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

中華民國 107 年 2 月 9 日環署授檢字第 1070000792 號公告
自中華民國 107 年 5 月 15 日生效
NIEA W782.51B

一、方法概要

水樣經過濾後，在 4℃ ± 2℃ 下與 2,4-二硝基苯肼(2,4-Dinitrophenylhydrazine, DNPH)反應生成甲醛(Formaldehyde)、乙醛(Acetaldehyde)和丙醛(Propanal)之 DNPH 衍生物，經 C_{18} 管柱萃取及濃縮後，取適當體積注入高效能液相層析儀(HPLC)，分離出各種醛類之 DNPH 衍生物，使用紫外光偵測器測其吸收強度，以求得水樣中甲醛、乙醛和丙醛之濃度。

二、適用範圍

本方法適用於飲用水及放流水中甲醛、乙醛和丙醛之檢測。

三、干擾

（一）本方法之干擾可能來自於溶劑、試劑、玻璃器皿、塑膠器皿，及其他處理過程所接觸器具之污染。這些干擾可能會導致液相層析圖產生假峰或基線上移。因此，必須以試劑水進行系統空白試驗，以確定在此分析條件下，所用的物質及器具均未受污染。

（二）玻璃器皿應清洗乾淨以避免干擾。使用後之玻璃器皿應儘快以最終使用之溶劑潤洗，接著用熱水泡清潔劑清洗，然後以自來水和試劑水淋洗。非定量用玻璃器皿晾乾後，可放在烘箱內烘乾。亦可用適當溶劑（注意丙酮或甲醇會和 DNPH 反應生成干擾物）淋洗玻璃器皿以取代烘箱加熱。玻璃器皿乾燥及冷卻後，儲放於乾淨的環境中。

（三）使用殘量分析級或高純度的試劑及溶劑可將干擾程度減至最小，必要時應使用蒸餾及再結晶等方法純化之。

（四）使用高效能液相層析儀分析高濃度樣品後，緊接著分析另一低濃度樣品時，可能會造成干擾。必要時可於分析高濃度樣品後注射溶劑預防殘留污染物。

（五）水樣中污染物之極性若與待測物類似，則可能造成干擾，必要時可使用質譜儀或其他液相層析管柱予以確認。

四、設備與材料

（一）採樣瓶：棕色玻璃材質，容積為 1 L，附螺旋瓶蓋，其內襯為鐵氟龍墊片。

（二）樣品瓶：棕色硼矽玻璃材質，附螺旋瓶蓋，其內襯為鐵氟龍墊片。

（三）微量注射器：容積為 10、25 或 100 μL 或適當體積之 HPLC 用微量注射針或自動注射器。

（四）定量瓶：棕色硼矽玻璃材質，容積為 10 及 100 mL。

（五）玻璃容器：可加蓋，容積為 250 mL 或適當體積。

（六）分析天平：可精稱至 0.1 mg。

（七）烘箱或高溫爐：可控溫至 450℃。

（八）水樣過濾裝置：容積 250 mL 之抽氣過濾裝置，使用直徑 13 mm 或適當直徑且孔徑為 0.2 μm 之聚酯(Polyester)或耐龍(Nylon)濾片，或性質相當者。

（九）C_{18} 淨化管柱：填充 4 mL（約 2 g）之乾淨 C_{18}(40 μm)於墊有乾淨濾片 PE 材質（20 μm 孔徑）之淨化用玻璃管柱（7 cm 長 × 1.5 cm 內徑）內，或市售 C_{18} 淨化管柱。（註 1）

（十）pH 計：可測量至 0.01 pH 單位。

（十一）氦氣或氮氣：純度 99.99% 以上。

（十二）排煙櫃。

（十三）高效能液相層析儀(HPLC)

1.能注入 20 μL 體積量，在 365 nm 測定之紫外光偵測器，可梯度沖提之泵。

2.資料收集處理系統。

3.層析管柱：

(1)分析管柱：C_{18} 逆相層析管柱，25 cm（長）× 4.6 mm（內徑）× 5 μm（粒徑），或同級品。

(2)保護管柱：視需要使用和分析管柱類似組成的保護管柱。

五、試劑

（一）試劑水：不含有機物之水。可將自來水流經活性碳以去除水中有機物，將蒸餾水煮沸 15 min 後，將水溫保持在 90℃，通入惰性氣體 1 小時以製備。亦可使用純水製造系統製備不含有機物之水或符合前述規格之市售水。

（二）乙腈：HPLC 級。

（三）過氯酸(Perchloric acid)溶液，2 M：秤取 28.71 g 或量取 17 mL 之 70% 過氯酸至 100 mL 量瓶中，再以試劑水定容至標線。

（四）衍生化試劑 DNPH：秤取 0.5 g 純度 97% 以上之 DNPH 於 100 mL 定量瓶中，再以乙腈定容至標線，以製備衍生化試劑。DNPH 使用前可依下步驟予以純化：以 100 mL 正己烷＋二氯甲烷（70 ＋ 30）萃取 2 g 之 DNPH 2 次，以乙腈再結晶，再用氮氣吹乾，亦可使用其他適當方法純化。

（五）氯化鈉：分析試藥級。

（六）甲醛、乙醛及丙醛之 DNPH 衍生標準品：可自行配製或使用市售可追溯濃度證明文件之標準品。

（七）標準溶液：

1.儲備標準溶液，1,000 μg/mL：溶解 0.0100 g 標準品級之甲醛、乙醛及丙醛之 DNPH 衍生物標準品於適量乙腈中 ， 定容至 10 mL。若標準品之純度大於或等於 96%，則可由稱取之標準品重量直接計算儲備標準溶液之濃度，而不須考慮因純度不足 100% 所造成之誤差。將儲備標準溶液移至棕色樣品瓶中，置於暗處貯存。本溶液之保存期限為 6 個月，此期間若其與品管樣品之比較結果顯示有問題或遭受污染時，即應重新配製；亦可使用濃度已經確認之市售各種濃度標準溶液。

2.中間標準溶液：精取各種儲備標準溶液 0.10 mL 分別置於 10 mL 量瓶中，以乙腈稀釋至標線，於 4℃ ± 2℃ 暗處貯存，本溶液之保存期限為 3 個月，此期間若其與品管樣品之比較結果顯示有問題或遭受污染時，即應重新配製；亦可使用濃度已經確認之市售各種濃度標準溶液。

3.檢量線標準溶液 ： 精取適當體積之中間標準溶液 ， 置於 10 mL 量瓶中，以乙腈稀釋成至少 5 種不同濃度之檢量線標準溶液。

（八）氫氧化鈉(NaOH)溶液，6 M：溶解 12 g 氫氧化鈉於 50 mL 試劑水中。

（九）鹽酸(HCl)溶液，6 M：取 25 mL 濃鹽酸(12 M)緩慢加入適量試劑水中，定量至 50 mL。

六、採樣與保存

以清潔玻璃採樣瓶，採集約 1 L 之水樣（採樣瓶不得以擬採集之水預洗），於 4℃ ± 2℃ 暗處保存。若水樣有餘氯存在時，於每升水樣中加入 100 mg 氯化銨，樣品應於 2 日內（註 2）完成衍生和萃取，萃取液須於 7 日內完成所有分析。

七、步驟

（一）檢量線製備

1.配合樣品中待測物之濃度，製備至少 5 種不同濃度之檢量線標準溶液，以製備檢量線，最低濃度須接近但稍高於方法偵測極限，其餘濃度則須涵蓋樣品中待測物之濃度。

2.分析完成後，繪製待測物濃度(μg/mL)對應波峰面積之檢量線圖，線性相關係數應大於或等於 0.995。

3.檢量線確認：檢量線製備完成，應即以第二來源標準品配製接近檢量線中點濃度進行確認（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），其相對誤差值應在 ± 20% 以內。

（二）水樣分析

1.將 5 mL 試劑水置於水樣過濾裝置內，使試劑水通過濾片將之潤濕。

2.經測試證實不漏之後，將約 200 mL 水樣置於過濾器內，使通過濾片，收集過濾水樣備用。飲用水可省略此過濾步驟。

3.精取 1.20 mL 之衍生化試劑和 2 滴之 2 M 過氯酸溶液於玻璃容器中。

4.加入過濾水樣至約 95 mL，以 6 M 之鹽酸或氫氧化鈉調整 pH 至 3.0 ± 0.1 左右，轉移至 100 mL 定量瓶中，以過濾水樣定容至標線；若用較少量之樣品體積，則以試劑水定容至標線，水樣體積為 Vs。

5.將定量瓶內液體轉移至玻璃容器並加蓋，輕輕搖動後，置於 4℃ ± 2℃ 冰箱中反應 2 小時。

6.將填充有約 2 g C_{18} 之玻璃淨化管柱於固相萃取真空裝置，以 10 mL 乙腈沖洗管柱。

7.取出冰箱中之玻璃容器，加入 3 g 氯化鈉。

8.將玻璃容器中溶液，以 3 至 5 mL/min 流率通過淨化管柱，在溶液流出管柱後，繼續抽真空 10 分鐘，捨棄流洗液。

9.以 9 mL 乙腈流洗管柱，收集流洗液於 10 mL 定量瓶中，以乙腈定容至標線。

10.以微量注射器注入檢量線標準溶液，記錄待測物波峰之滯留時間與面積，將樣品與檢量線標準溶液之層析圖相互比較，以定性樣品中是否含有待測物，並由檢量線求得樣品中甲醛、乙醛和丙醛之 DNPH 衍生物之含量。儀器操作條件可視實際需要適當調整如下（如圖一）：

時間 (min)	溶液組成(%)		流率 (mL/min)
	乙腈	水	
0-23	55	45	0.9
23-53	100	0	1.5
53-63	100	0	1.5
63-65	55	45	0.9

11.若樣品待測物波峰面積超過檢量線之線性範圍時，可取較少量之過濾水樣體積進行衍生化反應或是以乙腈稀釋最後收集的流洗液，再上機。

12.當無法確認待測物時，可使用質譜儀或其他液相層析管柱再確認之。

八、結果處理

依下式計算水樣中甲醛、乙醛和丙醛之濃度：

水樣中甲醛、乙醛和丙醛之濃度(μg/mL)＝ $A \times \frac{10}{Vs} \times CF \times D$

A：由檢量線求得樣品甲醛、乙醛和丙醛之 DNPH 衍生物之濃度(μg/mL)。

Vs：取出進行衍生化反應之水樣體積(mL)。

CF：從衍生物濃度換算為醛化合物濃度之校正因子，甲醛為 0.143，乙醛為 0.196，丙醛為 0.247。

D：稀釋倍數。

九、品質管制

（一）空白樣品分析：每 10 個或每批樣品（當該批樣品少於 10 個時）至少執行 1 次空白樣品分析，空白樣品分析值應小於方法偵測極限之 2 倍。

（二）重複樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行 1 次重複樣品分析，其相對差異百分比應在 25% 內。

（三）查核樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行 1 次查核樣品分析，其回收率應在 70% 至 130%。

（四）添加樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行 1 次添加樣品分析。

十、精密度與準確度

單一實驗室之方法偵測極限如表一，試劑水和放流水添加標準溶液所得之精密度與準確度如表二。

十一、參考資料

（一）凌永健，水中有機醛及嘉磷塞檢測方法之驗證報告，EPA-85-E3S3-09-04，行政院環境保護署環境檢驗所，台北，1996。

（二）U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring Systems Laboratory. 1992. Determination of Carbonyl Compounds in Drinking Water by Dinitrophenylhydrazine Derivatization and High Performance Liquid Chromatography, Method 554, Cincinnati, Ohio, U.S.A.

（三）吳家誠，水中鄰苯二甲酸酯類(PAEs)和醛類檢驗方法之研究報告，EPA-83-E3S3-09-02，行政院環境保護署環境檢驗所，台北，1994。

（四）K. Fung and D. Grosjean. 1981, Determination of Nanogram Amounts of Carbonyls as 2,4-Dinitrophenylhydrazones by High Performance Liquid Chromatography, Anal. Chem., 53, 168-171.

（五）F. Van Hoof, A. Wittocx, E. Van Buggenhout and J. Janssens, 1985, Determination of Aliphatic Aldehydes in Waters by High Performance Liquid Chromatography, Anal. Chin. Acta., 169, 419-424.

（六）U.S. EPA. Determination of Carbonyl Compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Method 8315A (SW-846), 1996.

註 1：C_{18} 和 PE 濾片，可使用丙酮:正己烷(1:1)為溶劑，以索氏萃取法迴流。

註 2：具生物活動之基質，例如地下水，因有代謝影響結果之疑慮，故建議應於 24 小時內完成前處理。

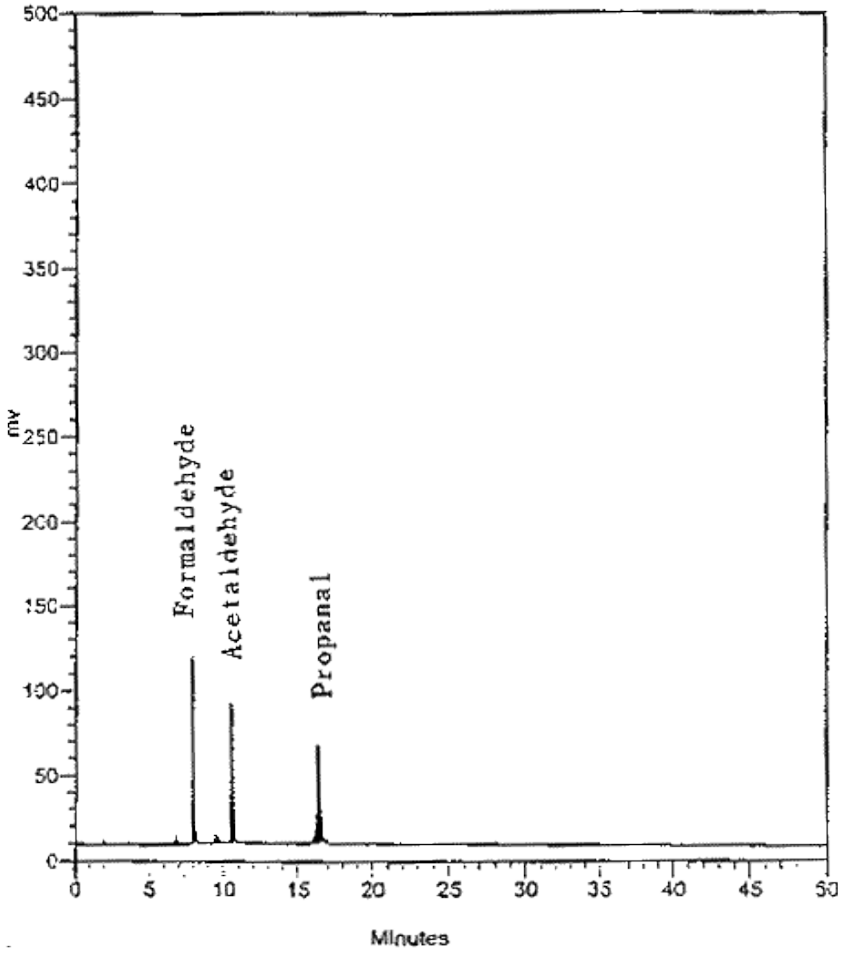
表一　甲醛、乙醛及丙醛之方法偵測極限(μg/L)

待測物	試劑水	去氯自來水	放流水
甲醛	11.9[a]	24.4	407
乙醛	2.6	9.8	314
丙醛	3.4	6.2	340

a 選用適當之礦質水做為試劑水，可降低至 3.2 μg/L。

表二　試劑水和放流水添加標準溶液之精密度與準確度

水樣	待測物	水樣濃度 (μg/mL)	添加濃度 (μg/mL)	回收率±標準偏差 (%)	分析次數
試劑水	甲醛	ND	0.2	115 ± 5	3
	乙醛	ND	0.2	93 ± 5	3
	丙醛	ND	0.2	82 ± 8	3
放流水	甲醛	ND	2.0	113 ± 2	3
	乙醛	ND	2.0	52 ± 3	3
	丙醛	ND	2.0	47 ± 3	3



圖一　4 ppm 甲醛、乙醛及丙醛 DNPH 衍生物之層析圖