0.3 mL/min。

(4) 樣品注入量：5 μ L。

(5) 管柱溫度：40°C。

2. 親水性作用液相層析法 (Hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC)：用於 N-甲基甲醯胺之檢測 (註 4)

(1) 管柱：CORTECS HILIC 管柱，1.6 μ m(粒徑)，2.1 mm (內徑) \times 100 mm(長度) 或同級品。

(2) 移動相組成與梯度

移動 A：含 0.1% 甲酸的試劑水

移動 B：含 0.1% 甲酸的乙腈

時間(分鐘)	移動相A (%)	移動相B (%)
0	3	97
2.4	3	97

3.5	60	40
5.5	60	40
6	3	97
10	3	97

(3) 流率：0.25 mL/min。

(4) 樣品注入量：5 μ L。

(5) 管柱溫度：40°C。

3. 正電荷模式串聯式質譜儀條件(電噴灑法)：

(1) 離子噴灑電壓(Ion spray voltage)：5.2 kV。

(2) 氣簾氣體(Curtain gas)：30 psi。

(3) 霧化氣體(Ion source gas 1)：55 psi。

(4) 加熱氣體(Ion source gas 2)：55 psi。

(5) 加熱溫度(Temperature)：600°C。

(6) 碰撞氣體(Collision gas)：Medium。

(7) 質譜參數如表三。

(五) 定性與定量準則

1. 使用液相層析串聯質譜系統之多重反應監測模式(Multiple reaction monitoring mode, MRM)，前驅/產物離子對如表三所示。對每一種化合物監測其前驅/產物離子對兩對，以其中感度較高的前驅/產物離子對作為定量，第二前驅/產物離子對作為定性的依據。多重反應監測模式下前驅/產物離子對層析圖如圖一與圖二所示。
2. 化合物之滯留時間須落在當天標準品或添加樣品化合物之滯留時間 $\pm 2.5\%$ 範圍之內。
3. 化合物之兩監測前驅/產物離子對(積分面積或高度)的相對比率(Ion ratio)須落在可接受的離子比例範圍之內(如表四所示)，其相對比率須以檢量線查核分析或品管樣品的前驅/產物離子對的比例為基準計算之。
4. 本方法為內標準法定量，當樣品化合物濃度超過檢量線，重新

取較少樣品量，經前處理後上機分析。

5.樣品於前處理前內標準品添加量須與檢量線內標準品添加量一致。

八、結果處理：

$$C_w = (C \times V \times D) / M$$

其中

C_w ：水樣濃度 ($\mu\text{g/L}$)

C ：由檢量線求得之待測物檢出濃度 ($\mu\text{g/L}$)

V ：定容體積 (mL)

M ：樣品取樣體積 (mL)

D ：稀釋倍數

九、品質管制

- (一) 檢量線查核：每批次或每 12 小時執行檢量線查核，完成樣品分析後應再執行檢量線之查核，所測得濃度之相對誤差值應在 $\pm 30\%$ 以內。
- (二) 空白樣品分析：每批次或每 10 個樣品，應執行空白樣品分析，空白樣品分析值應小於 2 倍方法偵測極限。
- (三) 重複樣品分析：每批次或每 10 個樣品，應執行重複樣品分析，其相對差異百分比應在 30% 以內。
- (四) 查核樣品分析：每批次或每 10 個樣品，應執行查核樣品分析，其回收率範圍 60% 至 140%。
- (五) 添加樣品分析：每批次或每 10 個樣品，應執行添加樣品分析，其回收率範圍 50% 至 150%。

十、精密度與準確度

單一實驗室查核及添加樣品分析之精密度與準確度的結果如表五。

十一、參考資料

- (一) 行政院環境保護署，EPA154108003，事業放流水中較難檢測之有機物質檢測技術開發，中華民國 108 年。
- (二) 行政院環境保護署，水中丙烯醯胺檢測方法—固相萃取與高效液相層析／串聯式質譜儀法，NIEA W544.50B，中華民國 101 年。

註1：可純化有機溶劑如乙腈與甲醇以降低背景干擾，使用減壓濃縮機以 770 mBar、82°C 減壓濃縮乙腈，770 mBar、65°C 減壓濃縮甲

醇，開始蒸出1/10體積棄置不要後再開始收集，另受熱端不要蒸乾(約留1/5體積，棄置之)，此法可得約7/10體積的純化乙腈或純化甲醇。

註2：離心力(g)與離心機轉速之關係，如下列公式：

$$\text{離心力(g)} = 1.118 \times (\text{rpm})^2 \times R \times 10^{-5}$$

式中 rpm為離心機每分鐘轉速、R為離心機轉子半徑以公分(cm)表示。

註3：添加於查核與添加樣品之標準品溶液，其適當溶劑為試劑水。

註4：若使用之分析設備N-甲基甲醯胺於逆相層析法之兩對前驅/產物離子對背景訊號低並靈敏度高，可使用逆相層析法分析。惟使用逆相層析法分析之化合物，應以逆相層析法為優先選擇。

註5：為避免低濃度之偏差，可使用 1/x 加權進行校正，以提高低濃度數值之準確性。

註6：本文引用之公告方法名稱及編碼，以行政院環境保護署最新公告者為準。

表一 化合物與內標準品名稱

化合物名稱	英文名稱	CAS No.	簡寫
2-甲氧基-1-丙醇	2-Methoxy-1-propanol	1589-47-5	MP
二甲基乙醯胺	Dimethylacetamide	127-19-5	DMAC
N-甲基吡咯烷酮	1-Methyl-2-pyrrolidone	872-50-4	NMP
二乙二醇二甲醚	Diethylene glycol dimethyl ether	111-96-6	Diglyme
N-甲基甲醯胺	N-methylformamide	123-39-7	NMF
N-甲基吡咯烷酮-d ₉ (內標)	1-Methyl-2-pyrrolidone-d ₉	-	NMP-d ₉
二乙二醇二甲醚-d ₁₄ (內標)	Diethylene glycol dimethyl ether-d ₁₄	38086-00-9	Diglyme-d ₁₄
N-甲基甲醯胺-d ₃ (內標)	N-Methyl-d ₃ -formamide	-	NMF-d ₃

表二 化合物與內標準品對應表

化合物名稱	內標準品
2-甲氧基-1-丙醇	N-甲基吡咯烷酮-d ₉
二甲基乙醯胺	N-甲基吡咯烷酮-d ₉
N-甲基吡咯烷酮	N-甲基吡咯烷酮-d ₉
二乙二醇二甲醚	二乙二醇二甲醚-d ₁₄
N-甲基甲醯胺	N-甲基甲醯胺-d ₃

表三 前驅/產物離子對質譜參數

化合物	前驅離子	產物離子	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP(V)
2-甲氧基-1-丙醇	91	59	36	10	9	9
	91	31	36	10	21	15
二甲基乙醯胺	88	46	90	10	17	10
	88	43	90	10	26	10
N-甲基吡咯烷酮	100	58	120	10	27	10
	100	69	120	10	23	10
二乙二醇二甲醚	135	59	55	10	15	10
	135	103	55	10	9	10
N-甲基甲醯胺	60	42	80	8	15	4
	60	32	80	8	17	4
N-甲基吡咯烷酮-d ₉ (內標)	109	61	140	10	35	10
二乙二醇二甲醚-d ₁₄ (內標)	149	66	55	10	15	10
N-甲基甲醯胺-d ₃ (內標)	63	45	80	8	19	4

註：DP：Decluster Potential, EP：Entrance Potential, CE：Collision Energy, CXP：Cell Exit Potential，前述質譜參數可依實際需要適當調整之。本表使用儀器：液相層析儀(Agilent 1290 Infinity II)；串聯式質譜儀：Sciex QTRAP 5500。

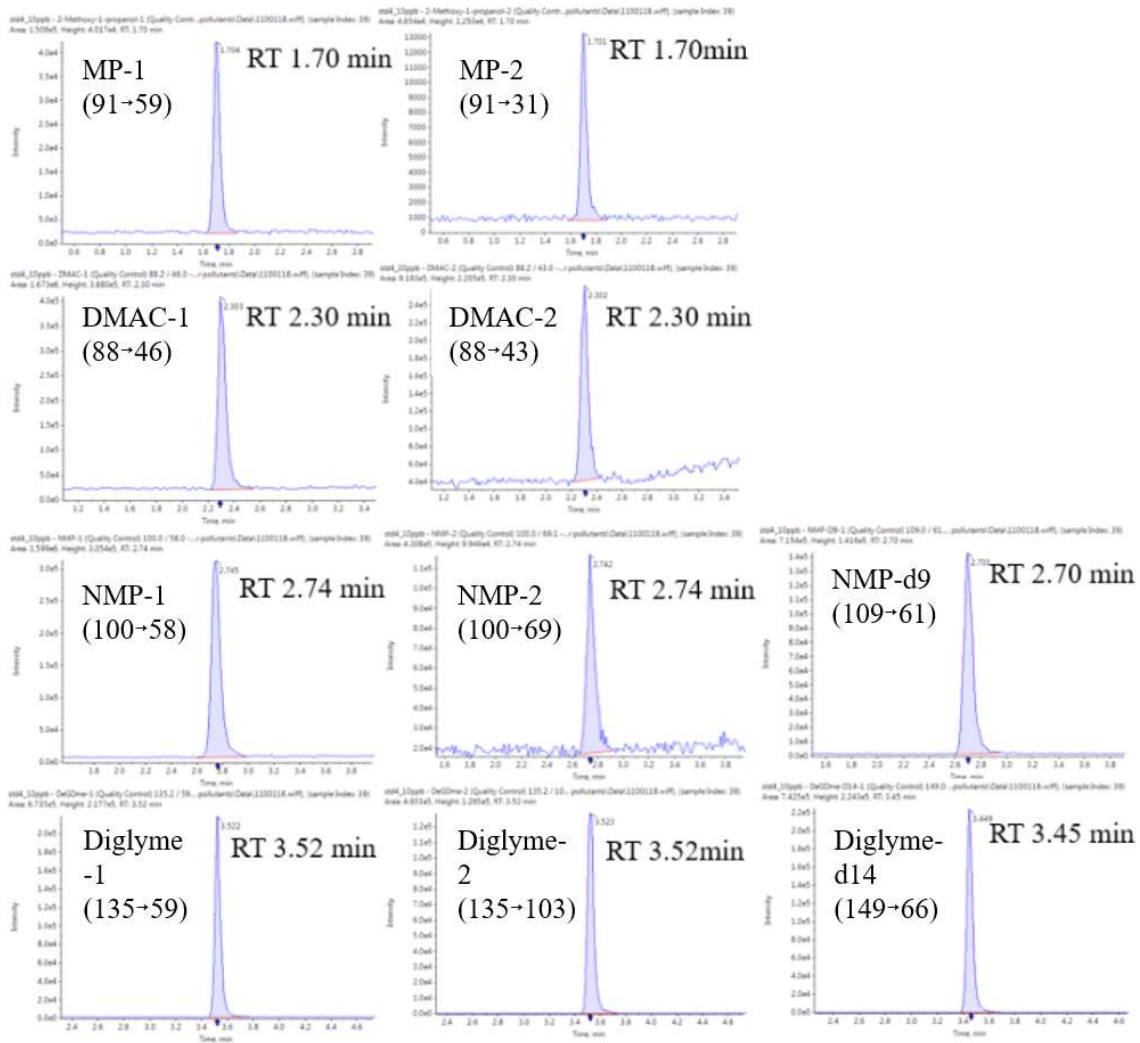
表四 LC/MS/MS 前驅/產物離子對之離子強度比率(Ion ratio)規範

相對強度 (% of Base Peak)	兩離子對比率的 最大允許誤差
>50%	±20%
>20% 至 50%	±25%
>10% 至 20%	±30%
≤10%	±50%

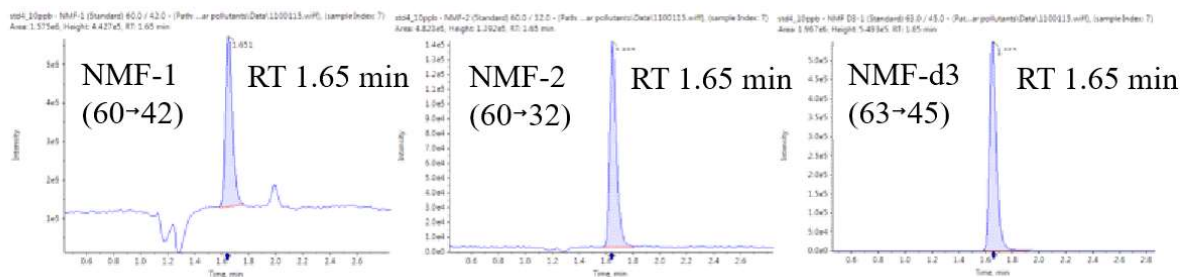
表五 單一實驗室查核及放流水添加樣品分析之精密度與準確度

化合物名稱	查核樣品回收率 (n = 6)		添加樣品回收率 (n = 7)	
	平均 (%)	標準偏差(%)	平均 (%)	標準偏差(%)
2-甲氧基-1-丙醇	83.2	6.2	98.7	13.2
二甲基乙醯胺	105.2	6.8	116.3	10.2
N-甲基吡咯烷酮	102.3	4.3	109.4	5.9
二乙二醇二甲醚	99.5	5.4	106.4	7.0
N-甲基甲醯胺	111.8	5.7	103.6	15.7

註：配製查核樣品與添加樣品濃度為 10 µg/L(2-甲氧基-1-丙醇 100 µg/L)，內標準品濃度 10 µg/L。



圖一 多重反應監測模式(MRM) 前驅/產物離子對之層析圖(逆相層析法)



圖二 多重反應監測模式(MRM) 前驅/產物離子對之層析圖(親水性作用液相層析法)