

醛酮類化合物檢測方法—高效能液相層析法

中華民國89年8月29日(89)環署檢字第48966號公告
自中華民國89年11月29日起實施
NIEA R502.10C

中華民國91年3月5日環署檢字第0910014627號公告修正為NIEA R502.11C

一、方法概要

本方法用以檢測非氣體基質中具游離醛酮基(free carbonyl)化合物。固態樣品萃取液或水樣經過濾後，在 40 °C 下與 2,4-二硝基苯肼(2,4-dinitrophenylhydrazine, DNPH) 反應，生成相對應之 DNPH 衍生物，經 C₁₈ 管柱萃取或二氯甲烷液相—液相萃取及濃縮後，取適當體積注入高效液相層析儀(HPLC)。使用逆相層析管柱及梯度沖提分離出各種醛類與酮類之 DNPH 衍生物，用紫外光偵測器在 360 nm 之波長測其吸收強度，進行目標待測物的確認與定量。

二、適用範圍

(一) 本方法適用於水樣、土壤、廢棄物、及毒性化學物質樣品檢測。各目標待測物列出如下：

| 待測物 | CAS No. ^a |
|--------------------------------|----------------------|
| 甲醛 (Formaldehyde) | 50-00-0 |
| 乙醛 (Acetaldehyde) | 75-07-0 |
| 丙醛 (Propanal, Propionaldehyde) | 123-38-6 |
| 巴豆醛 (Crotonaldehyde) | 123-73-9 |
| 丁醛 (Butanal, Butyraldehyde) | 123-72-8 |
| 環己酮 (Cyclohexanone) | 108-94-1 |
| 戊醛 (Pentanal, Valeraldehyde) | 110-62-3 |
| 己醛 (Hexanal, Hexaldehyde) | 66-25-1 |
| 庚醛 (Heptanal) | 111-71-7 |
| 辛醛 (Octanal) | 124-13-0 |
| 壬醛 (Nonanal) | 124-19-6 |
| 癸醛 (Decanal) | 112-31-2 |

註： a 化學文摘社登記號碼。

(二) 方法偵測極限列在表一及表二。視樣品基質干擾情形及步驟中所使用的樣品體積，各樣品的方法偵測極限，可能與

表中所列之值不同。

三、干擾

- (一) 方法的干擾可能源自於溶劑、試劑、玻璃器皿和樣品處理用設備的污染，導致隨機干擾，或使層析圖譜的基線升高，因此必須使用相同的檢測條件設定，依七、(四)節步驟執行實驗室內試劑及器皿之方法空白檢測，以確定無干擾物存在。
1. 玻璃器皿必須絕對潔淨，使用後必須立即以最後所使用的溶劑沖洗，接著用清潔劑和熱水清洗，再用自來水和不含有機物的試劑水清洗，清洗完成後，晾乾並乾燥之，使用前再於 130 °C 烘箱中烘 2-3 小時。乙腈的沖洗步驟可以烘箱烘烤步驟取代，不可用甲醇或丙酮清洗玻璃器皿，因這些溶劑會與 DNPH 反應而生成干擾物。於乾燥並冷卻後，玻璃器皿應保存於一潔淨區域，避免灰塵堆積或其他污染物的污染。
 2. 使用高純度試劑和溶劑可減少干擾，並可使用全玻璃蒸餾系統蒸餾純化溶劑。
 3. 當執行矽膠管處理步驟時，必須戴聚乙烯 (PE) 材質的手套，以避免可能的污染。
- (二) 由於環境中自然存在甲醛，故常發生 DNPH 試劑被甲醛污染，所使用的 DNPH 試劑必須以 HPLC 級的乙腈進行多次再結晶純化步驟，再結晶純化步驟係於 40-60 °C 慢慢將溶劑蒸發以得到最多的結晶，純化後的 DNPH 結晶保存於 HPLC 級的乙腈中。於執行樣品檢測前應先執行 DNPH 中所含醛酮類化合物不純物的檢測，不純物的量應小於 25 mg/L。參見附錄之 DNPH 再結晶步驟。
- (三) 基質干擾可能來自於與樣品共同被萃取出來的污染物，基質干擾情形可分成樣品來源和基質本身。若一系列樣品都有干擾問題，則應更換移動相或進行必要的清洗步驟。
- (四) 若樣品中含有乙醇則於進行衍生步驟時，會產生乙醛，此背景問題，將無法檢測濃度低於 0.5 ppm (500 ppb) 的乙醛。

四、設備

(一) 高效液相層析儀(組裝式)

1. 泵系統：可梯度沖提，固定流量控制可達 1.5 mL/min.。
2. 高壓注射閥，附 20 μ L 樣品迴路。
3. 管柱：250 mm \times 4.6 mm 內徑，5 - μ m 粒徑之 C₁₈ 填充劑 (Zorbax) 或同級品。
4. 吸光偵測器：360 nm。
5. 與偵測器聯通的記錄器：最好用數據處理系統以量測尖峰面積及滯留時間。
6. 氮氣：供移動相溶劑除氣。
7. 移動相盛裝容器和抽氣過濾裝置：供盛裝和過濾 HPLC 移動相之用，過濾裝置必須全為玻璃和鐵氟龍材質，並使用 0.22 μ m 聚酯濾膜。
8. 樣品注射針：將樣品注入 HPLC 樣品迴路中，至少需承裝樣品迴路體積之四倍的容量。

(二) 衍生反應設備

1. 反應瓶：250 mL 平底長頸圓燒瓶。
2. 分液漏斗：250 mL 附鐵氟龍栓塞。
3. K-D 裝置：參見「分液漏斗液相-液相萃取法 (NIEA R106.00C)」或其他萃取方法系列的適當方法。(若其他濃縮裝置經實驗室驗證，具同等功能者亦可使用)。
4. 沸石：以二氯甲烷溶劑萃取潔淨處理過，約為 10/40 mesh (碳化矽或同級品)。
5. pH 計：能量測精確至 0.01 單位。
6. 玻璃纖維濾紙：孔徑 1.2 μ m (Fisher G4 級或同級品)。
7. 固相吸附管：內部充填 2 g C₁₈ (Baker 或同級品)。

8. 真空固相萃取裝置：能同時萃取 12 個樣品（Supelco 或同級品）。
9. 樣品容器：容量為 60 mL（Supelco 或同級品）。
10. 微量吸管：能精確轉置 0.10 mL 的溶液。
11. 水浴槽：加熱用，附同心圓蓋，可控制溫度（精確至 ± 2 $^{\circ}\text{C}$ ），需在抽氣櫃中操作。
12. 樣品震盪器：迴轉震盪式及附溫度控制烘箱（精確至 ± 2 $^{\circ}\text{C}$ ）（Lab-Line Orbit Environ-Shaker Model 3527 或同級品）。
13. 注射針：5 mL、500 μL 、100 μL ，（附旋轉密合接頭或同級品）。
14. 針筒過濾片：0.45 μm 濾片匣，（Gelman Acrodisc 4438 或同級品）。

（三）量瓶：5 mL、10 mL 及 250 mL 或 500 mL。

（四）樣品瓶：10 或 25 mL 玻璃瓶，附鐵氟龍內襯螺旋蓋或加壓密合蓋。

（五）天平：分析天平，精確至 0.0001 g。

（六）玻璃漏斗。

（七）聚乙烯（PE）手套：用來處理矽膠吸附管。

（八）固體樣品萃取設備

1. 旋轉裝置：此裝置必須能以每分鐘 30 ± 2 次之頻率旋轉萃取容器。
2. 萃取容器：500 mL 含鐵氟龍墊片旋轉式蓋或壓合式蓋。
3. 過濾器附玻璃纖維濾紙。

五、試劑

（一）所有檢測所需的無機試藥皆需使用試藥級。若需使用其他等級試藥，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。

- (二) 不含有機物的試劑水：所使用的試劑水中干擾物的濃度，應小於目標待測物方法偵測極限值。
- (三) 甲醛溶液：濃度為 37.6 % (w/w)，將甲醛溶於不含有機物的試劑水中。依下述步驟執行甲醛儲備溶液的正確濃度確認。
- (四) 醛類和酮類標準品：分析級，用來製備除甲醛外之其他目標待測物的 DNPH 衍生標準品，參見目標待測物表。市售已衍生化標準品亦可使用（參照「水中甲醛、乙醛和丙醛檢測方法—液相層析儀/紫外光偵測器法」 NIEA W782.50B 五（六）、節）。
- (五) 使用之試劑
 1. 二氯甲烷， CH_2Cl_2 ： HPLC 級或同級品。
 2. 乙腈， CH_3CN ： HPLC 級或同級品。
 3. 氫氧化鈉， NaOH ： 1.0 N 和 5 N。
 4. 氯化鈉飽和溶液， NaCl ：於不含有機物的試劑水中加入過量的試藥級的氯化鈉固體。
 5. 亞硫酸鈉溶液， Na_2SO_3 ： 0.1 M。
 6. 硫酸鈉， Na_2SO_4 ：粒狀，無水。
 7. 檸檬酸， $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ： 1.0 M 溶液。
 8. 檸檬酸鈉， $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ： 1.0 M 含二個結晶水的三鈉鹽。
 9. 冰醋酸， $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 。
 10. 醋酸鈉， $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$ 。
 11. 鹽酸， HCl ： 0.1 N。
 12. 檸檬酸鹽緩衝液，1 M， $\text{pH} = 3$ ：將 80 mL 之 1 M 檸檬酸溶液加入於 20 mL 之 1 M 檸檬酸鈉溶液中，混

合均勻，視需要使用 NaOH 或 HCl 調整 pH 值。

13. 醋酸鹽緩衝液，5 M，pH = 5（分析甲醛時使用）：
將 40 mL 之 5 M 醋酸溶液加入於 60 mL 之 5 M 醋酸鈉溶液中，混合均勻，視需要使用 NaOH 或 HCl 調整 pH 值。
14. 2,4-二硝基苯肼， $[2,4-(\text{O}_2\text{N})_2\text{C}_6\text{H}_3]\text{NHNH}_2$ (DNPH)，70 % (w/w) 於不含有機物的試劑水中：將 428.7 mg 之 70 % (w/w) DNPH 溶液溶於 100 mL 乙腈中，即製備成濃度為 3.00 mg/mL 之溶液。
15. 萃取液：將 64.3 mL 之 1.0 N NaOH 和 5.7 mL 之冰醋酸加入於 900 mL 不含有機物的試劑水中，再以不含有機物的試劑水稀釋至 1 L，pH 應為 4.93 ± 0.02 。

(六) 儲備標準溶液

1. 甲醛儲備標準溶液，約 1000 mg/L：取適當量之甲醛確認標準品，或甲醛標準溶液（約 265 μL ）於不含有機物的試劑水中稀釋。若無法取得甲醛確認標準品，或甲醛確認標準品的品質無法確定時，需依下述步驟執行進行溶液的標定。

甲醛儲備溶液標定：取 25 mL 之 0.1 M Na_2SO_3 溶液置於燒杯中並記錄 pH 值，加入 25.0 mL 之甲醛儲備溶液，記錄 pH 值，以 0.1N HCl 滴定此混合溶液，使 pH 回復至原 pH 值。依下式計算甲醛的濃度：

$$\text{甲醛濃度}(\text{mg/L}) = \frac{(30.03)(N_{\text{HCl}})(\text{mL}_{\text{HCl}})}{0.0250 L \text{ 甲醛}}$$

式中：

N_{HCl} = 所使用 HCl 溶液之當量濃度，[毫當量 (meq)/mL]

(1 mmole HCl = 1 meq HCl)

mL_{HCl} = 標定所使用之 HCl 溶液體積

30.03 = 甲醛之分子量，mg/mole

2. 醛類及酮類儲備標準溶液：取適當量之標準品加入於 90 mL 之乙腈中，稀釋至 100 mL，濃度即為 1000 mg/L。

(七) 標準品儲存：所有標準溶液需儲存於附鐵氟龍內襯螺旋蓋的玻璃瓶中，應儘量充滿，使瓶端空間儘量小，於 4 °C 暗處保存，標準品可穩定保存 6 週。應經常檢查儲備標準溶液是否有裂解或蒸發現象，尤其是製備校正標準品前應作檢查。

(八) 校正標準品

取儲備標準溶液，於不含有機物的試劑水中，配製至少五種不同濃度之包含每一目標待測物的校正標準溶液，每一目標待測物的低濃度，應恰好或稍高於表一或表二中所列之方法偵測極限，其他校正標準溶液的濃度，則可配合預期之真實樣品的濃度範圍作適當的調整。

六、採樣與保存

(一) 參見「事業廢棄物採樣方法 NIEA R118.00B」有關有機待測物相關之採樣與保存規範。

(二) 採樣後之樣品需於 4 °C 以下冷藏，但毒性化學物質不在此限。水溶液樣品必須採樣後三天內進行衍生反應及萃取步驟。固體萃取液樣品應儘早檢測。所有衍生反應後的樣品萃取液應於製備後三天內完成檢測。

七、步驟

(一) 樣品萃取處理

1. 含固體及水溶液兩相樣品萃取法

若樣品中包含固體，及水溶液樣品中所含固體物大於百分之一，則應將水相與固相分離，依六、(二) 節步驟分別保存，供日後檢測之用。若有需要，應將廢棄物中固體顆粒磨碎減小顆粒之體積，以相當於 20 倍固體樣品重的溶劑進行萃取。萃取完成後，萃取液需以孔徑為 0.6 至 0.8 μm 之玻璃纖維濾紙過濾。

- (1)若樣品水相與萃取液互溶(混合後未顯示多層相)，則樣品中的水相直接加入於萃取液中，一併進行分析；若樣品水相與萃取液不互溶，將水相與萃取液分別分析，檢測結果為按體積比例計算之平均濃度。
- (2)若只檢測甲醛，則水樣及/或固體樣品萃取液需調整 pH 至 5.0，以避免甲醛干擾物的形成。

2. 固體樣品萃取法

- (1)所有固體樣品應充分攪拌使呈均勻狀，將樹枝、樹葉及石塊等異質物丟棄不用。若樣品潮濕，則需取具有代表性的樣品，進行樣品乾重測定。固體樣品粒子若固體每克之表面積大於或等於 3.1 cm² 或最窄處小於 1 cm，即可通過 9.5 mm 之標準篩網，則不需減小顆粒尺寸，否則應先壓碎、切割或磨細，使能通過 9.5 mm 之標準篩網。壓碎、切割或磨細的方法不可產生熱，且樣品應避免曝露於空氣，最好先將樣品及工具冷卻至 4 °C 再用。

□樣品乾重測定：在某些狀況，樣品測試結果需以乾重為計算依據，若需此種數據，則於秤取樣品進行檢測的同時，另外秤一份樣品作為乾重測定之用。需注意乾燥烘箱應放置在抽氣櫃內或附排氣裝置，高度污染的危害廢棄物樣品的乾燥步驟可能導致嚴重的實驗室污染。

□秤取樣品作萃取之用後，立即秤取 5 至 10g 樣品於已在天平上歸零之坩堝內，於 105°C 烘箱內隔夜乾燥，測定其乾重百分比，於乾燥瓶內冷卻後，秤重：

$$\% \text{乾重} = \frac{\text{乾燥後樣品重(g)}}{\text{樣品重(g)}} \times 100$$

- (2)秤量 25 g 固體樣品於一附鐵氟龍內襯密封螺旋蓋或加壓密封蓋的 500 mL 樣品瓶中，加入 500 mL 萃取液(參見五、(五) 15. 節)，以 30 rpm 轉速旋轉 18 小時，進行固體樣品萃取，再將萃取液用玻璃纖維濾紙過濾後，密封於樣品瓶內於 4 °C 儲存。

每 mL 萃取液相當於 0.050 g 固體樣品。較小的樣品量可使用較小體積的萃取液，一般依固體重：萃取液體積 = 1：20 的比例調整。

3. 毒性化學物質樣品萃取法

配合毒性化學物質管制項目包括甲醛、乙醛、丁醛及巴豆醛，取適量樣品，依據其為固相或液相參照七（一）、1. 或 2. 節步驟執行萃取。

4. 水溶液樣品直接進行下述步驟。

（二）淨化和分離

1. 對基質單純的樣品不一定需執行樣品淨化步驟。本淨化步驟適用於各種樣品基質型式，若因樣品基質特殊而需使用特殊的淨化步驟，檢測人員必須確定流洗程序，並進行甲醛添加樣品測定，其添加回收率應大於 85%，若樣品呈泡沫狀乳液時之回收率會較低。
2. 若樣品不是澄清液或不知樣品基質的複雜性，則需將樣品於 2500 rpm 離心 10 分鐘，倒出上清液，以玻璃纖維濾紙過濾收集於密封的容器中。

（三）衍生反應

1. 水樣：先預估水樣的取用量，使目標待測物的預估濃度能落在校正濃度範圍內（一般為 100 mL），將適當量的樣品置入反應瓶中（參見四、（二）節）。
2. 固體樣品：一般約需 1 至 10 mL 萃取液（參見七、（一）節），若是較特殊的樣品，則取用量需由預備試驗的結果決定之。若所使用的樣品或萃取液體積小於 100 mL，則應使用不含有機物的試劑水將總液體之體積調整為 100 mL，稀釋前應記錄樣品的原始體積。
3. 目標待測物的衍生反應和萃取，可依下述 4. 或 5. 節步驟執行。
4. 液相-固相衍生反應和萃取步驟

（1）於除檢測甲醛外之目標待測物樣品中，加入 4 mL

檸檬酸鹽緩衝液，並以 6 M 鹽酸或 6 M 氫氧化鈉調整 pH 至 3.0 ± 0.1 ，再加入 6 mL 之 DNPH 試劑，密封此樣品容器，放入以預先加熱至 40°C 之迴轉振盪器(參見四、(二) 12. 節)中一小時。調整振盪器旋鈕，使反應容器內之液體和緩迴轉搖晃。

- (2) 若只檢測甲醛，則加入 4 mL 醋酸鹽緩衝液，並以 6 M 鹽酸或 6 M 氫氧化鈉調整 pH 至 5.0 ± 0.1 ，再加入 6 mL 之 DNPH 試劑，密封此樣品容器，放入以預先加熱至 40°C 之迴轉振盪器(參見四、(二) 12. 節)中一小時。調整振盪器旋鈕，使反應容器內之液體和緩迴轉搖晃。
- (3) 組裝連接至水壓吸氣器或真空泵上的固相萃取裝置，將內部已填裝 2 g 吸附劑之吸附管接到真空歧管上，於每一吸附管各以 10 mL 之稀釋檸檬酸鹽緩衝液 (10 mL 之 1 M 檸檬酸鹽緩衝液溶於 250 mL 不含有機物之試劑水中) 流洗，進行吸附管調整。
- (4) 於一小時反應時間到達後，立即將樣品反應容器自振盪器上取出，並加入 10 mL 飽和 NaCl 溶液。
- (5) 將反應溶液全量轉置入吸附管，不能漏失，並以真空系統進行抽氣，使溶液以 3-5 mL/min 流量通過吸附管，當所有液體皆通過吸附管後，再持續抽氣約 1 分鐘。
- (6) 以 9 mL 乙腈加入吸附管系列進行流洗步驟，並直接收集於 10 mL 量瓶中，以乙腈稀釋至標線，混合均勻後，轉置入樣品中並密封保存之，以備檢測。(因本步驟使用過量的 DNPH，於完成流洗步驟後，吸附管的顏色仍是黃色，並不表示待測物的衍生物有殘留在管柱中)。

5. 液相-液相衍生反應和萃取步驟

- (1) 於除甲醛外之目標待測物樣品中，加入 4 mL 檸檬酸鹽緩衝液，並以 6 M 鹽酸或 6 M 氫氧化鈉調整 pH 至 3.0 ± 0.1 ，再加入 6 mL 之 DNPH 試劑，密封此樣品容器，放入已預先加熱至 40°C 之迴轉振盪

器中一小時。調整振盪器旋鈕，使反應容器內之液體和緩迴轉搖晃。

- (2)若只檢測甲醛，則加入 4 mL 醋酸鹽緩衝液，並以 6 M 鹽酸或 6 M 氫氧化鈉調整 pH 至 5.0 ± 0.1 ，再加入 6 mL 之 DNPH 試劑，密封此樣品容器，放入已預先加熱至 40°C 之迴轉振盪器中一小時。調整振盪器旋鈕，使反應容器內之液體和緩迴轉搖晃。
- (3)於 250 mL 分液漏斗中，每次以 20 mL 二氯甲烷進行樣品溶液萃取，連續執行三次。若於萃取過程中形成泡沫狀乳液情況，則於 2000 rpm 離心機離心 10 分鐘，將二層液分離，將泡沫乳液移除，再進行下列萃取步驟。將所有二氯甲烷萃取液一同倒入 125 mL 內含 5.0 g 無水硫酸鈉之三角錐瓶中，旋轉搖晃內容物進行溶液去除水份之乾燥程序。
- (4)將 10 mL 濃縮管裝在 500 mL 蒸發瓶上，組裝 K-D 濃縮裝置，參見分液漏斗液相—液相萃取法 (NIEA R106.00C) 方法之四、設備。將萃取液小心倒入蒸發瓶中，需注意不要將硫酸鈉固體倒入，以 30 mL 二氯甲烷清洗三角錐瓶，並將此洗液一同倒入蒸發瓶中，不能有任何樣品漏失。
- (5)依分液漏斗液相—液相萃取法之 K-D 濃縮步驟，進行萃取液濃縮，使最終體積為 5 mL，於進行檢測前，將溶劑置換成乙腈。

(四) 建議之層析檢測條件

1. 驗證適用於水樣，土壤或廢棄物樣品。

管柱：C-18，4.6 mm × 250 mm 內徑，5 μm 粒徑

移動相梯度：70/30 乙腈/水 (v/v)，維持 20 分鐘由
70/30 乙腈/水改成 100% 乙腈，於 15 分
鐘內完成
100% 乙腈，維持 15 分鐘

流率：1.2 mL/分

偵測器：紫外光，360 nm

樣品注射體積：20 μ L

2. 依下述步驟進行移動相的過濾，並去除其中溶解之氣體：

(1) 於抽氣過濾裝置中，將每一種溶劑(水和乙腈)，以 0.22 μ m 之聚酯薄膜濾紙進行過濾。

(2) 於已過濾之溶劑中，通入流量為 100 mL/min 氬氣 10 至 15 分鐘進行除氣；或將已過濾之溶劑置於三角錐瓶中，瓶口蓋上錶玻璃，加熱至 60 $^{\circ}$ C，持續 5 至 10 分鐘，進行除氣。於偵測器之後應連接一固定背壓控制閥 (350 kPa) 或 0.25 mm 內徑，15-30 cm 長之鐵氟龍管，以避免移動相發生漏氣現象。

(3) 將各移動相裝入固定使用的容器中，依七、(四) 1. 節所列的分析條件，設定溶劑梯度更改的程式，將系統之高壓泵於起始溶劑混合比例 (70 % / 30 % 之乙腈/水) 以 1.2 mL/min 流速，運轉 20 至 30 分鐘，打開偵測器，將偵測結果列印在記錄器的記錄紙上或類似的輸出訊號記錄器上，以建立一穩定的基線。

(五) 校正

1. 建立液相層析操作條件，使進行液相-固相衍生反應和萃取所得之各待測物滯留時間與表一中所列之值相近；或進行液相-液相衍生反應和萃取所得之各待測物滯留時間與表二中所列之值相近。各待測物滯留時間視窗的測定，參見「層析檢測方法總則」 NIEA M102.01C 之七、(五) 節。建議之層析分析條件列於本方法七、(四)、1. 節中。

2. 依與樣品製備相同之步驟，執行校正標準溶液之衍生反應及萃取步驟(參見本方法七、(三) 4. 或 5. 節)。如使用已衍生化標準品則依照「水中甲醛、乙醛和丙醛檢測方法—液相層析儀/紫外光偵測器法」五(六)、及七(一)、節標準溶液及檢量線製備規定執行。

3. 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)。

4. 依本方法七、(四)節所建議之層析分析條件進行經樣品前處理之校正標準品之檢測，並將尖峰面積與校正標準溶液之濃度(單位為 $\mu\text{g/L}$)製表。
5. 將尖峰面積與對應之注入儀器中之校正標準溶液之濃度製表，以計算各待測物於每一濃度之校正因子(參見八、(一)節計算公式)，校正標準品之平均校正因子的百分相對標準偏差(% RSD)應 $\leq 20\%$ ，否則，即應進行系統檢查。若經進行系統檢查後，校正標準品查核仍無法符合規範需求，系統即應進行重新校正。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。
6. 每日於進行樣品檢測前及檢測後，必須以一個或數個校正標準品，進行校正曲線的確證，確證所得之校正因子必須落在最初建立之校正因子的 $\pm 15\%$ 之內，否則，即應進行系統檢查。若經進行系統檢查後，校正標準品查核仍無法符合規範需求，系統即應進行重新校正。
7. 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，以確證 DNPH 衍生物校正因子仍然落在最初校正因子的 $\pm 15\%$ 之內。

(六) 樣品檢測

1. 以高效能液相層析儀依本方法七、(四)節之條件進行樣品檢測，表一及表二所列之滯留時間和方法偵測極限，即是依七、(四)節之條件針對待測物檢測而得。
2. 若尖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，以乙腈稀釋此處理完成的樣品溶液，再重新檢測。
3. 於目標待測物皆沖提出來，依八、(二)節中公式計算樣品中待測物的濃度，或是使用檢測方法中適當的計算步驟。
4. 若因明顯的干擾因素而妨礙尖峰面積的計算，則需進行樣品的再淨化步驟。

八、結果處理

(一) 校正因子、平均校正因子、標準偏差、和百分相對標準偏差計算：

$$\text{校正因子, } CF = \frac{\text{標準品中待測物尖峰面積}}{\text{待測物注入濃度 } (\mu\text{g/L})}$$

$$\text{平均 } CF = \overline{CF} = \frac{\sum_{i=1}^n CF_i}{n}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (CF_i - \overline{CF})^2}{n-1}}$$

$$RSD = \frac{SD}{\overline{CF}} \times 100$$

式中：

\overline{CF} = 由五個不同校正濃度所得之平均校正因子

CF_i = 每一校正標準品之校正因子 i ($i = 1 - 5$)

RSD = 校正因子之相對標準偏差

n = 校正標準品數

(二) 依下式計算液體樣品之濃度

$$\text{醛酮類之濃度 } (\mu\text{g/L}) = \frac{(\text{樣品尖峰面積}) \times 100}{\overline{CF} \times V_s}$$

式中：

\overline{CF} = 待測物之平均校正因子

V_s = 樣品之 mL 數(無單位)

(三) 依下式計算固體樣品之濃度

$$\text{醛酮類之濃度 } (\mu\text{g/g}) = \frac{(\text{樣品尖峰面積}) \times 100}{\overline{CF} \times V_{\text{ex}}}$$

式中：

\overline{CF} = 待測物之平均校正因子

V_{ex} = 樣品萃取液之 mL 數(無單位)

九、品質管制

- (一) 參考有機物萃取及樣品製備法中的品質管制步驟，及「層析檢測方法總則」方法中的品質管制規範。實驗室應建立品質保證計畫書，並據以執行，並應將所有數據及記錄建檔保存。
- (二) 依「層析檢測方法總則」方法中，七、步驟進行必要的品質管制程序，以執行 HPLC 操作系統查核，如滯留時間視窗、校正確認、樣品的層析檢測等的查核。
- (三) 起始績效查核：每一實驗室應針對樣品製備及後續配合的檢測方法，於潔淨的基質中進行目標待測物的檢測，所得數據準確度和精密度必須符合實驗室的品保規範。若執行新進人員訓練時或儀器功能改變時，必須持續執行績效查核。參見「層析檢測方法總則」之九、節中的相關規定。
- (四) 樣品製備及檢測之品質管制：實驗室必須針對樣品基質影響，建立方法績效檢查(精密度、準確度和偵測極限)之書面資料檔，對每十個或每一批次檢測樣品，至少需包含方法空白、基質添加、重複樣品、實驗室品管樣品等品質管制樣品檢測數據資料。
 1. 樣品基質影響之績效檢查的書面資料檔，應包含至少一個基質添加和一對未添加的重複樣品；或者，一對基質添加/基質添加之重複樣品的檢測。需依據批次樣品基質的基本背景資料，才能決定該製備及檢測重複樣品或基質添加/基質添加重複樣品。若預期樣品中含有目標待測物，則實驗室必須執行一個基質添加和一對未添加的重複樣品檢測；若預期樣品中不含目標待測物，則實驗室必須執行一對基質添加/基質添加之重複樣品檢測。
 2. 每十個或每一批次樣品檢測時，必須伴同實驗室品質管制樣品之檢測，此品質管制樣品之基質，必須為與真實樣品基質類似之潔淨(管制)基質，取用於檢測之體積或

重量與真實樣品相同。於實驗室品質管制樣品中添加與基質添加樣品中相同之待測物及相同之濃度。當基質添加樣品檢測結果顯示有樣品基質本身的干擾問題時，則實驗室品質管制樣品的檢測結果，可用來證明實驗室於潔淨基質樣品的檢測結果符合品質規範。

3. 依本方法所執行之多間實驗室方法驗證，所得之品質管制規範標準，參見表三。

4. 參見「層析檢測方法總則」之九、節中，對樣品製備和檢測的品質管制步驟。

(五) 建議實驗室針對本檢測方法，可採用特定的品質保證規範，此規範應符合實驗室及樣品特性的需求，若有可能，實驗室應執行標準參考樣品的檢測，並參加相關的績效評估能力比試計畫。

十、精密度與準確度

(一) 表一中所列為使用液相-固相萃取步驟而得之各待測物的方法偵測極限，係以不含有機物的試劑水為基質，使用液相-固相萃取步驟而得。表二中所列為使用二氯甲烷液相-液相萃取步驟而得之各待測物的方法偵測極限，亦以不含有機物的試劑水為基質，使用二氯甲烷萃取步驟而得。表一及表二中用來進行添加的試劑水總體積為 100 mL，若使用較大的試劑水總體積，可得到較低的方法偵測極限值。

1. 本方法針對回收率的線性關係測試，係於不含有機物的試劑水中進行添加，適用的濃度範圍為 50 - 1000 $\mu\text{g/L}$ 。

2. 本節之方法偵測極限和精密度及準確度數據結果，係將待測物分成 A 和 B 二組，分別進行添加，分別使用液相-固相和液相-液相萃取之層析圖譜，如圖一、二及圖三、四。

(二) 12 家實驗室曾用本方法，分別於不含有機物的試劑水、地下水二種基質中，添加濃度範圍為 30 至 2200 $\mu\text{g/L}$ 的六種不同濃度的樣品，進行測試，結果顯示，方法的準確度和精密度，和待測物之濃度有直接相關，但和樣品的基質

無關。以添加濃度為變數，計算所得之平均回收率線性迴歸方程式，及以平均回收率為變數，計算所得之總精密度和單一檢測精密度迴歸方程式，列於表四。這些方程式可用來評估於檢測濃度範圍內的任何濃度的平均回收率和精密度。

十一、參考資料

- (一) U. S. EPA, Determination of Carbonyl Compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Test Methods for Evaluating Solid Waste, Method 8315A, 1996.
- (二) U. S. OSHA, OSHA Safety and Health Standards, General Industry (29 CFR 1910). Occupational Safety and Health Administration (OSHS), 1976
- (三) 行政院環境保護署環境檢驗所，廢棄物檢測方法，事業廢棄物採樣方法，NIEA R108.00B，1996。
- (四) 行政院環境保護署環境檢驗所，廢棄物檢測方法，事業廢棄物檢測方法總則，NIEA R101.00C，1999。
- (五) 行政院環境保護署環境檢驗所，廢棄物檢測方法，層析檢測方法總則，NIEA M102.01C，1999。
- (六) 行政院環境保護署環境檢驗所，廢棄物檢測方法，分液漏斗液相—液相萃取法，NIEA R106.00C，1996。
- (七) 行政院環境保護署環境檢驗所，水質檢測方法，水中甲醛、乙醛和丙醛檢測方法—液相層析儀/紫外光偵測器法，NIEA W782.50B，1997。

註：一、參考資料中公告方法內容及編碼以環保署最新公告為準。

二、廢液分類處理原則：檢測項目所產生之廢液，依照「非含氯有機溶劑」、「含氯有機溶劑」、「氰系廢液」及「一般重金屬廢液」處理原則辦理。

三、安全事宜

- (一) 本方法中所使用之每一試劑的毒性或致癌性，尚未確定；

但每一化合物皆應視為對健康有潛在危害的物質，因此，應以各種方式儘量減少對這些化合物的暴露。實驗室應具備有關法規中對本方法中所使用化合物的安全使用及處置方法的檔案，需提供物質安全資料表，或其他有關實驗室安全事宜給所有執行本檢測方法的檢測人員。

(二) 甲醛暫時被認定為已知或可疑的人類或哺乳類動物致癌物。

表一 使用液相-固相萃取之方法偵測極限^a

| 待測物 | 滯留時間(分) | 方法偵測極限($\mu\text{g/L}$) ^a |
|-----|---------|----------------------------------------|
| 甲醛 | 5.3 | 6.2 |
| 乙醛 | 7.4 | 43.7 ^b |
| 丙醛 | 11.7 | 11.0 |
| 巴豆醛 | 16.1 | 5.9 |
| 丁醛 | 18.1 | 6.3 |
| 環己酮 | 27.6 | 5.8 |
| 戊醛 | 28.4 | 15.3 |
| 己醛 | 34.1 | 10.7 |
| 庚醛 | 35.0 | 10.0 |
| 辛醛 | 40.1 | 6.9 |
| 壬醛 | 40.4 | 13.6 |
| 癸醛 | 44.1 | 4.4 |

註：a 除乙醛外，本表中所有偵測極限值皆為執行添加 25 $\mu\text{g/L}$ 之標準品於試劑空白中的 6 至 8 個重複樣品檢測而得。

b 本偵測極限值為執行添加 250 $\mu\text{g/L}$ 之標準品於試劑空白中的 3 個重複樣品檢測而得。

表二 使用液相-液相萃取之方法偵測極限^a

| 待測物 | 滯留時間(分) | 方法偵測極限($\mu\text{g/L}$) ^a |
|-----|---------|----------------------------------------|
| 甲醛 | 5.3 | 23.2 |
| 乙醛 | 7.4 | 110.2 ^b |
| 丙醛 | 11.7 | 8.4 |
| 巴豆醛 | 16.1 | 5.9 |
| 丁醛 | 18.1 | 7.8 |
| 環己酮 | 27.6 | 6.9 |
| 戊醛 | 28.4 | 13.4 |
| 己醛 | 34.1 | 12.4 |
| 庚醛 | 35.0 | 6.6 |
| 辛醛 | 40.1 | 9.9 |
| 壬醛 | 40.4 | 7.4 |
| 癸醛 | 44.1 | 13.1 |

註：a 除乙醛外，本表中所有偵測極限值皆為執行添加 25 $\mu\text{g/L}$ 之標準品於試劑空白中的 6 至 8 個重複樣品檢測而得。

b 本偵測極限值為執行添加 250 $\mu\text{g/L}$ 之標準品於試劑空白中的 3 個重複樣品檢測而得。

表三 多家實驗室之績效評估數據

| 待測物 | 添加濃度 ($\mu\text{g/L}$) | \bar{X} ^a ($\mu\text{g/L}$) | S_R ^b ($\mu\text{g/L}$) | 容許範圍 ^c (%) |
|-----|-----------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|
| 甲醛 | 160 | 154 | 30.5 | 39 - 153 |
| 丙醛 | 160 | 148 | 22.4 | 50 - 134 |
| 巴豆醛 | 160 | 160 | 34.8 | 35 - 165 |
| 丁醛 | 160 | 151 | 22.7 | 52 - 137 |
| 環己酮 | 160 | 169 | 39.2 | 32 - 179 |
| 己醛 | 160 | 151 | 34.6 | 30 - 159 |
| 辛醛 | 160 | 145 | 40.1 | 15 - 166 |
| 癸醛 | 160 | 153 | 40.0 | 21 - 171 |

註：a 於不含有機物的試劑水中進行回收率測試，用線性回歸方程式計算回收率及平均回收濃度。

b 由上述 a 之結果，計算總標準偏差。

c 於 99 % 可信度，容許範圍 = $(\bar{X} \pm 3S_R) \times 100 / \text{添加濃度}$ 。

表四 平均回收率和精密度 ($\mu\text{g/L}$) 檢測結果之加權線性回歸方程式

| 待測物 | 適用濃度範圍 | | 不含有機物之 試劑水 | 地下水 |
|-----|-------------|-------|-------------------|-------------------|
| 甲醛 | 39.2 - 2450 | X | $0.909C + 8.97$ | $0.870C + 14.84$ |
| | | S_R | $0.185X + 1.98^a$ | $0.177X + 13.85$ |
| | | S_r | $0.093X + 5.79$ | $0.108X + 6.24$ |
| 丙醛 | 31.9 - 2000 | X | $0.858C + 10.49$ | $0.892C + 22.22$ |
| | | S_R | $0.140X + 1.63$ | $0.180X + 12.37$ |
| | | S_r | $0.056X + 2.76$ | $0.146X + 2.08^a$ |
| 巴豆醛 | 32.4 - 2030 | X | $0.975C + 4.36$ | $0.971C + 2.94$ |
| | | S_R | $0.185X + 5.15$ | $0.157X + 6.09$ |
| | | S_r | $0.096X + 1.85$ | $0.119X - 2.27$ |
| 丁醛 | 35.4 - 2220 | X | $0.902C + 6.65$ | $0.925C + 12.71$ |
| | | S_R | $0.149X + 0.21$ | $0.140X + 6.89$ |
| | | S_r | $0.086X - 0.71$ | $0.108X - 1.63^a$ |
| 環己酮 | 31.6 - 1970 | X | $0.962C + 14.97$ | $0.946C + 28.95$ |
| | | S_R | $0.204X + 4.73^a$ | $0.345X + 5.02$ |
| | | S_r | $0.187X + 3.46$ | $0.123X + 7.64$ |
| 己醛 | 34.1 - 2130 | X | $0.844C + 15.81$ | $0.926C + 9.16$ |
| | | S_R | $0.169X + 9.07$ | $0.132X + 8.31$ |
| | | S_r | $0.098X + 0.37^a$ | $0.074X - 0.40^a$ |
| 辛醛 | 32.9 - 2050 | X | $0.856C + 7.88$ | $0.914C + 13.09$ |
| | | S_R | $0.200X + 11.17$ | $0.097X + 12.41$ |
| | | S_r | $0.092X + 1.71^a$ | $0.039X + 1.14$ |
| 癸醛 | 33.2 - 2080 | X | $0.883C + 12.00$ | $0.908C + 6.46$ |
| | | S_R | $0.225X + 5.52$ | $0.153X + 2.23$ |
| | | S_r | $0.088X + 2.28^a$ | $0.052X + 0.37$ |

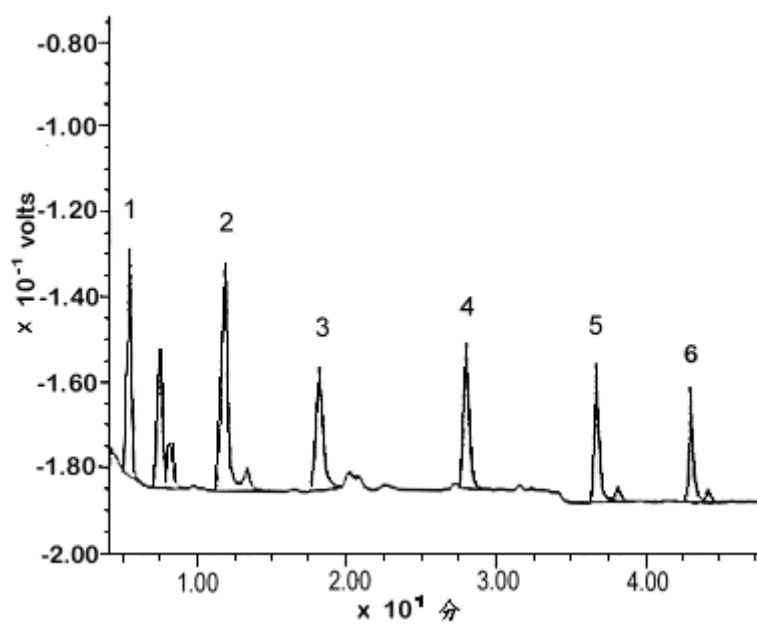
註：a 於測試濃度範圍內之變異數不為常數。

C 添加濃度， $\mu\text{g/L}$ 。

X 平均回收率， $\mu\text{g/L}$ ，不含異常數據。

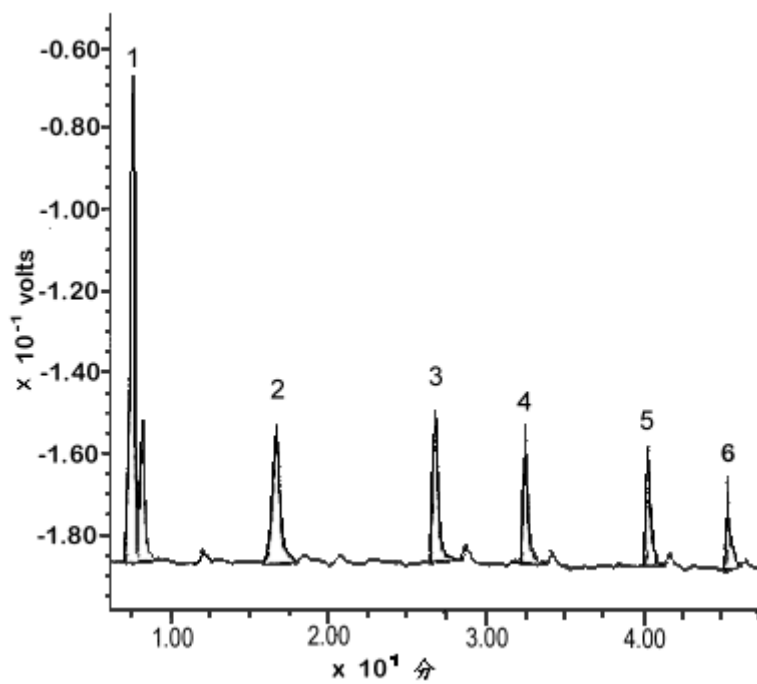
S_R 總標準偏差， $\mu\text{g/L}$ ，不含異常數據。

S_r 單一檢測員之標準偏差， $\mu\text{g/L}$ ，不含異常數據。



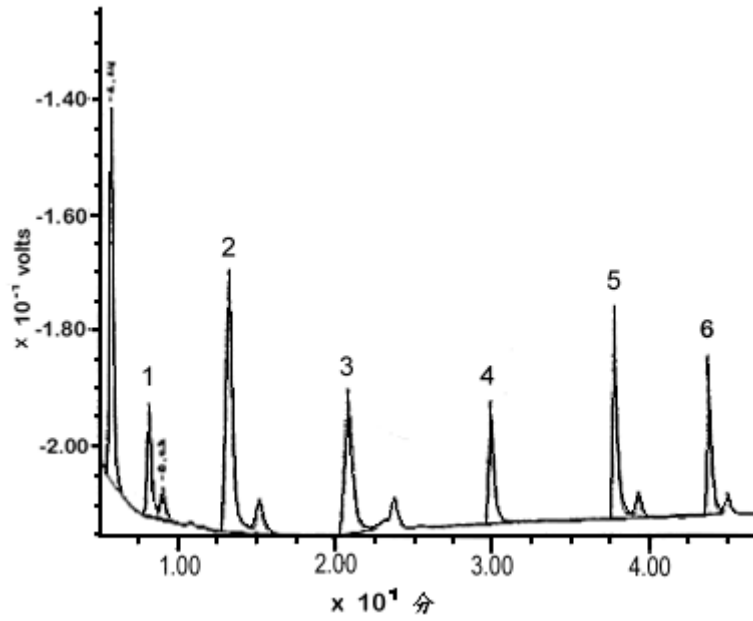
| <u>編號</u> | <u>滯留時間 (分)</u> | <u>待測物之衍生物</u> |
|-----------|-----------------|----------------|
| 1 | 5.33 | 甲醛 |
| 2 | 11.68 | 丙醛 |
| 3 | 18.13 | 丁醛 |
| 4 | 27.93 | 環己酮 |
| 5 | 36.60 | 庚醛 |
| 6 | 42.99 | 壬醛 |

圖一 液相-固相萃取 A 組標準品 (濃度為 625 $\mu\text{g/L}$) 之層析圖譜



| 編號 | 滯留時間 (分) | 待測物之衍生物 |
|----|----------|---------|
| 1 | 7.50 | 乙醛 |
| 2 | 16.68 | 巴豆醛 |
| 3 | 26.88 | 戊醛 |
| 4 | 32.53 | 己醛 |
| 5 | 40.36 | 辛醛 |
| 6 | 45.49 | 癸醛 |

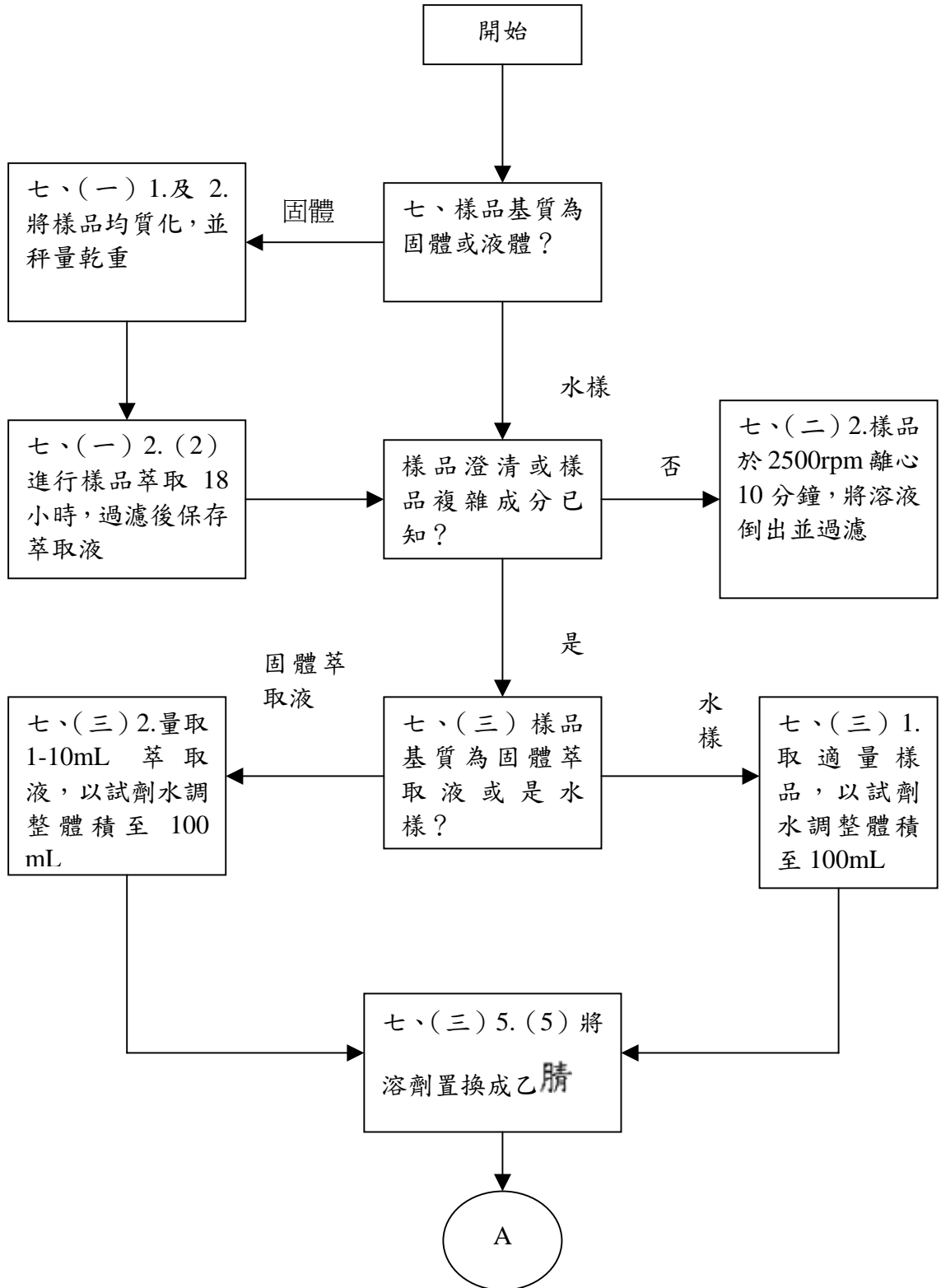
圖二 液相-固相萃取 B 組標準品 (濃度為 625 $\mu\text{g/L}$) 之層析圖譜



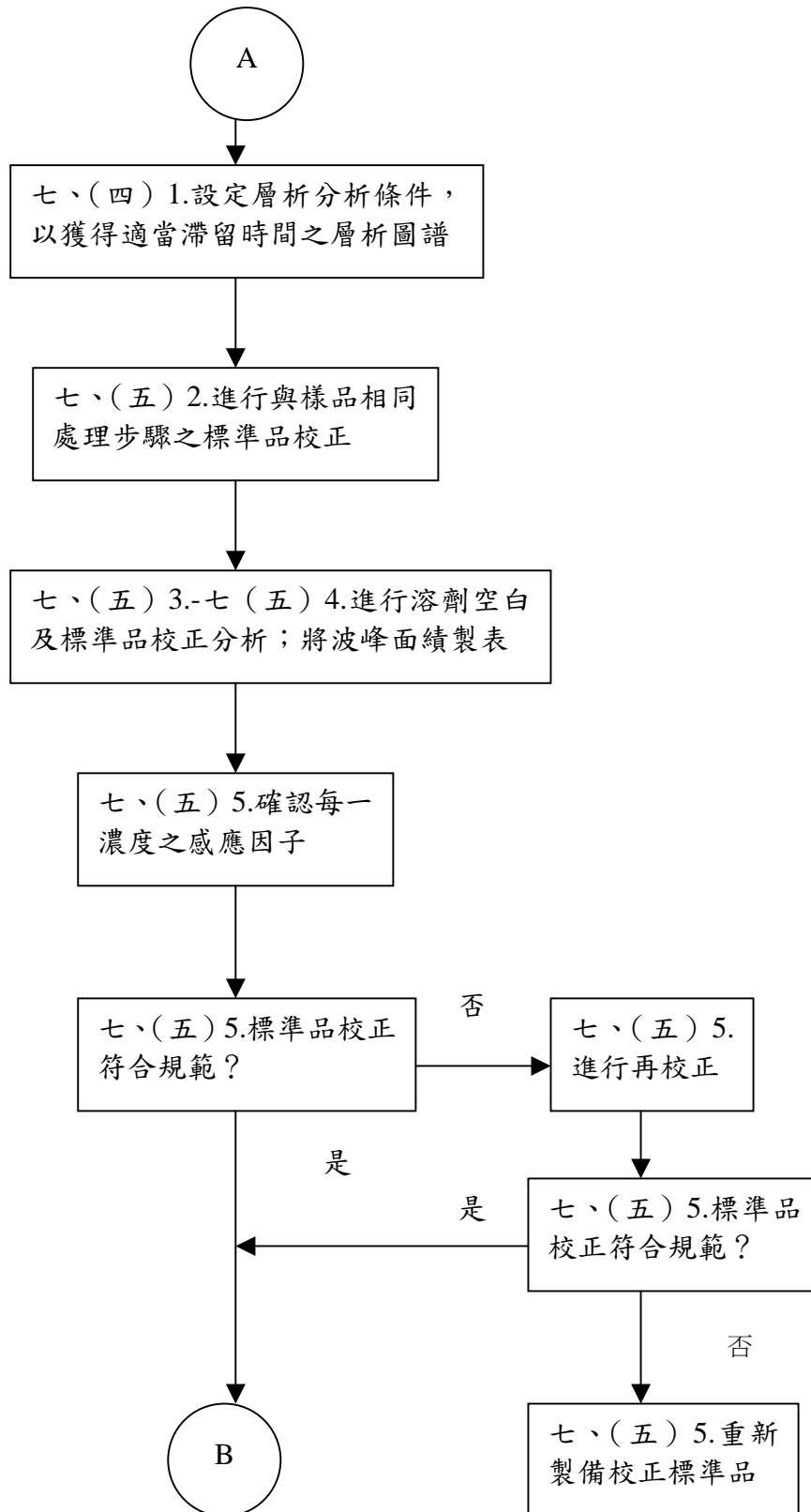
| 編號 | 滯留時間 (分) | 待測物之衍生物 |
|----|----------|---------|
| 1 | 5.82 | 甲醛 |
| 2 | 13.23 | 丙醛 |
| 3 | 20.83 | 丁醛 |
| 4 | 29.95 | 環己酮 |
| 5 | 37.77 | 庚醛 |
| 6 | 43.80 | 壬醛 |

圖三 液相-液相萃取 A 組標準品 (濃度為 625 $\mu\text{g/L}$) 之層析圖譜

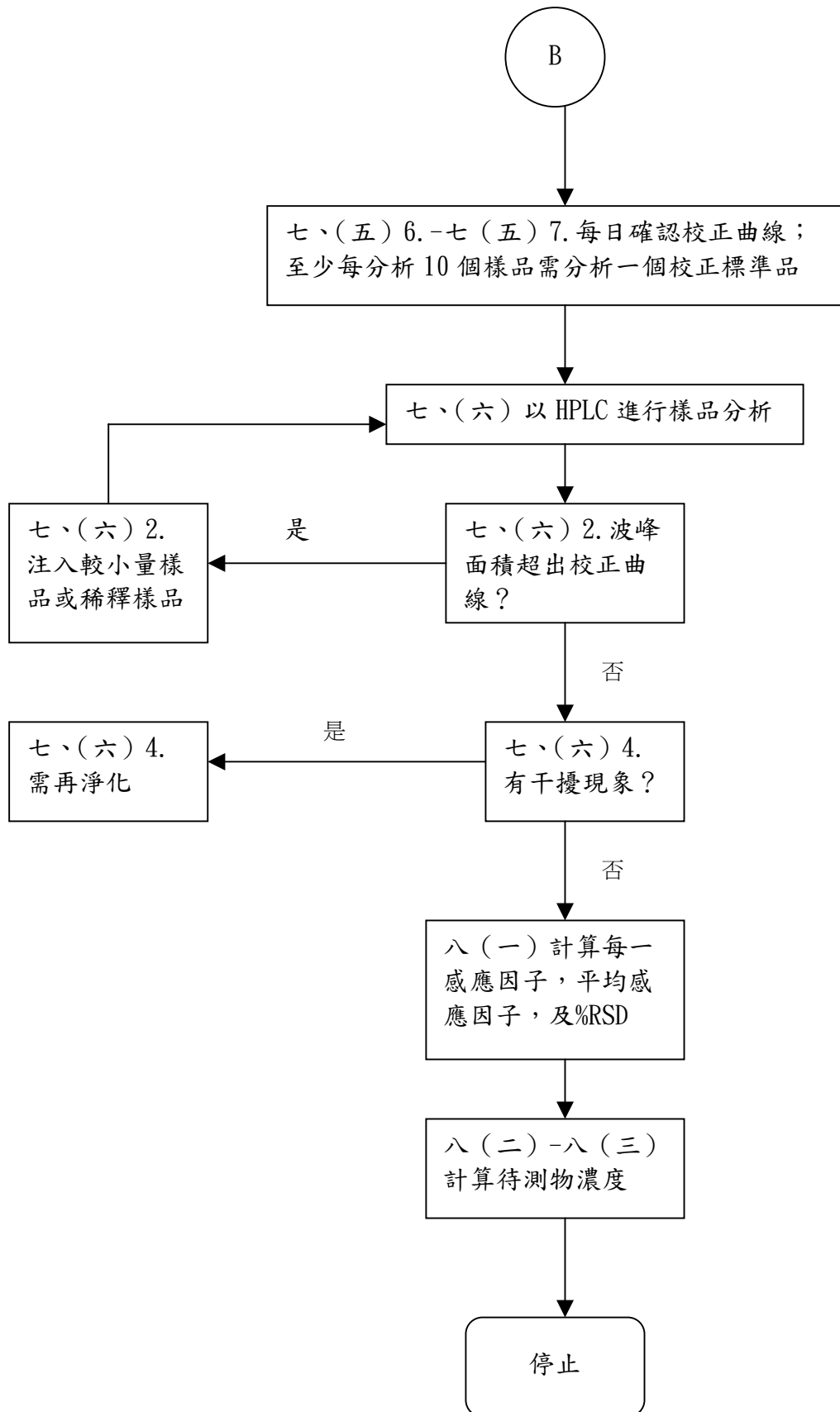
圖四 醛酮類化合物檢測方法流程圖



(續 1) 圖四 醛酮類化合物檢測方法流程圖



(續 2) 圖四 醛酮類化合物檢測方法流程圖



附錄：2,4-二硝基苯肼(DNPH)再結晶步驟

- 一、於 200 mL 乙腈中加入過量的 DNPH，製備飽和 DNPH 溶液，加熱使沸騰約一小時。
 - 二、一小時後，將上層液轉置於燒杯內並加蓋，於加熱板上使其慢慢冷卻至 40-60 °C，維持此溫度範圍，直至 95 % 的溶劑皆被蒸發而剩下結晶。
 - 三、將剩下的溶劑棄置至廢液桶，以相當於 3 倍結晶體積的乙腈潤洗結晶二次。
 - 四、將結晶轉置於一乾淨的燒杯中，加入 200 mL 乙腈，加熱至沸騰，再使其慢慢冷卻至 40-60 °C，維持此溫度範圍，直至 95 % 的溶劑皆被蒸發而剩下結晶。再依上述三、之步驟潤洗結晶二次。
 - 五、取適量之第二次的洗液，以乙腈稀釋 10 倍，依每 100 mL 之 DNPH 溶液，以 1 mL 之 3.8 M 過氯酸比例進行酸化，再依七、節步驟進行高效能液相層析法檢測。甲醛量低於 0.025 ng/ μ L，為 DNPH 再結晶試劑中不純物可接受的量。
 - 六、若不純物的量不可接受，將溶液棄置於廢液桶，重複上述四、之再結晶步驟，但改以 25 mL 乙腈潤洗結晶，再依上述五、步驟製備及檢測第二次洗液中不純物的量。
 - 七、若不純物的量已可接受，將結晶放置於玻璃材質的試劑瓶中，另行加入 25 mL 乙腈加蓋密封之，並搖晃玻璃瓶。切記必須使用潔淨的吸管汲取飽和 DNPH 儲備溶液，以避免溶液被污染的機會。只需準備足供每日檢測之用的適量飽和溶液即可，以減少因大量使用純化試劑所造成的大量廢液。
- 註：本步驟應於有適當控制風速的抽氣櫃中執行，吸入 500 ppm 乙腈時會刺激鼻部和喉嚨，若暴露於更高濃度或較長時間時，會有更嚴重的影響。