

第二章 文獻回顧

一、 橄欖葉中鈹的分析方法

有關橄欖葉中鈹的分析方法，到目前為止尚未看到有文獻發表，所以參考本實驗室曾經測定人體頭髮中^[26]和魚貝類中^[27]鈹的方式進行。

二、 選用石墨式原子吸光法的理由

通常用來測定環境中鈹的方法有使用石墨式原子吸收光譜法 (GFAAS)^[27-32]分析魚肉中、植物中、水中、大氣中及合金中鈹之含量；有使用感應耦合電漿原子發射光譜法 (inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, ICP-AES)^[33]分析水中及植物樣品中的鈹；有使用感應耦合電漿質譜法 (ICP-MS)^[22,34,35]分析水中、土壤中、煤炭中與魚肉中的鈹；有使用氣相層析質譜法 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[36]分析生物樣品 (如人體血液、尿液和組織) 中鈹之含量；有使用離子層析法 (ion chromatography)^[37]分析水中鈹的含量；及使用分光光度計比色法 (spectrophotometry)^[38]測定合金中鈹之含量等。

在上述的方法中以 ICP-MS 和 GFAAS 具有較高的靈敏度，但由於 ICP-MS 的設備及維修費昂貴，而且推估橄欖葉中鈹的含量可能很

低，因此本實驗選用 GFAAS 作為分析的儀器。

三、 石墨式原子吸收光譜儀（GFAAS）的基本原理^[39]

GFAAS 主要用來測定溶液中微量金屬的濃度，約為 ppb（ng/g 或 $\mu\text{g/L}$ ）的程度。其操作方法是將已前處理妥的樣品溶液，取適量的體積注入石墨管內，利用電流將石墨管加熱，通常經四個加溫的步驟，使待測金屬由化合物分解為原子蒸氣，再用含有待測物的光源來測定重金屬的含量或濃度。

當樣品基質不複雜（如飲用水）時，通常前處理步驟可被省略，直接將樣品注入 GFAAS 分析；但當樣品基質複雜時，會有基質干擾的問題。基質干擾分為光譜干擾（spectral interference）與化學干擾（chemical interference）。產生光譜干擾的原因為干擾物與待測物在原子化時的吸收波長相近，使得偵測器無法解析辨別。而化學干擾則是待測物在原子化時受到化學反應而干擾其測定值，或是金屬化合物在原子化時未能完全被分解為原子蒸氣，產生分子吸收，或產生鹽類的顆粒造成光源的散射，一般可藉由添加適量的基質修飾劑、合適的加溫程式或使用 Zeeman 背景校正器來校正由化學干擾所引起的背景值。

1. 中空陰極燈管（hollow cathode lamp, H.C.L.）

H.C.L.是測定原子吸光時最常使用的光源之一，如圖 2-1 所示，此燈管包含鎢(tungsten)陽極和圓柱形中空陰極，燈管內填充 1–5 torr 的惰性氣體(如氬氣(argon)或氖氣(neon))，且陰極上鍍有待測元素之金屬。本實驗所使用鍍中空陰極燈管是填充氖氣，當通入電流(10 mA)時，兩電極施以 300 volts 之電壓，燈管內的氖氣被離子化，生成 Ne^+ 和 e^- ，其中 Ne^+ 移向陰極。當陰極表面被 Ne^+ 氣態陽離子撞擊時，使得陰極表面上所鍍的金屬原子被撞出而形成原子雲，稱為濺射(sputtering)。部分原子吸收能量躍遷至激發態，當回到基態時，會放出一定頻率的能量作為原子吸收光譜法所使用的光源^[39]。

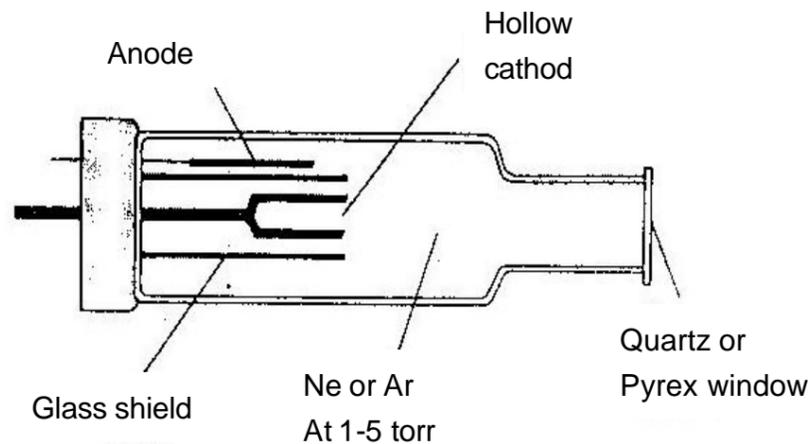


圖 2-1 中空陰極燈管之構造圖^[39]

2. Zeeman 背景校正系統^[39] (Zeeman background correction)

在原子化時，當原子蒸氣暴露在強磁場（0.1 – 1 tesla）下，電子能階會被分裂形成數條間距為 0.01 nm 之吸收譜線，而其總吸光度與分裂前的原始吸收譜線相等，此現象稱為 Zeeman 效應（Zeeman effect）。在原子吸收過程中，按照電子躍遷的型態有數種分裂的形式，其中最簡單的分裂圖形是單一態躍遷（singlet transition），會產生一中央 p 譜線及兩旁等距離且較微弱的 s 譜線。

圖 2-2 顯示利用 Zeeman effect 為背景校正的石墨式原子吸收光譜儀，來自 H.C.L.的光源通過一旋轉的極化器（rotating polarizer）時，將光源分成與磁場呈平行和垂直的兩極化光，當光源與磁場呈平行方向時，可測得待測物及干擾物之吸光度；當光源與磁場呈垂直方向時，僅測得干擾物之吸光度，兩者相減後，可得到待測物之吸光度。

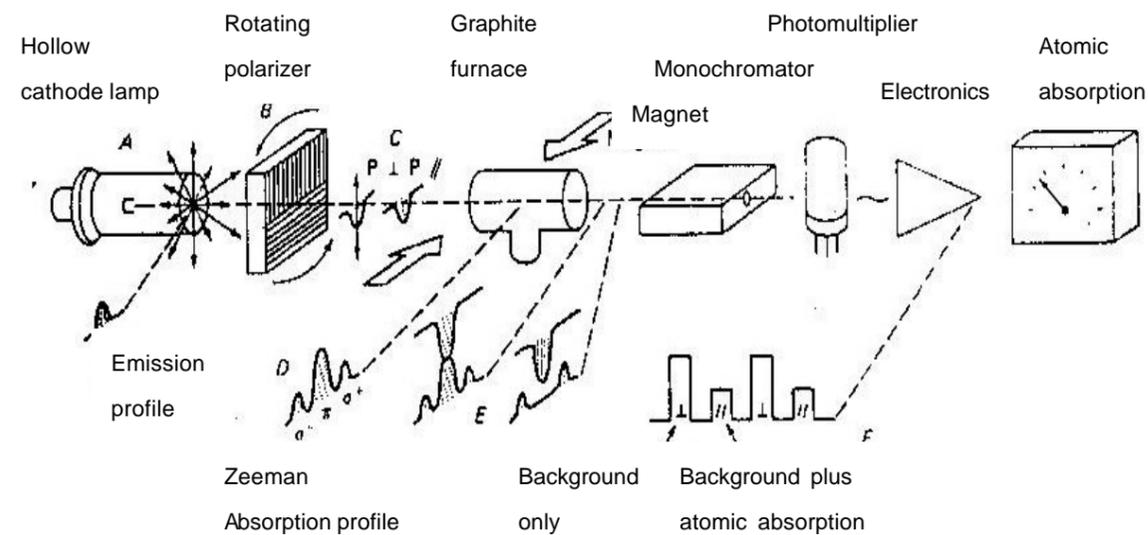


圖 2-2 以 Zeeman 效應為基礎作為原子吸收光譜的背景校正系統^[39]

3. 基質修飾劑 (matrix modifier)

為了降低樣品基質的干擾及提高待測物在原子化時的靈敏度，通常會加入適當的基質修飾劑，使在灰化步驟時，盡量將樣品中的基質移走。如樣品中含有 NaCl 時，因其沸點高達 1400 ，可能在原子化時對待測金屬產生干擾，可加入 NH₄OAc，使 NaCl 轉為 NaOAc 和 NH₄Cl (沸點約 350 – 380)，以降低樣品基質干擾。或是在樣品中加入合適的螯合劑或複合劑，使與待測物形成穩定的螯合物或複合物，在待測物不漏失的情形下，提高灰化的溫度來提高原子化時之靈敏度。

4. 合適的加溫程式 (suitable temperature program)

為了使待測物在原子化時有相對較高的吸光度和較小的背景值 (background)，所以改變加溫程式中乾燥、灰化、原子化的溫度與時間，並選用合適的清除溫度和時間。

(1) 乾燥 (drying)

Drying 需緩慢將溶劑蒸發。若加溫的溫度太高時，則樣品會濺出石墨管外造成待測物的漏失。

(2) 灰化 (ashing)

Ashing 用以移除樣品中可揮發的基質，在不漏失待測物的情況下，盡量提高灰化的溫度和時間，以期能將樣品中的基質盡量移除。

若加溫的溫度太高或時間太長時，則待測物在尚未達原子化之前，可能有部分漏失，造成原子化時吸光度偏低；若加溫的溫度太低或時間太短時，則原子化時之背景吸光度可能會偏高。

(3) 原子化 (atomization)

Atomization 用以測定樣品中待測物原子蒸氣的吸光度。將其它的加溫條件暫先固定，依序改變原子化的溫度和時間，使得待測物有相對最大的靈敏度和相對最小的背景值。在不影響靈敏度的情況下，同時注意原子化的溫度不致過高，以維持石墨管可使用的次數。若是加溫的溫度太高時，可能形成離子化(ionization)，導致吸光度偏低；若加溫的溫度太低時，可能會造成原子化的不完全，導致吸光度不高或產生記憶效應 (memory effect)。在原子化的步驟中，carrier gas 採用減緩或暫停吹入氣體 (flow is stopped) 的方式，以提高原子化時待測物的靈敏度，此時因 carrier gas 的冷卻作用暫停，故原子化的時間盡量不超過 5 sec。

(4) 清除 (cleaning)

Cleaning 原則上使用較高的溫度以盡量移走殘留在石墨管內的殘渣，以利下一個樣品的測定。

四、 適當的前處理步驟

來自環境中的樣品基質大都很複雜，由於干擾物和樣品基質會影響分析的結果，所以注入 GFAAS 前，樣品須經過適當的前處理步驟以降低樣品基質的干擾，但不使待測物漏失。此外，若待測物的濃度或含量很低無法準確被測得時，此時需藉由濃縮的方式將樣品中待測物的濃度提高，使能準確測得待測物的含量。因此本研究選用微波消化及固相萃取（solid phase extraction, SPE）的方式作為測定橄欖葉樣品中鉍的前處理步驟。

1. 微波消化

微波是一種以電磁波形式存在的能量，其能量介於紅外光與無線電波之間，頻率範圍為 $300 - 3 \times 10^5$ MHz 之間，水分子的轉動頻率為 2450 MHz，是一般較常用的頻率。微波主要是藉由偶極轉動（dipole rotation）與離子傳導（ionic conduction）兩種輻射傳遞方式，將能量傳遞給溶液，因此與一般傳統的加熱法不同。微波加熱以輻射的方式傳遞能量，可直接對溶液加熱，不需透過容器的傳遞熱量，因此可以減少熱能在傳遞過程中的散失，並且提升加熱速率，可以減少樣品消化的時間^[40-45]。

此外，選用密閉式的微波消化系統，藉密閉空間累積壓力，讓樣品的沸點比常壓（一大氣壓）高，加速反應速率，有效縮短樣品消化

的時間，並可減少消化試劑(酸)的用量，及避免外來物的干擾(如：空氣中微粒)^[40,43-45]，因此選用微波消化的方式作為前處理的步驟。

2. 固相萃取

從環境中取得的樣品基質可能很複雜且待測物的濃度低，可藉由固相材質的極性，將待測物濃縮萃取等步驟，以提高待測物的濃度。

本研究所使用的固相萃取材質為 Oasis hydrophilic-lipophilic balance (HLB, Water Co. 產品)，填充物主要是由 N-vinyl pyrrolidone (親水性) 及 divinylbenzene (親油性) 兩種不同特性 (1 : 1) 的單體所組成的分子聚合物 (copolymer)，屬於 reversed-phase mode，如圖 2-3 所示^[46]。若與極性最大的水相比時，Oasis HLB 是一種極性相對小的材質，因鈹與乙醯丙酮(acetylacetone)之螯合物[Be(acac)₂]屬於極性小的物質，所以當水溶液流經 Oasis cartridge 時，Oasis cartridge 可將 Be(acac)₂ 捕捉住，而極性大的物質 (如水)，則不易滯留在 cartridge 上，藉此達到分離及濃縮的效果。而滯留物再以適當的溶劑將它沖提出來，通常使用甲醇或極性更小的溶劑來沖提，如表 2-1 所列^[47]。

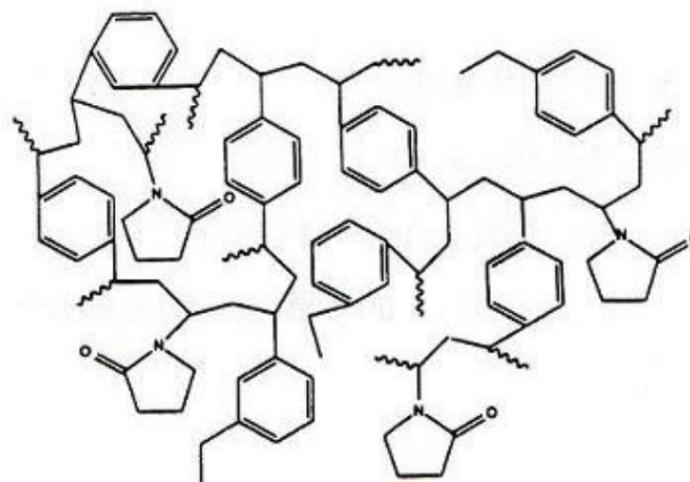


圖 2-3 Oasis HLB 固相萃取吸附劑的結構式^[46]

表 2-1 溶劑極性強度^[47]

	Strongest
Water	↓
Methanol	
Iso-propyl Alcohol	
Acetonitrile	
Acetone	
Ethyl Acetate	
Ethyl Ether	
Tetrahydrofuran (THF)	
Dichloromethane	
Chloromethane	
Toluene	
Iso-octane	
Hexane	

五、選用 acetylacetone (acac) 作為 Be (II)之螯合劑

由文獻得知,在 1952年 Adam et al.已開始使用 acetylacetone^[48] 作為測定鈹的螯合劑 由另外的文獻^[49,50]得知 Be (II)與 acetylacetone 可形成“BeL₂ 形式”的螯合物,即 Be(acac)₂,其形成常數 (over-all formation constant) 約為 10^{13.9},螯合物的結構屬 sp³ 型式,如圖 2-4 所示^[48]。

本實驗室,彭氏^[31]、李氏^[51]和徐氏^[27]測定飲用水中、空氣中、人體頭髮中和魚肉樣品中的鈹時,均使用 acetylacetone 作為螯合劑。所測得鈹的含量與標準參考品相比較時,都能得到良好的準確度和回收率。因此,本研究也選用 acetylacetone 作為鈹的螯合劑。

Be 與 acac 形成螯合物 Be(acac)₂之反應機構^[48,52]如下 :

由文獻^[48]得知,當水溶液之 pH 值為 6 時,acac 是以 enol form 的形式存在 (如圖 2-5 所示)。另由文獻^[52]得知,當水溶液之 pH 值由 4 改變到 6 時,Be²⁺的物種也漸由 Be²⁺(佔 84 %), BeOH⁺ (佔 4 %), Be₂(OH)₃⁺ (佔 8 %), Be(OH)₂ (佔 0 %) 改變至 Be²⁺ (佔 0 %), BeOH⁺ (佔 0 %), Be(OH)₂ (佔 100 %), 如表 2-2 所列。

因此若 pH 值靠近 6.0 時,Be²⁺的物種以 Be(OH)₂為主要 (約 100%), 可與 acac 的 enol form 結合為 Be(acac)₂的 chelate (如圖 2-4 所示) 和 1 mole 的 H₂O。

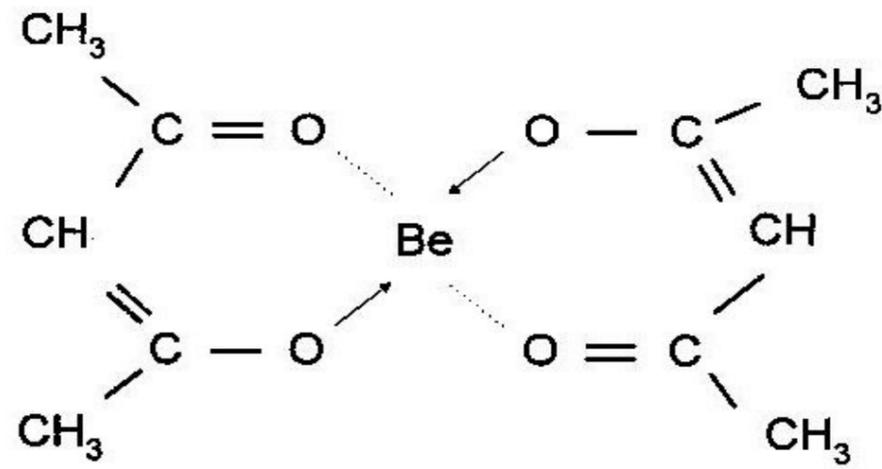


圖 2-4 鈹與 acac 螯合物之結構圖^[48]

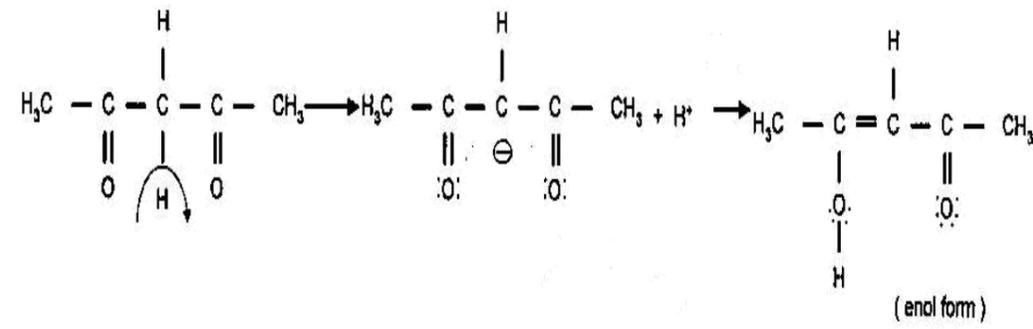


圖 2-5 acac 形成 enol form 的形式^[48]

表 2-2 鈹在 pH 值 4 至 6 的物種分布(以%表示)^[52]

	pH=4.0	pH=4.5	pH=5.0	pH=5.5	pH=6.0
Be^{2+}	84	45	12	-	-
BeOH^+	4	6	-	-	-
$\text{Be}_2(\text{OH})_3^+$	8	45	10	2	-
$\text{Be}(\text{OH})_2$	-	-	75	98	100