

水中壬基酚及雙酚 A 檢測方法—矽烷衍生化/氣相層析質譜儀法

中華民國 101 年 2 月 日環署檢字第 號公告
自中華民國 101 年 月 日生效
NIEA W541.50B

一、方法概要

水樣以硫酸溶液調整 pH 值小於 2 後，經液相或固相萃取、去水、濃縮及定量。取部分或全量萃取液進行矽烷衍生化，再以氣相層析質譜儀檢測樣品中壬基酚（Nonylphenol，NP）及雙酚 A（Bisphenol A，BPA）衍生物，其相關反應機制如圖一所示。矽烷衍生化合物的定性分析，以其滯留時間或特性離子進行確認，定量分析則可採外或內標準品定量法，以定量離子強度或與內標準品比例，所建立之檢量線來定量待測物。

二、適用範圍

本方法適用於飲用水、飲用水水源、地面水體、地下水及放流水中 NP 及 BPA 之檢測，其他雌激素類之醇基化合物如經驗證且符合本方法規範者亦可適用。

三、干擾

- （一）當使用的溶劑、試藥、玻璃器皿及其他樣品處理過程中的硬體設備含有污染物時，將會造成方法的干擾，其結果可能為單一的污染物或導致總離子圖譜的基線上升；檢驗室必要時可進行試劑空白分析，以確認其干擾來源。
- （二）玻璃器皿必須清洗以避免干擾；玻璃器皿使用完畢，應以溶劑淋洗，然後以清潔劑清洗，再以自來水、試劑水或有機溶劑淋洗。玻璃器皿晾乾或烘乾（僅限於非定容器皿）後，適當貯放，避免污染。
- （三）採用殘量分析級或高純度的試藥及溶劑，有助於減少干擾的問題，必要時，可將溶劑以玻璃蒸餾裝置予以純化。
- （四）液相萃取過程中發生乳化現象時，可加入適量氯化鈉、攪拌或進行連續式液-液萃取等方式去除乳化現象。

四、設備及材料

- (一) 採樣瓶：1 L，棕色玻璃材質，附螺旋瓶蓋，瓶蓋內襯為鐵氟龍墊片。若使用無色玻璃瓶，可以鋁箔紙包於瓶外，以避免照光。使用前，玻璃瓶及瓶蓋內襯應事先清洗乾淨，並以丙酮或二氯甲烷淋洗後晾乾，以避免污染。
- (二) 萃取裝置：液相萃取使用分液漏斗，2 L 或適當體積，硼矽玻璃材質，附鐵氟龍活栓，不得使用潤滑油脂。亦可使用其他連續液相萃取或固相萃取，如 HLB (Hydrophilic N-vinylpyrrolidone and Lipophilic divinylbenzene Balanced)、DVB (divinylbenzene) 或 C₁₈ (Octadecyl silica) 等材質或同級品。
- (三) 圓底燒瓶：500 mL 或適當體積，硼矽玻璃材質。
- (四) 濃縮裝置：可使用 K.-D. 濃縮裝置、減壓濃縮裝置、加熱減壓吹氮濃縮定量裝置、振盪減壓濃縮裝置、離心減壓濃縮裝置；或其他相似功能之裝置。
- (五) 烘箱裝置：可加熱至 90°C，溫度控制在 ±2°C 以內者。
- (六) 量瓶：包括 5、10、100 mL 或其他適當之玻璃定量瓶。
- (七) 分析天平：可精秤至 0.1 mg。
- (八) 注射針或微量移液管。
- (九) 氮氣及氬氣：純度為 99.999% 以上，可使用去水、去有機物及去氧之過濾裝置淨化之。
- (十) 氮氣吹乾裝置。
- (十一) pH 計。
- (十二) 除水裝置：無水硫酸鈉去水玻璃管柱、GoreTex 除水膜；或其他相似具除水功能之材料或裝置。
- (十三) 氣相層析質譜儀
 - 1. 氣相層析儀 - 具設定昇溫程式功能之氣相層析儀，以及其它必須之附件，如注射針、層析管柱及氣體等的完整分析系統。

2. 層析管柱：Rtx-5MS 30 m × 0.25 mm (內徑) × 0.25 μm (膜厚) 之毛細管柱 (或同級品)。
3. 質譜儀：當 50 ng 或更小量 DFTPP (Decafluorotriphenylphosphine) 注入氣相層析儀內，此系統必須能以每 1 秒或更短時間內掃描質量 35 – 500 amu，在 70 eV 能量下，以電子撞擊 (EI) 離子化方式，得到完全符合表一要求的質譜特徵。如果 Ion-Trap MS 能產生符合 EPA/NIST Library 相似的電子碰撞質圖譜，Ion-Trap MS 亦可使用於本方法。
4. 數據處理系統：電腦系統必須有界面與質譜儀連接，且可持續在整個層析過程中，收集並儲存所有質譜資料。此電腦系統應具有可自任何層析質譜資料檔案中搜尋特定離子，並以離子強度對時間或掃描數繪出圖譜的功能，此種圖譜稱為 Extracted ion current profile (EICP)；此外，系統還需具備適當的軟體進行積分。

(十四) 反應瓶：約 1 mL 或其他適當體積玻璃瓶，瓶底內部為尖底形狀，附有鐵氟龍墊片可緊閉之螺旋蓋。

(十五) 鋁製樣品盤：盛裝反應瓶之鋁製樣品盤，或其他類似功能之盛盤用於衍生化加熱之一致性，反應瓶與鋁製樣品盤空隙可填充少許耐熱矽油幫助導熱。

五、試劑

- (一) 試劑水：不含有機物之去離子水，或符合前述規格之市售純水。
- (二) 硫酸溶液 (1+1)：緩慢將 50 mL 濃硫酸 (比重 1.84) 加入於 50 mL 試劑水中。
- (三) 丙酮、甲醇、二氯甲烷 (DCM)：殘量級或同級品。
- (四) 矽烷化衍生試劑：N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)+1% Trimethylchlorosilane (TMCS)(v/v)，本試劑容易與水反應而降解，請注意販售商品說明書有關儲存及使用之部分 (市售品，廠牌 SUPELCO，或同級品)。
- (五) 無水硫酸鈉：試藥級。
- (六) 氯化鈉：試藥級。

- (七) 硫代硫酸鈉：顆粒狀，試藥級。
- (八) 儲備標準溶液：標準溶液可用 NP 及 BPA 高純度標準品配製或市售經認可之溶液。
1. 精確稱取約 0.0100 g 之高純度標準品，以二氯甲烷或適當溶劑溶解此標準品於 10 mL 的定量瓶中，並定容至刻度；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。任何濃度之市售標準品，經製造商確認過，皆可使用。
 2. 將儲備標準溶液移至襯有鐵氟龍墊片之螺旋蓋樣品瓶中，貯存在 -10°C 以下，並避免光線照射；分析員應經常檢查儲備標準溶液有無衰退或溶劑蒸發的跡象，尤其是每次在使用此標準溶液建立檢量線前應格外注意。
- (九) 中間標準溶液之配製：將儲備標準溶液以二氯甲烷稀釋，建議配製成 1~10 mg/L 單一或混合化合物之中間標準溶液。
- (十) 擬似標準品溶液：4-n-壬基酚 (4-n-Nonylphenol, 4-n-NP) 及雙酚 A-d₁₆ (Bisphenol A-d₁₆, BPA-d₁₆) 之高純度標準品。
- (十一) 中間擬似標準品溶液：4-n-NP 及 BPA-d₁₆ 之高純度標準品，以丙酮或適當溶劑配製擬似標準品中間標準溶液，添加適量體積於水樣中，使其最後儀器偵測濃度相當於 200 $\mu\text{g/L}$ (建議濃度)。BPA-d₁₆ 亦可轉為內標準品使用，用來補償校正 BPA 在萃取及衍生化所產生效率差異。
- (十二) 內標準品溶液：購買市售標準品濃度約 2000 mg/L，含 Phenanthrene-d₁₀。以二氯甲烷 (或其他適當溶劑) 稀釋，建議配製成 1 mg/L 內標準品溶液作為最後儀器偵測定容用之稀釋溶液。
- (十三) DFTPP 標準溶液：以二氯甲烷或適當溶劑，配製濃度為 50 mg/L 或更低濃度的 DFTPP 溶液。

六、採樣及保存

水樣以乾淨之棕色玻璃採樣瓶收集 1 L 以上(採樣瓶不得以擬採之水預洗)。在採集後到萃取前，必須冷藏在 $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下；如水樣中含有餘

氣，可將採樣瓶裝滿樣品後，每公升樣品加入 80 mg 硫代硫酸鈉，並混合均勻。水樣必須在採集後 7 天之內萃取，並在萃取後 40 天內完成分析，萃取液裝於密閉玻璃瓶，要避光並儲存於 -10°C 以下。

七、步驟

(一) 氣相層析質譜儀分析條件如下（僅供參考，可視實際需要適當調整之）：

層析管：Rtx-5MS 30 m \times 0.25 mm（內徑） \times 0.25 μm （膜厚）之毛細管柱（或同級品）。

注入器溫度： 300°C （不分流，注入 1 μL ）。

傳輸管溫度： 280°C 。

層析管溫度：最初 100°C 保持 2 分鐘，以每分鐘 10°C 從 40°C 升溫至 250°C ，再以每分鐘 5°C 從 250°C 升溫至 300°C ，保持 5 分鐘。

載流氣體（氦氣）流速：1.0 mL/分鐘。

選擇離子偵測模式（SIM mode）：質譜儀只對幾個預先選定的定量離子做掃描，如表二所列的定量離子；次要離子可選擇性的加入或刪除，其相關總離子圖，如圖二所示。如對化合物有定性分析需求時，亦可使用全質譜（40~450 m/z）掃描模式，但偵測感度會下降。有些較新機型可進行掃描及選擇離子偵測模式同時進行，可視實際需要適當調整之。

掃描時間：每個波峰至少有 5 筆掃描數據，且每次掃描不超過 1 秒鐘。

離子化方式：電子撞擊法（70 eV EI）。

(二) 樣品前處理

水樣可使用液相萃取、連續液相萃取或固相萃取，以下為液相萃取過程可供參考。

1. 萃取：在水樣瓶上標示水平刻度（以試劑水推算分析水樣之體積），將全量水樣倒入 2 L 之分液漏斗中，添加適當濃度之擬似

標準品，以 (1+1) 硫酸調 pH 值小於 2 後，量取 60 mL 二氯甲烷，倒入採樣瓶內沖洗之，然後將洗液倒入分液漏斗，搖動一分鐘，靜置，水樣分層後，收集有機層於三角瓶，重覆二氯甲烷萃取步驟二次，有機層合併收集於三角瓶中。

2. 去水：萃取液可用以下方式除水。

(1) 無水硫酸鈉去水管柱除水：

置少許玻璃棉於去水玻璃管柱底部，然後加入 5 至 10 cm 高之無水硫酸鈉，將有機萃取液通過此去水玻璃管，收集於圓底燒瓶；再以 20 至 30 mL 之二氯甲烷沖洗三角瓶及玻璃管，合併洗液於濃縮瓶。

(2) 除水膜去水：如 Goretex 除水膜。

(3) 其他類似除水功能之材料或裝置。

3. 濃縮萃取液及衍生化樣品準備

以濃縮裝置濃縮萃取液至適當體積。取全量或部份濃縮萃取液（如取部份則計算其比例，並標記為 F ，以為後續計算濃度之用），分別注入反應瓶中，與檢量線標準溶液同時進行矽烷衍生化反應。

(三) 檢量線標準溶液配製

1. 配製至少 5 種不同濃度之檢量線標準溶液（以最後內標準品溶液定容體積計算；NP 建議濃度為 0.1 ~ 2 mg/L，BPA 建議濃度為 0.02 ~ 2 mg/L）。取適量系列體積之中間標準溶液及中間擬似標準品溶液，分別注入反應瓶中，依步驟七、(四) 與樣品同時進行矽烷衍生化反應。

2. 檢量線製備之同時，應以第二來源之標準品配製接近檢量線中點濃度之標準品（若無第二來源標準品時，至少應使用另一獨立配製之標準品），依標準品相同步驟分析，執行檢量線確認，檢量線確認之相對誤差值應在 $\pm 30\%$ 以內。

(四) 矽烷衍生化步驟

1. 將置於反應瓶中的檢量線標準溶液及樣品（來自步驟七、（二）、3 及步驟七、（三）），以氮氣流緩慢吹乾後，加入 100 μL 矽烷化衍生試劑，蓋上瓶蓋，放入鋁製樣品盤中（樣品盤可先於烘箱內預熱穩定）置於烘箱內保持溫度在 80°C 反應 30 分鐘，讓分析物完成矽烷化衍生反應。矽烷化衍生試劑易與氧氣及水分反應，盡量於同一時間加入相同之衍生試劑，以確保所有樣品之衍生效率一致。
2. 待反應完成後，靜置於室溫下冷卻，再以氮氣氣流緩慢吹至近乾，最後以 200 μL （或其他體積）的內標準品溶液（DCM 或其他適當溶劑）注入反應瓶溶解殘留物質，混合均勻的溶液等待儀器偵測。
3. 相關分析流程如圖三所示。

（五） 績效測試及建立檢量線

1. DFTPP 績效測試：以氣相層析質譜儀進行分析前，應先分析 50 ng 或更小量之 DFTPP，確定其質譜能符合表一之要求。此一分析應每 12 小時執行乙次。
2. 將矽烷衍生化後之檢量線標準溶液（來自步驟七、（四）），注入 1 μL （建議值）於氣相層析質譜儀中，以尖峰感應訊號面積或高度對化合物濃度及內標準品濃度計算感應因子。

依下式計算感應因子（Response factor, RF, 如未使用內標準品，相關係數不列入計算）：

$$\text{RF} = \frac{(A_s)(C_{is})}{(A_{is})(C_s)}$$

- 其中：
- A_s = 化合物特性離子之感應訊號
 - A_{is} = 內標準品特性離子之感應訊號
 - C_{is} = 內標準品之濃度 (mg/L)
 - C_s = 化合物之濃度 (mg/L)

在工作之濃度範圍內，若感應因子之相對標準偏差小於 25%，則

可以平均感應因子作定量分析。

$$RSD(\%) = \frac{SD}{\overline{RF}} \times 100$$

其中 RSD : 相對標準偏差

\overline{RF} : 檢量線標準溶液中每一個化合物的平均感應因子

$$\overline{RF} = \frac{\sum_{i=1}^n RF_i}{N}$$

RF_i : 檢量線標準溶液中，每一種濃度的感應因子

SD : 每一化合物平均感應因子的標準偏差

3. 線性：若每一化合物之 RSD% 小於 25% 則其相對感應因子在其校正濃度範圍內可視為常數，如此可用平均感應因子進行定量。若某一化合物之 RSD% 大於 25% ，則以訊號比 (A/A_{is}) 對濃度之一次或高次迴歸方式，繪製至少 5 點的校正濃度圖，其相關係數需大於或等於 0.99，使其定量時誤差最小。

(六) 樣品分析

1. 以和建立檢量線相同之氣相層析質譜儀操作條件分析樣品。
2. 若樣品分析之濃度超過檢量線濃度範圍，則應將最後定容之混合液以溶劑稀釋後，重新分析（此時檢量線建議以外標準法定量）。

八、結果與處理

樣品中待測物的相對滯留時間 (Relative retention time, RRT) 必須在標準品 RRT 的 $\pm 6\%$ 單位之內。

相對滯留時間的計算方式如下：

$$RRT = \frac{RT_x}{RT_{is}}$$

其中 RT_x : 待測物滯留時間

RT_{is} : 相對應內標準品滯留時間

表二中所列化合物之定量離子來對其 EICP(Extracted ion current profile)圖譜積分定量，如果定量離子在樣品中遭受干擾，可採用次要特性離子來定量。待測物濃度計算方式如下：

(一) RSD% 小於 25% 時，使用內標準法定量（如未使用內標準品，相關係數不列入計算）：

$$\text{濃度}(\mu\text{g}/\text{L}) = \frac{(A_s)(C_{is})(V_{ex})}{(A_{is})(\overline{RF})(V_o)(F)}$$

其中：

A_s = 待測化合物特性離子之感應訊號

A_{is} = 內標準品特性離子之感應訊號

C_{is} = 內標準品之濃度 (mg/L)

V_o = 萃取水樣之體積 (L)

V_{ex} = 最後溶解矽烷化衍生物之定容體積 (mL)

F = 用來衍生物的萃取濃縮液比例，如萃取濃縮液半量作衍生物，其比例為 0.5

\overline{RF} = 平均感應因子

(二) RSD% 大於 25% 時，使用一次或高次迴歸之曲線定量(其相關係數需大於或等於 0.99)：

$$\text{濃度}(\mu\text{g}/\text{L}) = \frac{(C_{ex})(V_{ex})}{(V_o)(F)}$$

其中：

C_{ex} = 一次或高次迴歸曲線計算出之萃取液濃度 (mg/L)

V_o = 萃取水樣之體積 (L)

V_{ex} = 最後溶解矽烷化衍生物之定容體積(mL)

F = 用來衍生化的萃取濃縮液比例，如萃取濃縮液半量作衍生化，其比例為 0.5

九、品質管制

- (一) 儀器調整及校正：層析質譜儀必須能達到第七、(五)節所述之品管要求。
- (二) 空白樣品分析：每批次樣品(當該批樣品少於 20 個時)或每 20 個樣品至少執行一個空白分析，空白樣品分析值應小於 2 倍方法偵測極限。
- (三) 查核樣品分析：分析以空白樣品為基質，且加入適量的標準溶液及擬似標準溶液，計算其回收率；其頻率為每一批次或每 20 個樣品執行一個查核樣品分析。
- (四) 重複樣品分析：每一批次或每 20 個樣品執行一個重複樣品分析。
- (五) 添加樣品分析：添加適量標準溶液及擬似標準溶液到真實樣品中，其頻率為每一批次或每 20 個樣品中應做一個樣品添加，並計算其回收率。
- (六) 擬似標準品的回收率：實驗室應評估每個樣品中擬似標準品的回收率，並與本身所建立的品管要求比較，觀察有無異常情況出現。

十、準確度及精密度

表三為單一實驗室檢測之精密度及準確度。

十一、參考資料

- (一) 行政院環境保護署，水中半揮發性有機化合物檢測方法—氣相層析質譜儀法，NIEA W801.52B。
- (二) D.R. Knapp Handbook of Analytical Derivatization Reactions John Wiley & Sons, New York, 1979.
- (三) 劉鎮山、陳怡如、蕭美琪及翁英明等，水中壬基酚及雙酚A檢測方法調查與開發，環保署環境檢驗所調查研究年報第十八號，2011。
- (四) 郭翰文及丁望賢，以氣相及液相層析質譜儀分析具荷爾蒙效應物

質之方法開發，國立中央大學化學研究所碩士論文， 2004。

註：本檢驗相關樣品廢液，依含鹵素有機溶劑廢液處理。

表一 DFTPP 質量強度要求標準

質量	強度標準
51	質量 198 的 30~60%
68	小於質量 69 的 2%
70	小於質量 69 的 2%
127	質量 198 的 40~60%
197	小於質量 198 的 1%
198	最大尖峰，100% 相對強度
199	質量 198 的 5~9%
275	質量 198 的 10~30%
365	大於質量 198 的 1%
441	存在但小於質量 443
442	大於質量 198 的 40%
443	質量 442 的 17~23%

表二 NP及BPA矽烷衍生化合物的定量及次要離子

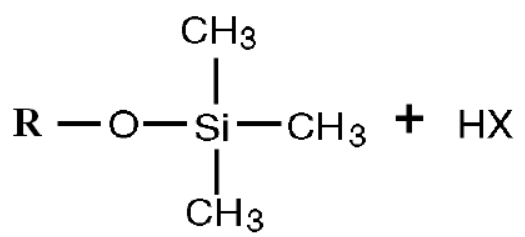
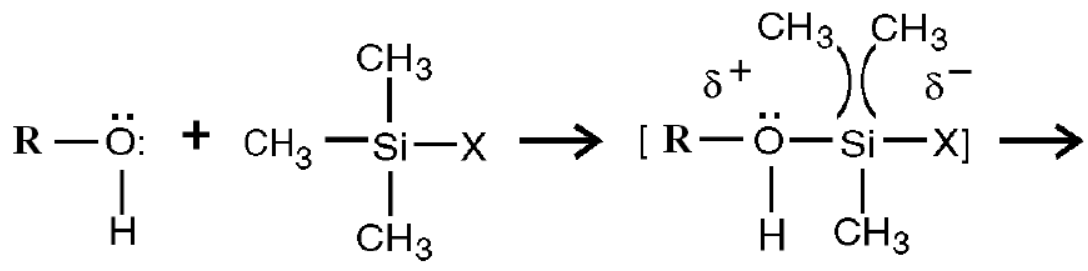
化合物中文名稱	化合物英文名稱	CAS No.	滯留時間 (分)	定量離子 (m/z)	次要離子 (m/z)
菲-d ₁₀ (IS)	Phenanthrene-d ₁₀ (IS)		13.233	188	189
壬基酚	Nonylphenol	25154-52-3 84852-15-3	12.533 ~13.230	179	207,292, 221,235
4-n-壬基酚(surr.)	4-n- Nonylphenol(surr.)		14.524	179	292
雙酚 A-d ₁₆ (surr.)	Bisphenol A-d ₁₆ (surr.)		17.142	368	386
雙酚 A	Bisphenol A	80-05-7	17.222	357	372

註： 1. IS 代表內標準品； surr. 代表疑似標準品
 2. 其分析條件請參考七、步驟（一）中所示。
 3. 壬基酚具多個結構異構物，GC/MS 分析層析圖為一個寬帶，積分時，將壬基酚滯留時間範圍內之 m/z 為 179 的定量離子面積加總，依七、(五)2.計算得 RF 值。

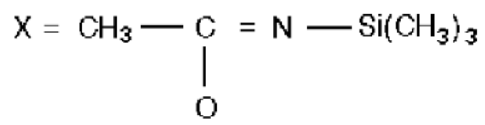
表三 單一實驗室添加於試劑水之精密度與準確度

化合物	樣品濃度 ($\mu\text{g/L}$)	平均回收率 (%)	百分標準偏差 (%)	分析次數
壬基酚	0.3	63	13	4
雙酚A	0.3	77	8	4
4-n-壬基酚(surr.)	0.3	81	21	4
雙酚A-d ₁₆ (surr.)	0.3	88	28	4

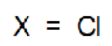
註：使用固相萃取碟萃取（1 L 水樣濃縮至 1 mL）及 Goretex 除水膜去水，其他分析條件請參考七、步驟。



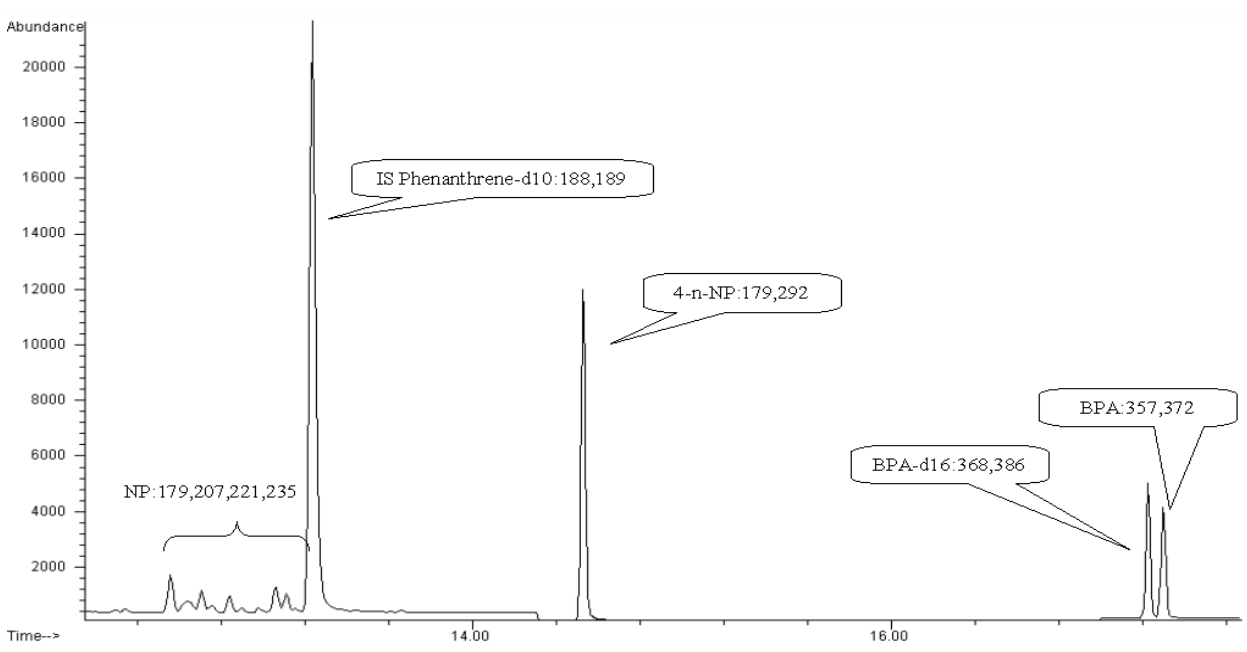
For BSTFA



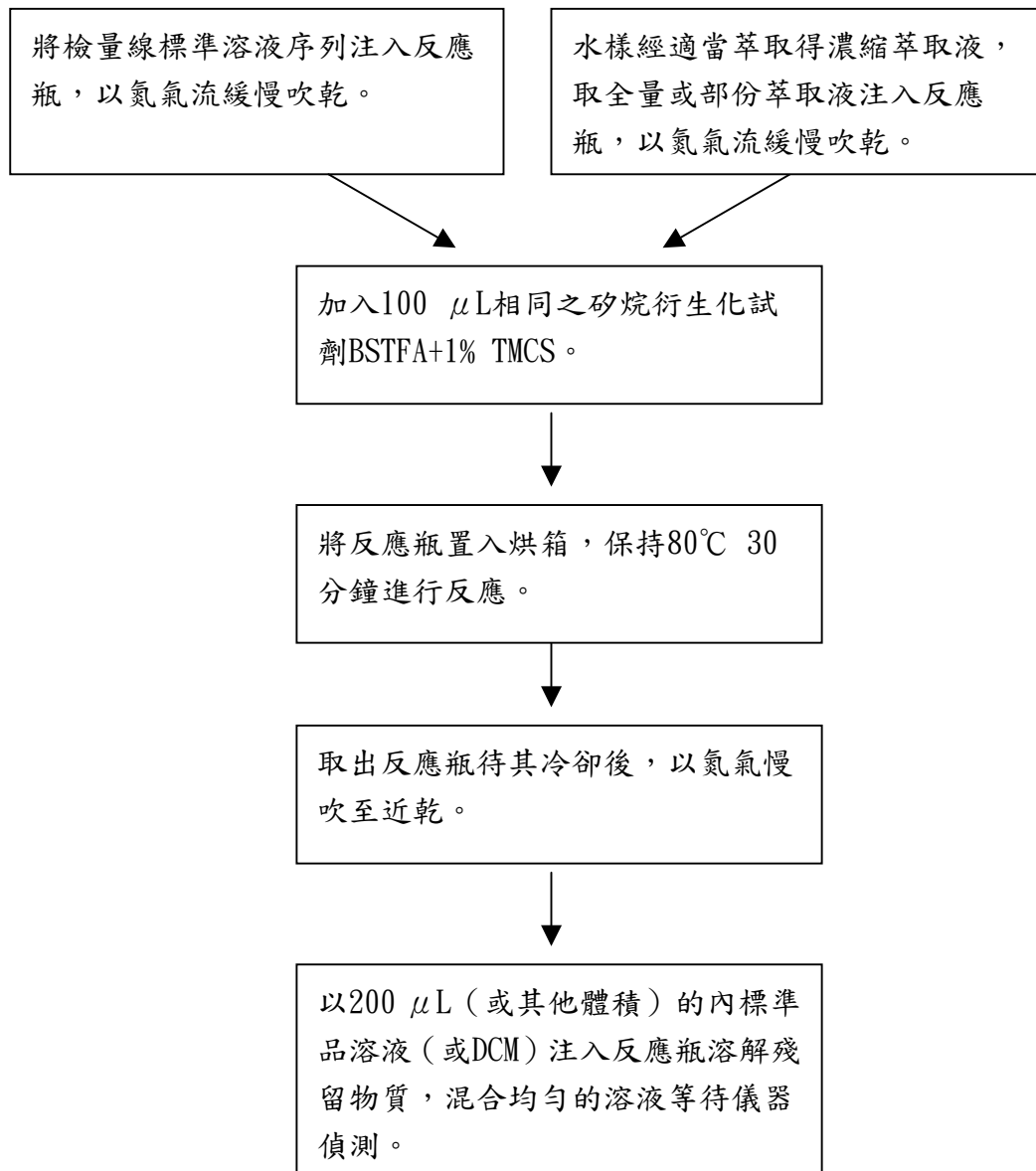
For TMCS



圖一 醇基類化合物矽烷衍生化反應機制 (R 為化合物其他結構式)



圖二 壬基酚及雙酚A矽烷化衍生物，其選擇離子模式之總離子圖譜，分析條件請參考七、步驟(一)。



圖三 壬基酚及雙酚 A 等醇基化合物矽烷衍生化檢測流程圖