

第一章 前言

一、環境中的汞

汞，俗稱水銀，化學元素為 Hg，原子量 200.59，氧化價數有 0、+1、+2，在常溫常壓下是唯一為液態的金屬。沸點 (boiling point) 356 ；熔點 (melting point) -39 ；密度為 13.55 g/mL @ 20 。蒸氣壓 (vapor pressure) 大約為 1.6×10^{-4} KPa @ 20 ^[1]，即具有高揮發性。容易與一些金屬元素如銅、金等形成汞齊合金 (amalgam)。

自然環境是一個開放循環系統，各種型式之汞物種會在大氣、水體、土壤及生物體之間轉換與流動。在自然界中，汞的濃度不高但分布卻很廣，如：地殼中約含有 80 ppb (ng/g) ^[2]；大氣中的汞，以大都市為例，約為 5-50 ng/m³^[3]；一般的淡水水域，約為 20-60 ng/L ^[4]；海水中約有 10-30 ng/L ^[5]；一般土壤中約為 10-300 ppb (ng/g) ^[4,5]。

人類很早就知道汞具有毒性。十九世紀以後，隨著工業的發展，汞的用途愈廣，生產量遽增，由於人類的活動使得大量的汞進入環境中。環境中汞的來源大致可分為自然逸散與人為排放^[6]，自然逸散全球每年約有 2500 噸；人為排放約有 3500 噸^[7]。自然界地殼中含有汞 (約 80 ng/g)^[2]，因此自然逸散主要來自含汞岩層受風化與火山地熱氣體之逸散；人為排放大致可分為人們的日常生活(如使用含汞的日光燈、水銀電池)、實驗藥品(含汞試劑或溫度計)、工廠製造產品[如鹼氯工廠、含汞之農藥、殺菌劑(fungicides)]、燃煤[因煤碳中約含有 0.1-0.2(i g/g)Hg]^[2,8,9]火力發電廠之排煙及飛灰等排至大氣中、落到土壤中，或經由下雨，流到河川、水庫、或流至河海交叉口，或到大海中。無論是自然逸散或人為排放，最終的承受體即是大地與海洋。

而土壤污染的來源^[10]，通常是經由水污染，或空氣污染物之落

塵，或是廢棄物之處置不當或是農業生產材料施用不當所引起。當這些含有汞的物質進入土壤後，藉由擴散稀釋、生化轉化、生化降解等機制，轉變汞物質的型態，對生物及人類的危害性也因汞存在的形式而有很大的不同。汞在土壤中主要是以陽離子態（ Hg^{2+} ）存在，容易與有機物質結合[尤其是含有硫醇的官能基(thiol group, $-\text{SH}$)]形成穩定的複合物^[11-13]。在厭氧狀態下會與硫反應形成硫化汞^[14]，或經由生物作用轉變成元素汞、甲基汞、或二甲基汞等具揮發性且毒性較強的汞化物^[15-18]。

一般而言汞進入人體後，將與體內細胞($-\text{SH}$ group)結合，而影響人們的腎臟、傷害神經系統、引起麻痺、染色體分裂或甚至畸形兒童。^[2,18]自然界中汞大致可區分為三種物種：元素汞、無機汞與有機汞。各物種對人體毒害的程度也不同，其毒性大小依序為：有機汞>元素汞>無機汞。元素汞蒸氣進入人體，可穿透細胞膜，然後擴散到腦部的血管而危害大腦，引起慢性神經病症狀；無機汞則危害腎臟和免疫系統；有機汞因有較高的脂溶性，會累積在人體內而較不易排出，對中樞神經造成傷害^[19]。

美國職業安全衛生協會（Occupational Safety and Health Association, OSHA）建議每天在八小時的工作環境中，空氣中汞的平均值應不超過 $10\text{-}50\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$ ^[20]。我國目前訂定之水體中汞的可許濃度，如甲類陸域地面水體與甲類海域水體水質標準中，總汞最大的可許濃度為 $2.0\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ ^[21]；放流水之水質標準為 $5.0\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ ，甲基汞不得檢出^[22]。根據表 1-1(台灣地區土壤重金屬含量等級區分表^[23])得知，台灣地區土壤中總汞(全量，表土)之背景濃度大致在 $0.1\text{-}0.39\text{ }\mu\text{g}/\text{g}$ 之間，我國的土壤污染管制法中也訂定土壤中汞的濃度不得大於 $20\text{ }\mu\text{g}/\text{g}$ ，食用作物農地之管制標準為 $5\text{ }\mu\text{g}/\text{g}$ ^[24]。

表 1-1 台灣地區土壤重金屬含量等級區分表^[23](單位 $\mu\text{g/g}$)

重金屬	第一級	第二級	第三級	第四級	第五級 1	第五級 2
汞		< 0.1	0.1-0.39	0.40-20*	> 20*	> 20*

第三級：背景值；第四級：觀察值；第五級(1)：監測值；

第五級(2)：農地優先整治值

*栽種稻米之農地土壤，其汞含量大於 $1 \mu\text{g/g}$ 時，應比照第五級地區，列為土壤污染防治重點地區，優先進行監測與整治事宜。

二、石墨式原子吸收光譜儀 (graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry , GFAAS) 的基本原理

GFAAS 主要是用來測定溶液中重金屬的濃度，通常可達 $\mu\text{g/L}$ ，即 ppb 的程度。其操作方法為將已前處理妥之樣品，取適量 (10-50 μL) 注入石墨管內，藉著電流加熱的方式使石墨管持續升溫，經加溫程式的四個步驟：乾燥 (drying，將樣品中的水分和溶劑蒸發，在本實驗中是以甲醇為溶劑)、灰化 (ashing，盡量移除樣品中可被揮發的有機物質或樣品基質)、原子化 (atomization，提供一較高的溫度，使待測金屬由化合物分解為原子蒸氣 (atomic vapor)，測定其吸光度，作為定量之用) 和清除 (cleaning，提供一更高的溫度，維持數秒，將殘留在石墨管內的雜質盡量移除) 之後，使用氫氣和冷卻水在 30 秒內，將石墨管冷卻至室溫，即可再注入樣品。

若樣品基質不複雜時，通常可省略消化之前處理步驟，而直接將樣品注入石墨管內分析；但若樣品基質複雜時，則常產生基質的干擾問題。基質干擾大致分為兩種類型：即光譜干擾與化學干擾。產生光譜干擾的原因有二，其一是樣品基質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。另外是金屬氧化物在原子化時，未

能完全被分解為原子蒸氣，造成光源的散射；或在原子化時，樣品基質隨著待測金屬之原子蒸氣一同被偵測器測得，造成正干擾。一般藉由添加適量的基質修飾劑或合適的加溫程式來降低基質的干擾程度，或藉由 Zeeman 背景校正器來校正其背景值。至於化學干擾，則是待測物在原子化時受到化學反應而干擾其測定值，同樣亦可經由合適的加溫程式或是添加適當的基質修飾劑來降低干擾。

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

中空陰極燈管為測定原子吸收時最常使用的光源，如圖 1-1 所示，此燈管包含鎢 (tungsten) 陽極的圓柱形中空陰極，燈管內充滿 1-5 torr 之氖氣 (neon) 或氬氣 (argon)，且陰極上鍍有待測元素之金屬，本實驗所用的汞中空陰極燈管是填充氖氣。當兩電極間施以 300 伏特的電壓時，氖氣產生離子化，當電壓足夠大時，氖離子 (Ne^+) 可以得到足夠的動能而撞擊陰極表面的金屬原子，產生電子雲，此種過程稱為濺射 (sputtering)，一部份被濺射的金屬原子處於激發態，當其回到基態時放出特定波長的能量，作為測定 Hg^0 原子吸光儀的光源^[25]。

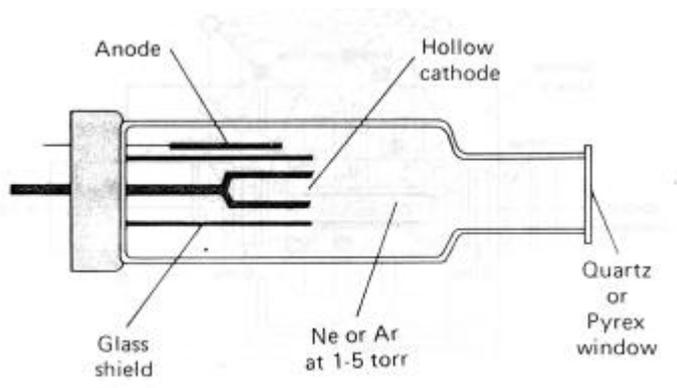


圖 1-1 中空陰極燈管之構造圖^[25]

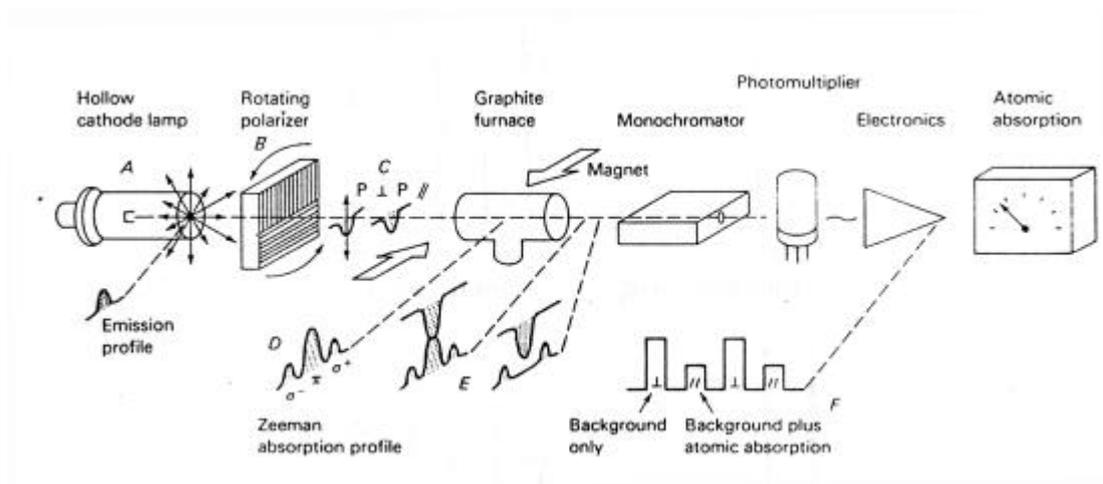
2. Zeeman 背景校正系統 (Zeeman background correction)

當原子蒸氣暴露在一強磁場 (0.1 至 1 tesla) 時，原子的電子能階將會被分裂，導致每個電子躍遷形成數個吸收譜線，這些吸收譜線的差異約在 0.01 nm，而其總吸收度與分裂前的原始吸收譜線相等，這種現象稱為 Zeeman 效應 (Zeeman effect)，對原子光譜而言是很常見的。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，最簡單的分裂圖形是單一態躍遷 (singlet transitions)，有一中央 (或 π) 譜線和二條等間隔的附屬 σ 譜線，中央譜線位於原始波長上，其吸收度為 σ 譜線的兩倍。更複雜的躍遷時，則 π 譜線和 σ 譜線將產生更多的分裂。

Zeeman 效應應用於原子吸光儀是基於兩種不同型態的吸收峰，其中 π 波峰只吸收與外加磁場呈平行的極化輻射，而 σ 波峰僅吸收與外加磁場呈垂直的極化輻射，此吸光度通常很小或可忽略不計。圖 1-2 顯示利用 Zeeman 效應為背景校正的石墨式原子吸收光譜儀，來自中空陰極燈管未極化的光源通過一旋轉的極化器 (rotating polarizer)，將光源分成兩互相垂直的平面極化光。當與磁場呈平行方向的光源通過時，可測得待測物及背景之吸光度；當與磁場呈垂直

方向之光源通過時，僅測得背景之吸光度，兩者相減可得到樣品之實際吸光度。 [25,26]

圖 1-2 以 Zeeman 效應為基礎作為原子吸收光譜的背景校正系統^[26]



3. 基質修飾劑 (matrix modifier)

使用 GFAAS 測定重金屬之濃度，當樣品的基質較單純時，通常可省略消化的前處理步驟，但為了：(1) 降低樣品基質的干擾；或(2) 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，盡量移走樣品中的基質，如：水樣中含有 NaCl 的基質時，因其沸點高達 1400，可能在原子化時對待測金屬元素產生干擾，可加入 NH_4NO_3 將 NaCl 轉換為 NH_4Cl 和 NaNO_3 (沸點約 350-380)，以降低樣品基質的干擾。或在待測物中，添加基質修飾劑 (如複合劑或螯合劑) 使與待測物形成穩定之複合物 (或螯合物)，藉以提高灰化溫度，盡量將樣品基質移走，但不致使待測物流失，以提高原子化時之靈敏度。

4. 合適的加溫程式

在探討合適的加溫程式時，即依序改變加溫程式中的乾燥、灰化

和原子化的溫度與時間，然後選擇適當清除的溫度與時間，主要的目的是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^[27]。

(1).乾燥 (drying)

Drying 是用以移除樣品中的溶劑，通常選擇在稍高於溶劑沸點之溫度。若加溫時間太短或溫度太低時，則在灰化時可能會有溶劑的訊號產生，若加溫的溫度太高時，則樣品會濺出石墨管外，造成漏失。

(2).灰化 (ashing)

Ashing 用以移除樣品中的基質，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。若加溫的溫度太低或時間太短時，則原子化時之背景吸收值可能會太高；若加溫的溫度太高或時間太長時，則待測物在尚未達到原子化之前，可能有部分漏失，造成原子化時吸光度偏低。

(3).原子化 (atomization)

Atomization 用以測定樣品中待測物的原子蒸氣，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。但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，以維持石墨管的使用次數。若加溫的溫度太低時，可能會造成波峰變寬；若是加溫的溫度太高時，由於石墨管的 emission，將使 baseline 往下震盪。在原子化的步驟中，採用 carrier gas 暫停吹入石墨管的方式，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，故原子化時的時間盡量不超過 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。

三、適當的前處理步驟

一般來自環境中的樣品，因為基質可能很複雜，很少能直接注入儀器作分析，通常需藉助前處理步驟以移除干擾物，但盡量不要使待測物漏失。另一方面，即使可以直接分析，也常會遇到待測物的濃度低於方法偵測極限，這時必須藉著濃縮的方式以提高待測物的濃度，使其能被測得。因此本實驗選用微波消化及固相萃取(solid phase extraction, SPE)的方式做為測定土壤中總汞的前處理步驟。

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間，頻率範圍為 $300-3 \times 10^5$ MHz 之間，其中，較常用的頻率為 2450 MHz，此為水分子的轉動頻率。微波是藉著離子傳導(ionic conduction)及偶極矩轉動(dipole rotation)，將能量傳遞給溶液。因此，微波加熱法與一般傳統加熱法最大的不同處是能量傳遞的方式。微波加熱法是以輻射的方式傳遞能量，此種方式可直接對溶液進行加熱，不需經過容器傳遞熱量，因此可提升加熱的速率，降低熱能在傳導過程中的散失。故使用微波加熱可以明顯縮短樣品消化所需的時間 [28-33]。

另外，選用密閉式微波消化系統可以使樣品在密閉的空間中進行加熱，藉著密閉空間累積的壓力，使試劑的沸點比常壓(1 大氣壓)高，

讓反應的速率加快，縮短樣品的加熱消化時間，並可以減少試劑(如酸或鹼)的用量及降低或去除來自空氣中微粒所造成的污染等^[28,31-33]優點，故本實驗選用微波消化的方式來進行樣品的前處理步驟。

2. 固相萃取

本實驗所使用的固相萃取材質 C₁₈ 是一種相對極性很小的材質，將 silica (-Si-OH) 上之 -OH 以 -C₁₈H₃₇ 的長鏈取代，鍵結在 -Si 上，此長鏈可將極性小之物質滯留於其上，因此當水溶液流經 C₁₈ cartridge 時，極性小的物質較容易被滯留在 C₁₈ cartridge 上，而極性大的物質，則會流過 cartridge，藉此達到分離與純化的效果。然後以適當溶劑將滯留物沖提出來，此溶劑通常使用甲醇，或極性相對更小之溶劑。

固相萃取法比傳統的'液相-液相萃取 (liquid-liquid extraction)''法要省時以及節省溶劑的耗用^[34]，並且有較大的濃縮倍數，較佳的效率和再現性^[35]。固相萃取管匣可視為一個小型的 HPLC column，所填充的固相材質平均粒徑為 40 μm，孔徑為 100-120 Å^[34]，此粒徑和孔徑均比 HPLC column 大，所以樣品通過管匣，不需像 HPLC 要外加一高壓。至於選擇適當固相材質的原則，就如同選擇適當的 HPLC column (stationary phase)；選擇適當的溶劑沖提流洗，就如同選擇適當的 HPLC mobile phase。在 reversed-phase LC，一般常以含有 C₁₈ 的材質化學鍵結於 silica 上作為 HPLC column，而以甲醇 (methanol) 或氰甲烷 (acetonitrile) 和純水之混合物，作為 HPLC 之 mobile phase。因此本實驗在固相萃取方面，採用 Sep-Pak C₁₈ cartridge 作為固相，以甲醇為 eluting solvent。

四、選用 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate(DMPS)作為汞離子的複合劑

汞會累積在人體肝、腎、腦中，傷害神經系統，破壞蛋白質、核酸，造成先天性畸形兒^[18]，這是由於大部分蛋白質均含有硫醇官能基(-SH)，而硫醇基對汞離子有很強的親和力^[12,13]，會形成穩定的硫醇鹽類，很容易干擾蛋白質的正常生理功能。文獻中曾提到 DMPS [$\text{CH}_2(\text{SH})\text{-CH}(\text{SH})\text{-CH}_2\text{-SO}_3^-$]在醋酸鈉緩衝溶液(pH 值約在 4-6)中，曾被用為老鼠體內無機汞(Hg^{2+})和有機汞(CH_3Hg^+)中毒時的解毒劑^[19,20,36,37]，能將汞排出體外，這是由於 Hg^{2+} 與 DMPS 結合的 formation constant 很大, $\log(K_{\text{stab.}})=42.2$ ^[36];而 CH_3Hg^+ 與 DMPS 結合的 formation constant 也約有 $\log(K_{\text{stab.}})=21.0$ ^[37]，可知 DMPS 與汞(Hg^{2+} 或 CH_3Hg^+)可形成穩定的複合物。本實驗室，王氏^[38]曾以醋酸鈉緩衝溶液控制水樣之 pH 值在 6.0 左右，使用 DMPS 作為汞的複合劑，直接測定飲用水中總汞；黃氏^[39]也曾藉助 DMPS 與汞結合的能力，和經 Sep-Pak C₁₈ cartridges 濃縮後，測定飲用水中微量的總汞和大氣中的甲基汞^[40]。陳氏^[41]曾應用此濃縮方式測定人體頭髮中的總汞和甲基汞^[42]。因此，本實驗也嘗試使用 DMPS 作為測定土壤中總汞之複合劑。DMPS 之結構式如圖 1-3 所示。

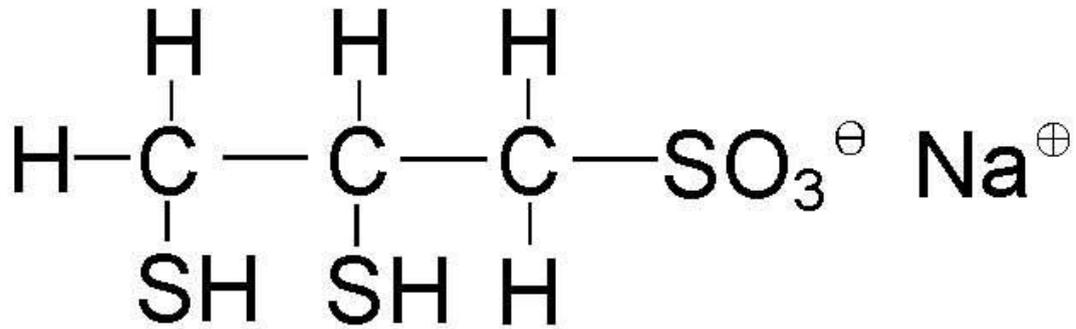


圖 1-3 2,3-Dimercaptopropane-1-sulfonate (DMPS)之結構式

五、研究目的與方法概述

本實驗藉由微波消化萃取土壤基質中的總汞，經調整 pH 值至 6.0-7.0 後，使用 DMPS 與 CH_3Hg^+ (或 Hg^{2+}) 形成複合物。藉由自製 C_{18} cartridge 濃縮後，用甲醇將此複合物沖洗出，並使用 GFAAS 測定土壤中總汞的含量。由實驗所得的結果作為探討使用本方法測定土壤中總汞的可行性，希望能以 DMPS 作為複合劑，得到準確分析土壤中總汞的方法。

第二章 文獻回顧

一、土壤中汞的分析方法

1.土壤中總汞

目前有關土壤中總汞的測定方法，應用最廣的是原子吸收光譜法。一般都先加入酸(如硝酸^[43-52]、鹽酸^[43-45,52]、硫酸^[43,50-53]、過氯酸^[34,48,50]或氫氟酸^[43,48])將土壤消化，或使用溶液萃取^[46,54]、超臨界流體萃取^[55]等前處理步驟後，再使用石墨式原子吸收光譜法(GFAAS)^[47]、原子螢光法(AFS)^[49,51]或感應耦合電漿質譜法(ICP-MS)^[56]測定。也有使用還原劑(SnCl_2 或 $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$)將汞還原成汞蒸氣，使用冷蒸氣原子吸收光譜法(CVAAS)^[43-46, 50,53,57,58]；或是直接加熱，使汞揮發成汞蒸氣，先與金形成汞齊作為前濃縮步驟，再加熱將汞脫附出，以冷蒸氣原子吸收光譜法^[45,57,59]測汞。國內有關土壤中汞的檢測方法(NIEA S340.60T)^[58]是將樣品加入濃硫酸和濃硝酸，在室溫下放置 48 小時後，加入高錳酸鉀使汞氧化成 Hg^{2+} 後，加入氯化亞錫還原為汞蒸氣(Hg^0)，以冷蒸氣原子吸收光譜法測定總汞。

有關測定土壤中總汞的方法分別敘述如下：

(1).使用原子吸光法(atomic absorption spectrometry , AAS)

(a)取 0.3 g 土壤樣品加入 14 mL 酸液(3.5 mL HNO_3 +10.5 mL HCl ；或 3.5 mL HNO_3 +10.5 mL HCl +1 mL HF)。

於 200 微波加熱消化 30 min 後過濾，再加水稀釋至 50 mL，使用 CVAAS 測定總汞。線性範圍(Linear Range , L.R.)

- 為 83-3320(ng/g)Hg ; 偵測極限 (Detection Limit , D.L.) 為 83 ng/g ; 回收率(% Recovery)為 94-104%。 [43]
- (b)取 0.25 g 土壤樣品加入 1 mL 濃鹽酸 , 於 200 微波加熱消化 30 min , 經過濾並加水稀釋至 50 mL 後 , 使用 CVAAS 測定總汞。線性範圍為 100-4000(ng/g)Hg ; D.L. 為 100 ng/g ; % Recovery 為 95-98%。 [44]
- (c)將 0.2 g 土壤樣品直接加熱至 800 , 使用 N₂(300 mL/min) 將汞蒸氣直接導入 CVAAS , D.L. 約為 200(ng/g)。或是於 2 g 土壤中加入 20 mL 王水 , 於 160 加熱 3 小時 , 再以 SnCl₂ 將汞還原為汞蒸氣 , 使用 CVAAS 測定總汞。 [45]
- (d)取 1 g 土壤樣品加入濃硝酸 , 於 80 加熱 4 小時 , 再加入 1 mL 0.2 M BrCl 氧化劑 , 使 CH₃Hg⁺ 完全被氧化為 Hg²⁺ , 經過濾後 , 加水稀釋至 50 mL , 使用 CVAAS 測定總汞。 [46]
- (e)將適量土壤樣品直接加熱至 400 , 吹入 N₂ 將 Hg⁰ 帶出並與 Au column 形成汞齊 , 接著以 700 將汞脫附出 , 再以 CVAAS 測定總汞 , 所得之 D.L. 的絕對量為 20 ng。 [57] 或是將 0.20-0.50 g 土壤樣品直接加熱至 750 , 吹入 O₂ 將汞(Hg⁰)帶出 , 與 Au 形成汞齊後 , 再加熱至 900 , 將 Hg⁰ 脫附出 , 以 CVAAS 測汞 , 線性範圍為 35-7060 ng/g , D.L. 為 35 ng/g。測得土壤標準參考樣品 GBW 07406 [certified value 75 ± 5(μg/g)Hg] 之值為 75.1 (μg/g) ; CRM 143R

Sewage amended soil [certified value $1.10 \pm 0.07(\mu\text{g/g})\text{Hg}$]-之值為 $1.10 \pm 0.02(\mu\text{g/g})$ 。 [59]

(f)將 0.01~0.125 g 土壤樣品加入 1 mL 40% HF[內含有 1% (v/v) HNO_3 和 1% (w/v)(NaPO_3)₆], 混合均勻形成 slurry 後, 以自動取樣器取出 10 μL 注入石墨管, 並加入 1 μL AgNO_3 及 3 μL KMnO_4 作為基質修飾劑, 使用 GFAAS 測定總汞, D.L.為 100 ng/g, 測得土壤標準參考品 SRM 2711 Montana soil [certified value $6.25 \pm 0.19(\mu\text{g/g})\text{Hg}$]-之值為 $6.35 \pm 0.18(\mu\text{g/g})$; SRM 2709 San Joaquin soil [certified value $1.40 \pm 0.08(\mu\text{g/g})\text{Hg}$]-之值為 $1.37 \pm 0.07(\mu\text{g/g})$ 。 [47]

(g)取 0.5-2g 土壤樣品, 加入 1.2 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 及 20 mL H_2O , 再加入 20 mL H_2SO_4 , 以 180 消化 60 min (加裝冷凝器), 再以 H_2O 定量至 100 mL, 使用 CVAAS 測定汞含量, L.R.為 4-200 ng, D.L.之絕對量為 4 ng, 測得土壤標準參考樣品 BCR 141 Calcareous Loam Soil [certified value $0.0568 \pm 0.0043(\mu\text{g/g})\text{Hg}$]-之值為 $0.0577 \pm 0.0015 (\mu\text{g/g})$; BCR 142 Light Sandy Soil [certified value $0.1040 \pm 0.0123(\mu\text{g/g}) \text{Hg}$]-之值為 $0.1026 \pm 0.0020 (\mu\text{g/g})$ 。 [53]

(2).使用原子螢光法(atomic fluorescence spectrometry, AFS)

(a)取 0.25 g 土壤樣品, 加入 10 mL conc. HNO_3 , 於 175 微波消化 15 min, 過濾後, 加水稀釋至 25 mL, 取出 10 μL 注入石墨管, 使用石墨式原子吸光儀進行乾燥

和灰化後，再使用雷射激發原子螢光法(ETA-LEAFS)測定汞的含量，D.L. 為 0.14 ng/g，%Recovery=94-98%。^[49]

(b)取 10 g 土壤加入 15 mL HNO₃/H₂SO₄/H₂O (1 : 2 : 1)及 20 mL 5% KMnO₄，靜置 3 小時後，加入 15 mL 4% K₂S₂O₈，於 65-70 加熱 1 小時，再以 100 mL H₂O 稀釋後過濾，加入 4.5 mL NH₂OH HCl，倒入 500 mL 瓶內再加入 20 mL 還原劑[SnCl₂ in conc. HCl]，使用氣體循環裝置(1 小時，600 mL/min)將汞帶至一吸收液瓶中(15 mL，5% KMnO₄ in 20% H₂SO₄)，使用螢光光譜法測定汞的含量。線性範圍為 1-495 ng/g，D.L.為 1 ng/g，最低可準確被測得的濃度(Limit of Quantitation, LOQ) 為 2.25 ng/g，%Recovery=95.3-100.8 %。^[51]

(3).使用光譜比色法(uv-vis spectrophotometry, UV-VIS)

(a)取 0.5 土壤樣品，加入 7 mL conc. HNO₃、4 mL HClO₄ 和 4 mL HF，以 150 加熱 11 小時，再蒸發至近乾，將冷卻後之殘餘物溶於 50 mL 1.0 M HCl 中，過濾後，流經前濃縮管柱含有 2 g ABMBT.SG [(aminopropyl-benzoylazo-2-mercapto-benzo-thiazole bonded to silica gel)]使汞停留於其中，再以硫尿素(thiourea)沖洗出汞，以 uv-vis spectrophotometry(=485 nm) 測定汞含量。

%Recovery 為 96-97% for a reference polluted soil (No.885 , Beijing,China , 約含汞 2.15 $\mu\text{g/g}$)。 [48]

(b)於 2 g 土壤樣品中加入 10 mL 1 : 2 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, 冰浴加入 2 mL conc. HCl , 再以熱水浴於 50-60 消化 3 小時 , 冷卻後加入 5 mL 6%(w/v) KMnO_4 , 再緩慢加入過錳酸溶液直到紫色持續 15 min 以上 , 加入適量 H_2O_2 後過濾 , 以 H_2O 定量至 25 mL , 以比色法測定汞的含量。 [52]

(4).使用感應耦合電漿質譜法(inductively coupled plasma mass spectrometry , ICP-MS)

取 0.1 g 土壤樣品 , 加入 4% HCl (v/v)和 0.1% Triton X-100(v/v)後 , 加水至 20 mL , 混合均勻形成 slurry , 取出 12 μL 注入石墨管 , 經石墨式 AA 之乾燥和灰化後 , 將原子蒸汽導入 ICP-MS (ETV-ICP-MS) , 測定汞的含量 , 由三種不同土壤樣品所得之 D.L.在 2-19 ng/g 之間 , %Recovery 為 39%。測得 SRM 2711 Montana soil [certified value $6.25 \pm 0.19(\mu\text{g/g})\text{Hg}$]之值為 $4.44 \pm 0.05(\mu\text{g/g})$ 。 [56]

2. 土壤中有機汞

至於測定土壤中有機汞的方法 , 大多使用溶劑萃取的方式 , 或是藉用 HPLC 將有機汞物種分離後 , 使用原子吸收光譜法^[50]或是原子螢光法^[46]測定汞的含量。

有關測定土壤中有機汞的方法分別敘述如下 :

(1).使用原子吸光法(AAS)

於 1 g 土壤中加入 0.4 g CuCl 及 10 mL 1M HCl(內含 3% NaCl)，離心萃取 (2 min, 3000 rpm) 3 次，再以 7 mL CHCl₃ 萃取有機汞，連續三次，收集有機相，水溶液層作為無機汞之測試。在有機相中，加入 0.4 mL 2% dithizone in chloroform 作為螯合劑，並濃縮至乾。將有機相之殘餘物及無機水溶液分別加入 2 mL 1:1 硝酸/過氯酸與 5 mL 濃硫酸，經熱板加熱(230) 30 min，冷卻後用水稀釋至 50 mL，以 CVAAS 分別測定有機汞和無機汞之含量。有機汞之 D.L.為 1 ng/g；無機汞之 D.L.為 8 ng/g。甲基汞之 %Recovery 為 97%，無機汞之 %Recovery 為 102%。^[50]

(2).使用原子螢光法(AFS)

在 5 g 土壤樣品中，加入 5 mL 0.1 M citrate buffer(pH=2)，以 10 mL dithizone in chloroform 萃取出有機汞，再加入 thiosulfate solution 將有機汞反萃取至水溶液中，流經 HPLC 分離，再將有機汞還原為汞蒸氣，以 CVAFS 測定汞的含量，D.L.為 0.1 ng/g。^[46]

冷蒸氣原子吸收光譜法的優點是靈敏度高、可信度佳，此方法通常需要加入大量的氧化劑，即利用強氧化劑(如 K₂Cr₂O₇ 或 KMnO₄)，將土壤或底泥樣品中全部的汞氧化成為最高氧化態的二價汞，再用還原劑(如 SnCl₂ 或 NaBH₄)，將二價汞還原成元素態的汞，藉著 cold vapor 的設備，偵測極限可達 0.2 µg/L^[60]。而 ICP-MS 具有很高的靈敏度，但因儀器設備和維護費昂貴，一般實驗室少有。近來發展的 slurry sampling 技術，將固體樣品磨細後，置入適當溶液中攪拌均勻

形成泥狀物，再引入 GFAAS^[47]或 ICP-MS^[56]偵測，可減少前處理手續步驟與污染的可能性。而 HPLC^[46]則著重在汞物種之分離，但利用 HPLC 分離後，所使用的偵測器仍大都需連接靈敏度較高的 AAS、AFS^[46]或 MS。至於 GFAAS 是另一種較常用且靈敏度高的方法。

二、以石墨式原子吸收光譜法測定汞曾使用的基質修飾劑

由於汞在室溫即具有揮發性，因此在分析過程中需添加基質修飾劑，以提高汞在石墨爐的熱穩定性，即在乾燥和灰化步驟時，盡量不使汞揮發而漏失。

以 GFAAS 測定汞，曾被使用的基質修飾劑有： $K_2Cr_2O_7+HNO_3$ ^[60,61]， $(NH_4)_2S$ in HNO_3 ^[62]， TeO_2 in 2% HCl ^[63]， $Pd+Pt$ ^[64]， $Pd+Mg(NO_3)_2$ ^[65]， Au ^[64]， Ag ^[64]， Pd ^[66]， $Au+Rh$ ^[66]， $DMPS+NaOAc(pH=6.0)$ ^[38]。加入 $(NH_4)_2S$ 的目的是要與汞形成穩定的硫化物；加入 $K_2Cr_2O_7$ 是將汞氧化成二價汞的型態；Te 等非金屬會與汞形成穩定的晶體結構；Pd、Pt、Au、Ag、Rh 等重金屬會與汞形成穩定的汞齊；至於 DMPS 與汞有很大的結合常數^[36,37]，能形成穩定的汞-DMPS 複合物。以上方法都有一共同特色，即將汞形成另一個穩定型態的汞化物，避免 Hg^{2+} 還原成 Hg^0 ，因 Hg^0 較 Hg^{2+} 易揮發而漏失。

三、DMPS 與汞形成複合物的可能結構

DMPS 最早是由蘇俄人 Peturkin 所合成，是一種水溶性且會與

一些金屬(如：As(III)，Cd(II)，Hg(II)或 CH_3Hg^+ 等)形成複合物的試劑^[67]，尤其會與汞形成穩定的複合物。文獻指出，當水溶液的 pH 值在 5.5-6.5 之間^[64-66]，DMPS 可與汞結合形成穩定的複合物，本實驗室，王氏^[38]曾以 GFAAS 測定飲用水中總汞(0.25-40 $\mu\text{g/L}$)，當 pH 值在 6.0-6.5 之間，可得到相對較大的吸光度。由 DMPS 與 NaOH 的滴定曲線^[38]得知，DMPS 的 pK_{a1} 很小(因磺酸的氫離子是完全解離)， pK_{a2} 約在 8.5，文獻上，也列出 DMPS 之 pK_{a2} 值約在 8.7^[68]。此外，在 25 mL 水溶液中含有 NaOAc buffer(1.0 mmol, pH=6.0) 和固定量(50 ng)的汞(如 0.25 nmol Hg^{2+} 或 0.23 nmol CH_3Hg^+)，添加不同量(0-300 μg)之 DMPS^[40]，相當於 DMPS 與 Hg^{2+} 之 molar ratio 由 0-5000；或 DMPS 與 CH_3Hg^+ 之 molar ratio 由 0-5000。經濃縮至兩個串聯之 Sep-Pak C_{18} cartridge 後，每個 cartridge 用約 2 mL 甲醇洗出，並定量至 2.00 mL，各取出 50 μL 注入石墨式原子吸光儀，所得總汞之回收率及 molar ratio 如圖 2-1 所示。當 DMPS 與 Hg^{2+} 之 molar ratio 為 2-250 時，可得到約 50 ng 汞之回收率 而 DMPS 與 CH_3Hg^+ 之 molar ratio 為 4-500 時，也可得到約 50 ng 汞之回收率 因此， Hg^{2+} 與 DMPS 之 molar ratio 以 1 : 2 表示，而 CH_3Hg^+ 與 DMPS 之 molar ratio 則以 1 : 4 表示。

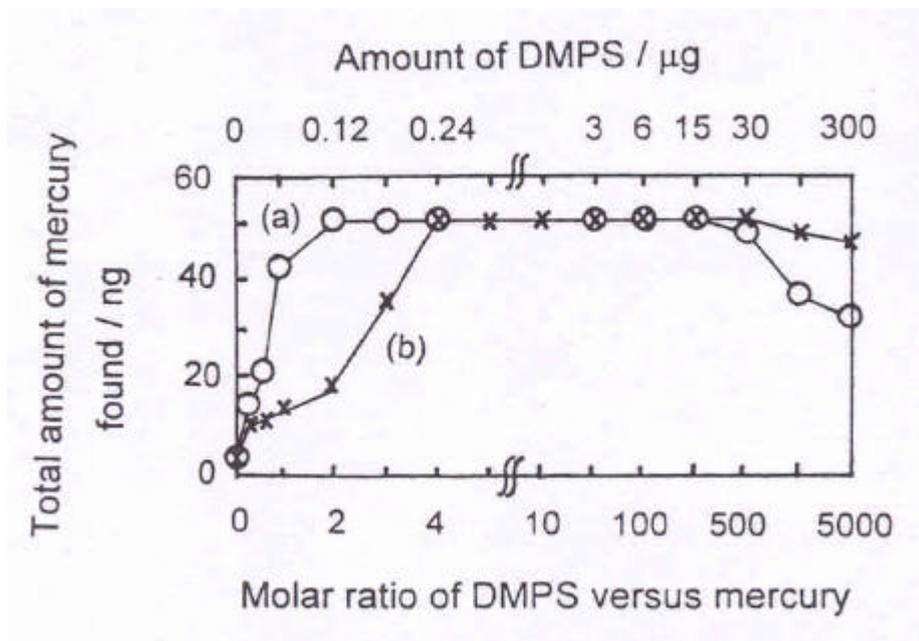


圖 2-1 改變 DMPS 的用量對回收 50 ng 總汞的情形(a) Hg^{2+} -DMPS
(b) CH_3Hg^+ -DMPS

第三章 實驗部分

一、儀器設備及材料

1. 石墨電熱式原子吸收光譜儀(graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry, 簡稱 GFAAS) :
Hitachi Z-8000 型附有偏極化茲曼背景校正器 (polarized Zeeman background corrector)。
2. 汞中空陰極燈管(mercury hollow cathode lamp) :
購自 S&J Juniper Co.(England)。電流設在 6 mA, 波長設在 253.7 nm 處, 狹縫寬度選用 1.3 nm, Gain 設定在約 85%, 使用前需先將汞中空陰極管預熱至少約 30 分鐘, 使達到穩定的電流。
3. 石墨管(graphite tube-cuvette) :
使用 uncoated graphite tube-cuvette(Hitachi, part No.180-7400)。
4. 氬氣(argon) :
使用高純度氬氣(99.99%)作為石墨式原子吸收光譜儀的帶動氣體(carrier gas)與冷卻氣體(cooling gas), 購自台中大統氧氣行。
5. 微波消化系統 (microwave accelerated reaction system) :
CEM 微波消化儀器公司產品(U.S.A.), 型號 MARS-5, 為密閉式的消化系統, 附有溫度控制。微波消化瓶使用

HP-500 型(材質是 Teflon-PFA , 體積約為 120 mL)。微波功率最高可輸出 1200 W , 也可設定連續微波 300 W 與 600 W , 爐腔最多可放置 14 組密閉式樣品瓶。

6. 微量樣品鐵氟龍消化瓶 :

CEM 產品 , 體積 7 mL , 用於微量樣品 (< 0.1g) 的消化 , 型號 920271 , 如圖 3-1 所示。

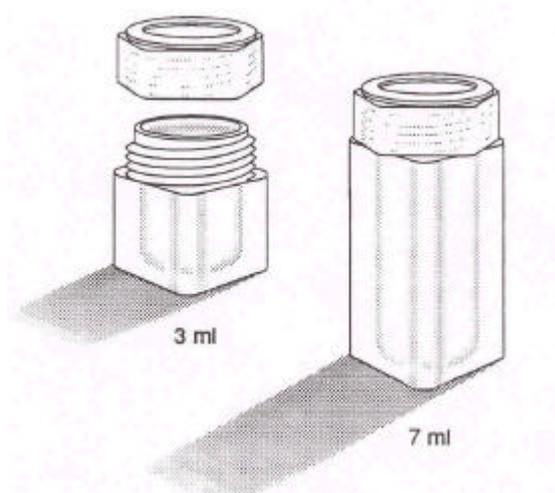


圖 3-1 微量樣品鐵氟龍消化瓶

7. 固定體積吸量管(fixed-volume pipet) :

Merck 產品 , 1000 μL 。

8. 可調式微量吸量管(adjustable digital micropipet) :

(a) John Poulten Ltd.(England)產品

型號 R880/A , 可調範圍由 5.0 至 50.0 μL 。

(b) eppendorf(Germany)產品

可調範圍由 2.00 至 20.00 μL 。

(c) Mettler-Toledo GmbH(Germany)產品

可調範圍由 20 至 200 μL 和 100 至 1000 μL 。

(d) Gilson(France)產品

可調範圍由 1.00 至 5.00 mL。

9. 可拋棄式微量滴管(disposable pipet tip) :

由 polypropylene 材質製成。

10. 轉動混合器(vortex mixer) :

Thermolyne Corporation (Iowa , U.S.A.) , 型號 : 37600。

11. 三向閥 :

Hamilton Co.產品 , 型式 HVP-3 valve , 鐵氟龍材質。

12. 量瓶(volumetric flask) :

Iwaki Glass Co. (Japan)產品 , 10.0、25.0、50.0、100 mL 等體積 , pyrex 材質 , A 級品。

13. 刻度吸量管(graduated pipet) :

Iwaki Glass Co. (Japan)產品 , 1.00、2.00、5.00、10.0 mL 等體積 , pyrex 材質。

14. 微量注射針筒(microsyringe) :

Hamilton 產品 , 25, 50, 100 和 500 μL , 供配製樣品及取出樣品(甲醇溶液)注入 GFAAS 之用。

15. 玻璃注射針筒 :

20 mL (實際使用可容納的體積大約 25 mL) , TOP , 日本東京株式會社產品。

16. 電子分析天平 :

Mettler (Switzerland)產品 , 型號 AJ 100 , 可秤至 0.0001 g。

17. 抽氣幫浦：
Gast 產品，型號 DOA-P104-AA。
18. 過濾裝置(glass filter holder)：
Millipore(U.S.A.)產品，47 mm diameter，型號 XX15 04700。
19. Sep-Pak C₁₈ cartridge：
Waters 公司產品，part No. WAT051910，body style：
classic，short body，360 mg，surface pH=7，hold up
volume=0.85 mL/filled cartridge，percent carbon=12，
pore size =125 Å，particle size=55-105 μm。使用前先
通入 5 mL 甲醇，盡量移走一些不純的物質，然後用約
15 mL 純水清洗後，即可使用。
20. 棕色瓶(brown bottle)：
10、20、50 及 100 mL 等體積，Pyrex 玻璃材質，附有 teflon
墊片，Iwaki Glass Co.(Japan)。
21. C₁₈ particle：
Waters 公司產品，particle size=55-105 μm，作為自製
C₁₈ cartridge 之用。
22. 濾膜：
Millipore(U.S.A.)產品，pore size：045 μm，
型號 HATF 047 00。
23. 錐形瓶：
250 mL，pyrex 材質。
24. 土壤顆粒篩網：
本實驗所用的篩網有兩種孔徑：

先經 mesh No. 10 , 篩網孔徑 2.00 mm ,

再經 mesh No. 20 , 篩網孔徑 0.84 mm。

25. 研鉢：磁皿材質。

26. 鐵氟龍燒杯：體積約 100 mL。

二、藥品與試劑

1. 純水：

東海大學地下水經過陰陽離子混合的交換樹脂 (deionizer resin , Fistream water purification , England) 後，加以蒸餾，再經過 Barnstead NANOpure system，即去除懸浮微粒及有機物之管柱(Barnstead D0812)，三個陰陽離子混合床(Barnstead D0809)及 0.2 μm 濾膜過濾後，所得的純水(電阻大於 18.0 megaohm-cm)。

2. 二次蒸餾硝酸 (HNO_3 , double distilled nitric acid in quartz)：

購自 Seastar Co.(Canada)，濃度約在 69-71% (w/w)，含汞殘留濃度小於 0.02 ($\mu\text{g/L}$)，其餘雜質含量介於 ppb 至 ppt 之間。

3. 低汞硝酸(HNO_3)

購自 Merck(GR 級), 濃度約 65%(w/w), 含汞最大量約 0.0000005%, 以純水稀釋為 1 : 1(約 8 M)之溶液, 作為清洗玻璃器皿之用。

4.無機汞標準溶液

濃度為 1000 mg-Hg/L, 購自 Merck(GR 級)。此標準溶液是使用 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 配製於 0.5 M HNO_3 中。

5.氯化甲基汞(CH_3HgCl)

購自日本 TCI(Tokyo Chemical Industry Co.,Ltd.), GR 級, 純度為 98%。

6.DMPS(2,3-dimercaptopropane-1-sulfonic acid, sodium salt)

分子式為 $(\text{HS})\text{CH}_2\text{CH}(\text{SH})\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 購自 Aldrich, 純度 95%, 粉末狀, 需保存在 N_2 中。

7.鹽酸(HCl , hydrochloric acid)

購自 Seastar, trace metal grade, 濃度約 35-38%(w/w), 含汞濃度 $< 0.1 \mu\text{g/L}$ 。

8.醋酸(CH_3COOH , glacial acetic acid)

購自 Aldrich, 純度 99.99%, 濃度約 17.5 M。

9.醋酸鈉(CH_3COONa , sodium acetate)

購自 Merck, superpure 級。

10.甲醇(CH_3OH , methanol)

購自 Merck, GR 級, 純度 99.8%。

11.重鉻酸鉀($K_2Cr_2O_7$, potassium dichromate)

購自 Merck , GR 級 , 純度 99.8%。

12.硫酸(H_2SO_4 , sulfuric acid)

購自 Merck , GR 級 , 純度 95 至 97%(w/w)。

13.氫氧化鈉($NaOH$, sodium hydroxide)

購自 Merck , GR 級。

14.土壤中總汞的標準參考樣品 (Certified Reference Material) , 型號為 GBW 07404 購自 Shanghai Institute of Nuclear Research, China , 土壤中總汞的濃度為 $0.59 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$ 。

15.氫氟酸(HF , Hydrofluoric Acid)

購自 Fisher , GR 級 , 濃度約 48%(w/w)。

三、玻璃器皿之清洗

1. 配製洗劑(cleaning solution) :

秤取約 5 g 之 $K_2Cr_2O_7$ (Merck , GR 級) , 加入約 10 mL 純水 , 攪拌溶解後 , 緩緩加入濃硫酸(Merck , GR 級 , 約需用 400 mL)於溶液中 , 並一面攪拌 , 直到溶液呈現暗黑色。冷卻後 , 倒入玻璃瓶中保存 , 作為清洗玻璃器皿中的有機物質。

2. 酸洗劑 :

以 Merck(GR 級)含低汞硝酸和純水配製 1 : 1 溶液(為 8 M HNO_3) , 分裝成 3 瓶 , 標示清洗空白試液(blank)、低濃度(約 100 ppb 以下)、高濃度(約 ppm 以上)。

3. 玻璃器皿以下列步驟清洗：

- (1)用自來水將殘留在瓶壁上的樣品試劑盡量沖洗掉。
- (2)用洗劑浸泡，移除玻璃器皿表面的有機物質。
- (3)用自來水沖洗，將殘留的洗劑盡量沖洗掉。
- (4)用酸洗劑(8 M HNO₃)浸泡隔夜(超過 12 h)。
- (5)用去離子水將酸液清洗掉。
- (6)最後用純水淋洗，晾乾備用。

四、實驗步驟

1. 藥品和溶液之配製

- (1). 10.0 mg-Hg/L 之無機汞(Hg²⁺)配製於甲醇中之標準溶液
由 1000 mg/L 之無機汞儲備溶液，用甲醇逐步以 1：10 稀釋至 100 和 10.0 mg/L 之無機汞標準溶液，配製完成後，放置於 4℃ 冰箱中保存備用，於每次實驗前取出，等回升至室溫後才使用，以求體積之準確，約每月配製一次。
- (2). 1.00 mg-Hg/L 之無機汞(Hg²⁺)配製於甲醇中之標準溶液
取 1.00 mL 10.0 mg/L 之 Hg²⁺溶液放入 10.0 mL 量瓶中，以甲醇稀釋至刻度，混合後，即得 1.00 mg-Hg/L 溶液，置於 4℃ 冰箱備用，每週配製。
- (3). 1.00×10⁴ mg-Hg/L 之氯化甲基汞(CH₃HgCl)配製於甲醇中之儲備溶液
秤取約 0.1278 g CH₃HgCl(重量已經校正)放入 10.0 mL 量瓶中，用甲醇溶解後，定量至刻度。
- (4). 10.0 mg-Hg/L 之氯化甲基汞配製於甲醇中之標準溶液
由 1.00×10⁴ mg-Hg/L 之甲基汞儲備溶液，用甲醇逐步以 1：10 稀釋至 1000，100 和 10.0 mg/L 之甲基汞標準溶液，置於 4℃ 冰箱中備用，每月配製。

- (5). 1.00 mg-Hg/L 之氯化甲基汞配製於甲醇中之標準溶液
取 1.00 mL 10.0 mg/L 之甲基汞溶液放入 10.0 mL 量瓶中，
以甲醇稀釋至刻度，混合後，置於 4 °C 冰箱備用，每週配製。
- (6). DMPS 溶液之配製
秤取 0.0030 g DMPS 放入 10.0 mL 量瓶中，用純水稀釋至
刻度，即得 1.2×10^{-3} M DMPS 溶液，保存於 4 °C 備用，每週
配製。
- (7). 醋酸鈉緩衝溶液之配製
秤取 1.945 g CH_3COONa ，加入 75 μL 冰醋酸，以純水稀釋
至 25 mL 即得 1.0 M，pH 值約為 6.0 之醋酸鈉緩衝溶液，
不用時，置於 4 °C，約可保存一個月。

2. 淨化用及濃縮用 C_{18} Cartridge 之製備

秤取 100 (淨化用) 或 200 mg (濃縮用) 之 C_{18} particle 放入 1 mL polypropylene 材質之可拋棄式微量滴管(前端先填充少許玻璃綿)中，頂端再填上少許玻璃綿，如圖 3-2 (a) 所示。若將兩個 C_{18} cartridge 串聯，則可作為樣品前濃縮之用，如圖 3-2 (b) 所示。

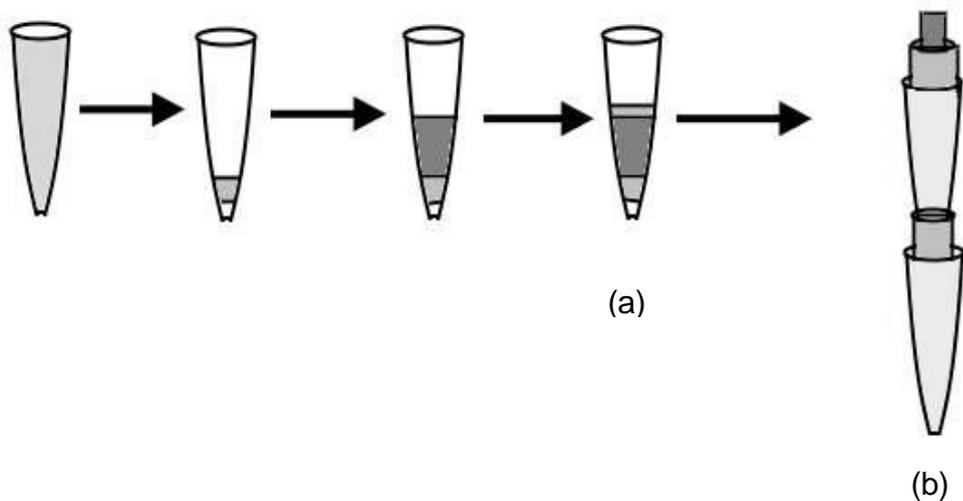


圖 3-2 (a)淨化用及(b)濃縮用 C_{18} Cartridge 之製備

3. 土壤樣品之採樣、保存及添加已知量的汞於土壤中之配製

土壤採樣是採用環保署所公告之標準方法 (NIEA S340.60T)^[58]，於東海大學校園內總圖書館後面林地，採取 0-15 cm 深之土壤，視為表土，置於乾淨塑膠盤中，除去其中所含石礫、樹枝及雜物等，在無陽光直射、空氣流通處，經自然風乾 7 天後，以木槌打碎，經兩個篩網過篩後，使用研鉢研磨成粉末狀，貯存於塑膠瓶中，密封以備分析。在每次取樣前，先將土壤樣品搖晃混合均勻。

此外，在作添加試驗時，是先秤取約 0.070 g 之土壤樣品(或標準參考品)，放入 7-mL 鐵氟龍消化瓶中，加入適量配製於甲醇中之汞標準溶液後，旋緊蓋子，於室溫下放置隔夜，使甲醇揮發而使汞停留於土壤中，藉以模擬自然界土壤中的汞。使用本實驗的分析方法求得回收率，作為探討本方法之可行性。

4. 土壤中總汞的測定方法

取幾份(各約 0.070 g)土壤標準參考樣品(GBW 07404)分別放入 7-mL 鐵氟龍消化瓶內。另外，準備一瓶 7-mL 鐵氟龍瓶，但不放入任何土壤樣品，作為空白試驗。各加入 750 μ L 王水及 75 μ L 氫氟酸，將消化瓶蓋子旋轉緊，在室溫下靜置約 15 分鐘後，打開鐵氟龍消化瓶瓶蓋，先將反應生成的部分 NO₂ 氣體排除。再利用特殊鎖瓶工具(P/N 301610, 20 in-lb)將 7-mL 鐵氟龍消化瓶瓶蓋鎖緊〔(如圖 3-2 所示)，以減少待測樣品經微波加溫消化時之漏

失)，放入大的鐵氟龍(120 mL)瓶中(內裝有約 10 mL 的純水)，用另一支鎖瓶工具將大鐵氟龍瓶鎖緊後，置於微波消化的系統中，依設定的加溫程式開始加溫，進行微波消化。

消化完畢後取出 7-mL 消化瓶，待冷卻至室溫後，放入 4 冰箱約 20 分鐘，然後，將消化後之混合物倒入鐵氟龍製之燒杯(約 100 mL)中，用純水沖洗 7-mL 鐵氟龍瓶數次，使殘留在鐵氟龍瓶上的消化液儘可能被收集於燒杯中。再以 1.0 N NaOH 調整消化液之 pH 值至 6.0-7.0，接著使用抽氣過濾裝置(0.45 μm 濾膜) 移除沙土顆粒後，將濾液流經一個自製作為淨化用的 C_{18} cartridge(Clean-up cartridge, 填裝有 100 mg C_{18} particle, Waters Co.)以移除部分之土壤基質^[69]。然後，在流出液中，加入 1.0 mL 1.0 M (1.0 mmol)醋酸鈉緩衝液及 500 μL 1.2×10^{-3} M DMPS 複合劑。混合均勻後，在室溫靜置約 1 小時，使其反應生成汞-DMPS 之複合物。然後，將此溶液流經兩個串連自製的 C_{18} cartridge (Cartridge #1 及 Cartridge #2, 分別在 polypropylene 材質之 tip 填裝有 200 mg C_{18} particle, Waters Co.)，使汞-DMPS 之複合物滯留在 C_{18} cartridge 中，之後，用甲醇將各 cartridge 之汞-DMPS 複合物洗出，並分別定量至 1.00 mL。而淨化用之 C_{18} cartridge 則使用約 0.8 mL 甲醇沖洗之，將流出液收集至一小試管[5 mL，內含有適量 DMPS(50 μL)及 NaOAc(10 μL)緩衝溶液]，然後定量至 1.00 mL。用 vortex mixer 混合均勻後，使用微量注射針筒(microsyringe)取出 50 μL 注入石墨管，依加溫程式(表 3-1)將汞原子化，測定其吸收峰高度。將 cartridge #1 cartridge #2 及 clean-up

cartridge 所得的淨高度相加後，得到此樣品中汞的總高度，再換算為吸光度(absorbance)。最後由汞直接配製於甲醇中的檢量線，可求得土壤標準參考樣品經消化後汞的含量和濃度。

表 3-1 使用石墨式原子吸光儀測定汞之加溫程式

Step	Start Temperature()	End Temperature()	Duration Time(sec)	Flow rate of Argon(mL/min)
Drying	60	120	30	200
Ashing	180	180	30	200
Atomization	1200	1200	2	0
Cleaning	1800	1800	5	200

Sample volume introduced : 50 μ L

Wavelength : 253.7 nm

Hg Hollow Cathode Lamp , Lamp current : 6 mA

Slit width : 1.3 nm

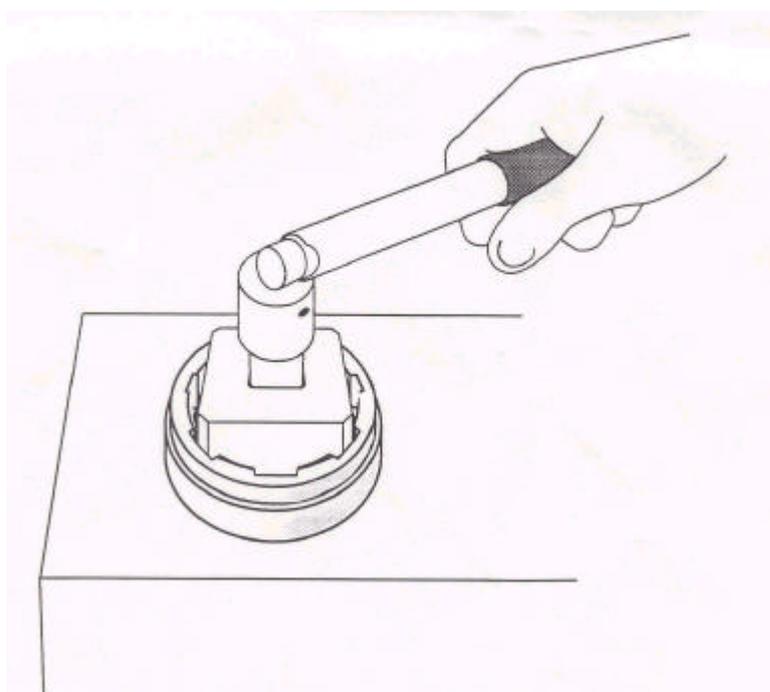


圖 3-3 鎖瓶工具圖

5. 檢量線之配製

(1)直接將汞配製在甲醇中之檢量線

以 micropipet 取 10 μL 醋酸鈉緩衝溶液(1 M, pH=6.0)及 50 μL DMPS(1.2×10^{-3} M), 放入五個小試管(5 mL)中, 再以 microsyringe 分別加入適量(如 0-100 μL 1.00 mg/L)配製於甲醇中的汞標準溶液(Hg^{2+} 或 CH_3Hg^+)後, 用甲醇定量至 1.00 mL。用 vortex mixer 混合均勻, 在室溫靜置約 1 小時後, 取出 50 μL 注入石墨式原子吸光儀(GFAAS), 依表 3-1 之加溫程式測得其吸收峰高度, 再換算為吸光度, 可求得直接將汞配製在甲醇中之檢量線。

(2)使用標準添加法及經微波消化的方式

分別取四份土壤標準樣品(各約 0.070 g)放入四個 7-mL 鐵氟龍消化瓶中(同上), 再分別加入適量(如 0-60 μL 1.00 mg/L)配製於甲醇中汞的標準溶液, 靜置隔夜, 使甲醇能從土壤中揮發, 使汞停留於土壤上。次日, 加入 750 μL 王水及 75 μL 氫氟酸於消化瓶中, 將消化瓶蓋子旋轉緊, 在室溫下靜置 15 分鐘後, 打開消化瓶瓶蓋, 先將反應生成的部分 NO_2 氣體排出。再將消化瓶瓶蓋鎖緊(此時使用鎖瓶工具鎖緊消化瓶瓶蓋, 以減少樣品經微波加溫消化時之漏失), 放入大的鐵氟龍(120 mL)瓶中(內裝有約 10 mL 的純水), 然後置於微波消化裝置的系統中, 開始加溫消化。消化完畢後取出 7-mL 消化瓶, 待冷卻至室溫後, 放入 4 冰箱約 20 分鐘, 然後將消化後之混合物倒入鐵氟龍製燒杯(約 100 mL)中, 用純水沖洗 7-mL 鐵氟龍瓶, 使殘留在鐵氟龍瓶上的消化液能儘量被收集於燒杯中, 再以 1.0 N NaOH 調整消化液之 pH 值至 6.0-7.0, 接著使用抽氣過濾裝置(0.45 μm 濾膜)移除沙土顆粒後, 將濾液流

經一個自製淨化用的 C₁₈ cartridge(填裝有 100 mg C₁₈ particle, Waters Co.)以移除部分之土壤基質。然後，在流出液中加入 1.0 mmol 醋酸鈉緩衝液及 500 μL 1.2×10⁻³ M DMPS 複合劑。混合均勻後，在室溫靜置約 1 小時，使其反應生成汞-DMPS 之複合物。然後，將此溶液流經兩個串連自製的 C₁₈ cartridge(分別填裝有 200 mg C₁₈ particle, Waters Co.)，使汞-DMPS 複合物滯留在 C₁₈ cartridge 中，之後，用甲醇將各 cartridge 之汞-DMPS 複合物洗出，並分別定量至 1.00 mL。用 vortex mixer 混合均勻後，使用微量注射針筒(microsyringe)取出 50 μL 注入石墨管，依加溫程式將汞原子化，測定其吸收峰高度，再換算為吸光度。由標準添加法之檢量線外插至 x 軸上，可求得土壤標準品中汞的含量和濃度。若使用汞直接配製於甲醇中的檢量線相比較時，可求得將汞添加於土壤標準參考品中之回收率；或添加 0 μL 時，可求得土壤標準品中汞的含量。

6. 土壤中汞經 C₁₈ cartridge 之固相濃縮步驟^[70-72]

從環境取得的樣品，有許多使用萃取的濃縮方式。如一般的飲用水或是基質複雜的污泥或土壤，萃取的方式包括液相-液相萃取(liquid-liquid extraction)和固相萃取(solid phase extraction)等方式，其中固相萃取法因使用的設備較簡單、且可以同時進行、溶劑消耗量較少、所需的時間較短等原因，較液相-液相萃取提供了更好的前處理方式，主要分為四大步驟：condition, load, rinse 和 elute^[34]。

-- Condition

Condition 有兩個目的，一是要創造一個適合待測物吸附的環境；二是要將固相材質上的不純物移走。為了達到這些目的，通常需要使用兩種不同的溶劑，第一種溶劑(initial conditioning solvent)用以洗去固相萃取管內的不純物，因為固相萃取管匣在製作包裝的過程中都會伴隨不純物，會造成萃取樣品的污染，故在萃取之前要先移除不純物，以避免在光譜中有干擾的波峰(extraneous peaks)，通常 initial conditioning solvent 的極性要和 eluting solvent 一樣強或更強。本實驗於使用 360 mg 之 C₁₈ cartridge 時，先使用 5 mL 甲醇流經每個 Sep-Pak C₁₈ cartridge，再用 15 mL 純水清洗，將殘留的甲醇移走。因若有甲醇殘留於 C₁₈ cartridge 時，當水樣通過時，將會帶走一部份汞和 DMPS 所形成之複合物，造成待測物的流失，所以在操作過程中，當甲醇通過 C₁₈ cartridge 後，會對注射針筒施一正向推壓並推送數次，使甲醇盡量被移走，再用過量的純水清洗並使純水充滿 C₁₈ cartridge。於 condition 時，水溶液只藉由重力的作用，使其自然逐滴滴下，流速大約在 1-2 mL/min，通常流速慢應可得到好的 condition 效果。若使用 100 mg 或 200 mg 自己填充之 C₁₈ cartridge 時，則甲醇和純水的用量可以減半。

-- Load

Load 的目的是將水樣通過 cartridge，使待測物能滯留於吸附劑上。本實驗將消化後所得的水溶液樣品通過兩個自製已 condition 且串連之 C₁₈ cartridge(內填裝約 200 mg C₁₈ particle, Waters Co.) (為防止只用一個 C₁₈ cartridge 無法將全部的汞-DMPS 之複合物滯留，所以用兩個自製的 C₁₈ cartridge 串聯^[39]，依序為 cartridge #1 和 cartridge #2，如圖 3-4 所示)。WatersTM Sep-Pak C₁₈ cartridge 操作手冊建議 load 的流速在 2-5(mL/min)^[70]。當水溶液置入注射針筒(25 mL 或 100 mL)後，可藉助馬達以真空抽氣(vacuum suction)的方式移走氣泡，使水樣順利通過 C₁₈ cartridge 後關掉抽氣馬達，此時水溶液自然滴下，等水溶液全部通過 C₁₈ cartridge 後，再借助馬達抽氣的方式，將殘留在注射針筒內的水樣，盡量全部通過 C₁₈ cartridge。

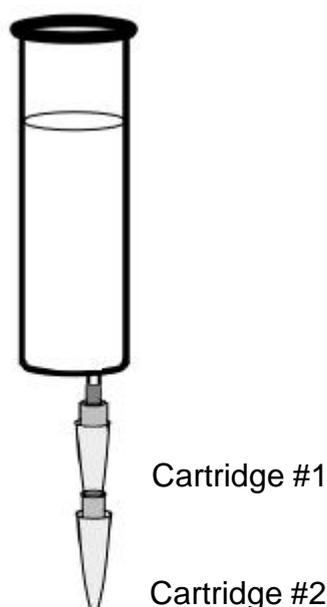


圖 3-4 汞-DMPS 之水溶液流經兩個串聯 C₁₈ cartridge 之圖形

-- Rinse

Rinse 的目的是將一些不必要，但卻滯留在固相材質的基質移走，原則上是以純水作為溶劑，將干擾的物質或鹽類洗出，但保留待測物於 cartridge 上。本實驗所使用的複合劑，DMPS，屬於水溶性，且 DMPS 與汞所形成的複合物會被水移走而漏失，故本實驗省略 rinse 的步驟。

-- Elute

Elute 的目的是將待測物從固相材質中沖洗出來，並收集之。當 eluting solvent 的強度太大時，會將其他樣品的基質沖洗出；而強度不夠時，則無法將待測物完全流洗出。最理想的 eluting solvent 是能將待測物從固相材質中沖洗出，並將其餘基質滯留在固相材質上。本實驗採用 C₁₈ cartridge，eluting solvent 可選用甲醇，依 Waters™ Sep-Pak C₁₈ cartridge 的操作手冊建議，每 100 mg 的固相材質甲醇用量約 0.5-0.8 mL^[69]。因此本研究使用甲醇將汞和 DMPS 所形成的複合物從自製 C₁₈ cartridge 中沖洗出，每個自製 C₁₈ cartridge 大約使用 1 mL 的甲醇 elute，並定量至 1.00 mL。

7. 石墨式原子吸光儀之設定條件及土壤樣品之定量分析

石墨式原子吸光儀所使用的條件如表 3-2 所列。

表 3-2 使用石墨式原子吸光儀測定汞之設定條件

設定項目	設定值
GFAAS	
Light Source	Hitachi Company , Z-8000
Lamp Current	S & J Hollow Cathode Lamp
Wavelength	6.0 mA
Slit Width	253.7 nm
Carrier Gas	1.3 nm
Interrupted Gas at Atomization	200 mL Ar/min
Sample Volume Introduced	0 mL/min
Tube Type	50 μ L
Signal Mode	Uncoated Tube Cuvette
Background Correction	Peak Height
	Zeeman Mode

用微量注射針筒取出 50 μ L 經濃縮後之甲醇溶液注入石墨管，按表 3-1 的加溫程式操作，同時也作 Blank(空白試液)。由所得波峰高度之淨吸光度(net peak height absorbance)為 Y 軸，汞添加於 0.070 g 土壤中的添加量為 X 軸，依標準添加法作一檢量線外插至 x 軸上，可求得土壤中汞的含量。

8. 以添加回收率作為本方法可行性之評估

本實驗先以已知汞濃度(或含量)之土壤標準參考品(GBW 07404)求得實驗各項參數(parameters)之條件，等各項實驗條件確定後，作添加試驗，以測試回收率。添加回收率的計算是原子化時，以添加後的總吸收峰高度(peak height)扣除土壤本身之吸收峰高度，換算為吸光度(absorbance)後，作為分子；與將相同添加量的汞直接配製在 1.00 mL 甲醇中(內含有 50 μ L DMPS 及 10 μ L 醋酸鈉緩衝溶液)，所得之吸光度作為分母，乘以 100 後求得。

實驗的精密度可以標準偏差表示，大致可區分為兩種類型：

(1) repeatability

所探討的是 within-run 的變異，也就是同一瓶樣品，連續注入 GFAAS 三次以上，其平均值代表該樣品的濃度，標準偏差即代表 repeatability。

(2) reproducibility

所探討的是 between-run 的變異，同一濃度的樣品，配製三瓶以上，其平均值代表該樣品的濃度，標準偏差即代表 reproducibility。

當 within-run 有變異時，一般取其平均值來代表該母體群，本研究中所有處理妥之樣品均連續注入 GFAAS 三次，求其平均值以代表該瓶樣品之濃度值；同樣的，當 between-run 有變異時，也是取其平均值來代表該母體群。因此，本研究在測試準確度、真實樣品回收率及偵測極限時，都作 between-run 的再現性之探討，故在本研究圖表中，凡未特別標明的，每一個 data point 均是三

次的平均值 (within-run, 重複次數為三次) ; 有標示次數的均為 between-run 的重複次數。

第四章 結果與討論

一、微波消化條件之建立

在土壤樣品中，加入強酸後，藉著微波加熱，將汞由土壤中萃取出來，使土壤中的汞溶解於酸中。

1. 酸液種類之選擇

各稱取約 0.070 g 土壤標準品 GBW 07404 (精秤至 0.1 mg)，放入三個 7-mL Teflon 製的反應瓶中，分別加入 750 μ L 王水(aqua regia)、750 μ L 王水+75 μ L 氫氟酸(HF) 和 750 μ L 濃硝酸(HNO₃) 作為消化液，使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式，在十分鐘內，由室溫升至 80 $^{\circ}$ C，然後，在 80 $^{\circ}$ C 維持加熱 10 分鐘(相當於每個消化瓶得到約 60 W 的能量)後，經調整 pH 值、過濾沙土、經淨化用之 C₁₈ cartridge 移除濾液中部分土壤基質後、加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS，使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知，當使用王水+氫氟酸作為消化液時，所得到之吸光度 (0.065)，大於濃硝酸(0.050)和王水本身(0.033)，如圖 4-1 所示，因此本實驗使用王水加氫氟酸作為消化液。

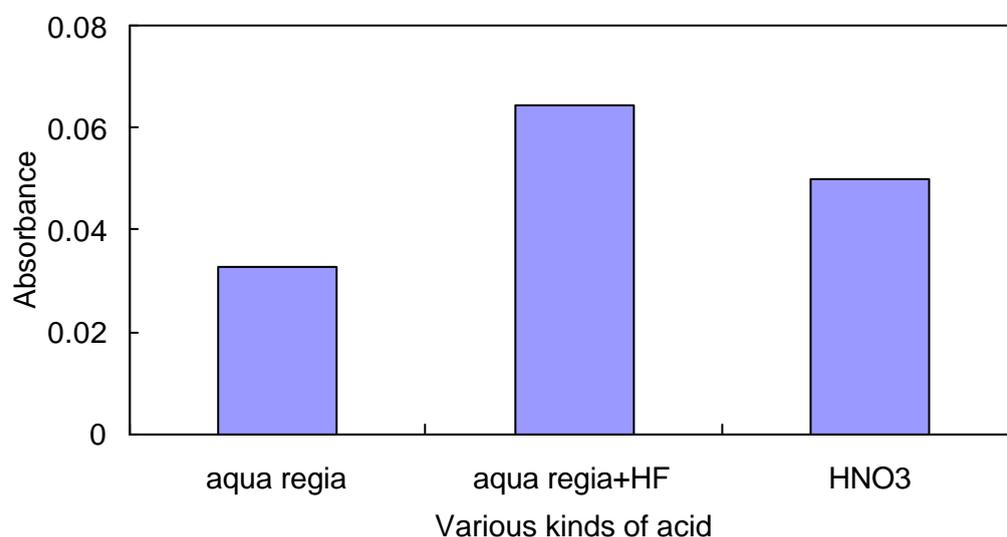


圖 4-1 改變微波消化酸液的種類對測定土壤中汞吸光度之影響

2. 酸液用量之選擇

(a) 王水用量之選擇

各稱取約 0.070 g 土壤標準品(GBW 07404, 精秤至 0.1 mg), 放入六個 7-mL Teflon 製的反應瓶中, 分別加入不同體積 (300-1000 μ L) 之王水與固定體積(75 μ L)之氫氟酸作為消化液, 利用微波消化系統在 80 $^{\circ}$ C 加熱 10 分鐘(相當於每個消化瓶得到約 60 W 的能量)後, 經調整 pH 值、過濾沙土、經淨化用之 C₁₈ cartridge 移除部分之土壤基質後、加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS, 使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知, 當使用 750 μ L 王水配合氫氟酸(75 μ L)作為消化液時, 可得到相對較高的吸光度, 如圖 4-2 所示。

由實驗結果得知, 當王水用量少於 750 μ L 時, 可能是王水用量不足以將土壤基質消化完全, 導致吸光度偏低。當王水的用量大於 750 μ L 時, 可能是多餘的酸液因加熱分解成為氣體, 造成消化瓶內壓力太大[當使用 pH 廣用試紙(pH paper)測試大鐵氟龍 (120 mL) 瓶內純水之 pH 時, 呈現酸性反應, 表示氣體有外漏的現象], 導致待測物之吸光度偏低。因此, 本實驗王水的用量選用 750 μ L。

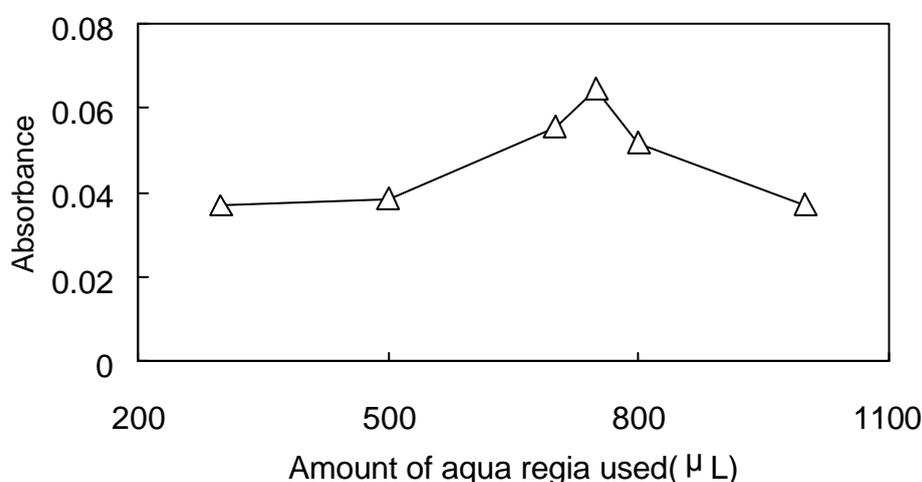


圖 4-2 改變王水用量對測定土壤中汞吸光度之影響

(HF 固定為 75 μ L)

(b) 氫氟酸用量之選擇

各稱取約 0.070 g 土壤標準品(GBW 07404, 精秤至 0.1 mg), 放入五個 7-mL Teflon 製的反應瓶中, 分別加入不同體積(0-150 μ L) 之氫氟酸與固定體積(750 μ L)之王水作為消化液, 利用微波消化系統在 80 $^{\circ}$ C 加熱 10 分鐘(相當於每個消化瓶得到約 60 W 的能量)後, 經調整 pH 值、過濾沙土、以淨化用之 C₁₈ cartridge 移除部分之土壤基質、加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS, 使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知, 當使用 75 μ L 氫氟酸及王水(750 μ L) 作為消化液時, 可得到相對較高的吸光度, 如圖 4-3 所示。

由於土壤中含有二氧化矽, 因此若只用王水消化時, 無法將土壤中的汞萃取完全, 造成測定總汞時吸光度偏低的現象(吸光度約為 0.033)。所以必須加入氫氟酸將土壤中之 SiO₂ 基質分解後, 才能將汞萃取完全。其主要的化學反應式^[31]如下:

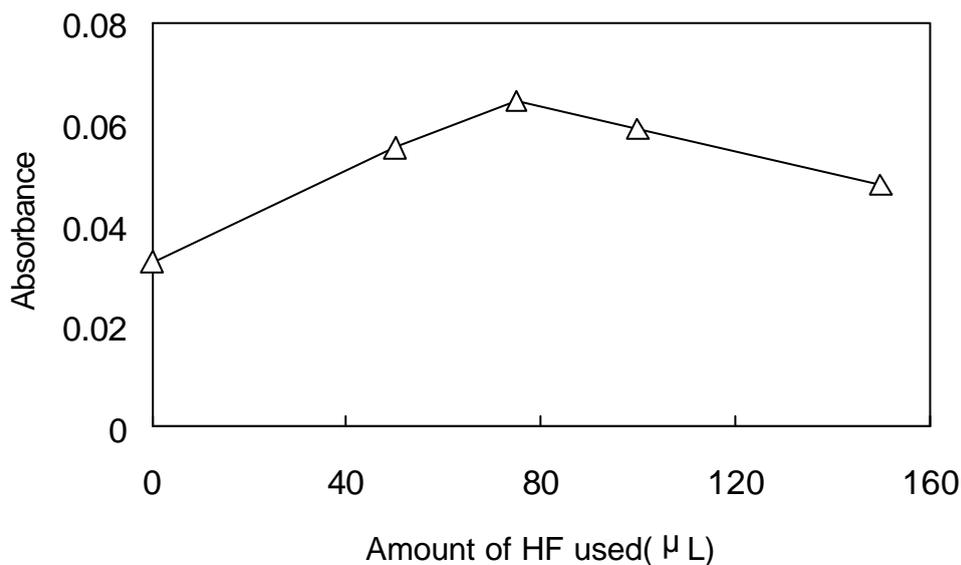
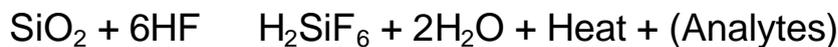


圖 4-3 改變氫氟酸用量對測定土壤中汞吸光度之影響

(王水固定為 750 μ L)

3. 消化時間及溫度之選擇

(a) 微波消化溫度之選擇

各稱取約 0.070 g 土壤標準品(GBW 07404, 精秤至 0.1 mg), 放入五個 7-mL Teflon 製的反應瓶中, 各加入 75 μ L 氫氟酸及 750 μ L 王水作為消化液, 利用微波消化系統提供每個消化瓶約 60 W 的能量及控溫裝置, 進行微波加溫消化。其方式如下: ramp 為 10 分鐘, 然後分別在下列溫度(70、75、80、85 和 90)維持 10 分鐘, 經調整 pH 值、過濾沙土、移除部分之土壤基質後, 加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS, 使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知, 使用 80 作為微波加熱的溫度時, 可得到相對較高的吸光度, 如圖 4-4 所示。

當消化溫度低於 80 時, 可能消化溫度不夠高, 以致土壤基質未能被消化完全, 無法將汞完全萃取至酸中。當消化溫度高於 80 時, 可能因消化溫度太高, 反應較劇烈, 造成瓶內壓力太大[當使用 pH 試紙測試大鐵氟龍 (120 mL) 瓶中純水之 pH 時, 呈現酸性反應, 表示氣體有外漏的現象], 導致測汞時之吸光度偏低, 故本實驗的消化溫度選用 80。

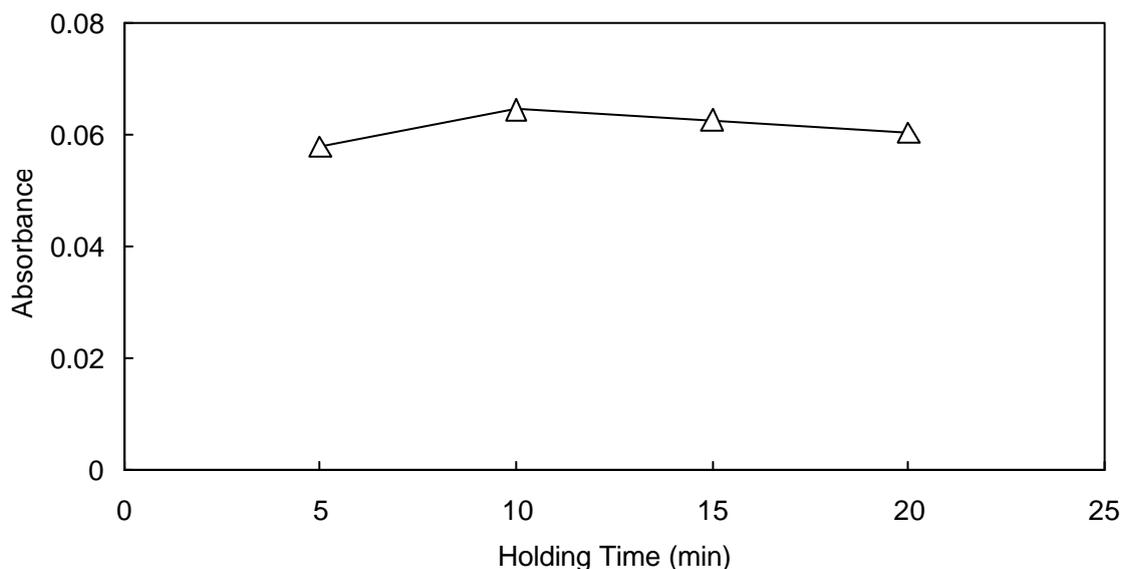


圖 4-4 改變微波消化溫度對測定土壤中汞吸光度之影響

(加熱消化持續時間設為 10 分鐘)

(b)微波消化時間之選擇

各稱取約 0.070 g 土壤標準品(GBW 07404, 精秤至 0.1 mg), 放入四個 7-mL Teflon 製的反應瓶中, 各加入 75 μ L 氫氟酸及 750 μ L 王水作為消化液, 利用微波消化系統提供每個消化瓶約 60W 的能量及控溫裝置, 於 80 $^{\circ}$ C 進行微波消化, 改變加熱持續的時間(5 至 20 分鐘)。經調整 pH 值、過濾沙土、移除部分之土壤基質後, 加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS, 使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知, 使用微波消化在 80 $^{\circ}$ C 維持 10 分鐘時, 可得到相對較高的吸光度, 如圖 4-5 所示。

當消化時間少於 10 分鐘時, 可能土壤的基質未能被消化完全, 無法將汞完全萃取至酸中; 而多於 10 分鐘時, 則可能因溫度持續太久使得土壤中之有機物質被分解後, 造成瓶內之壓力太大而使汞漏失, 因此本實驗的消化時間選用 10 分鐘。

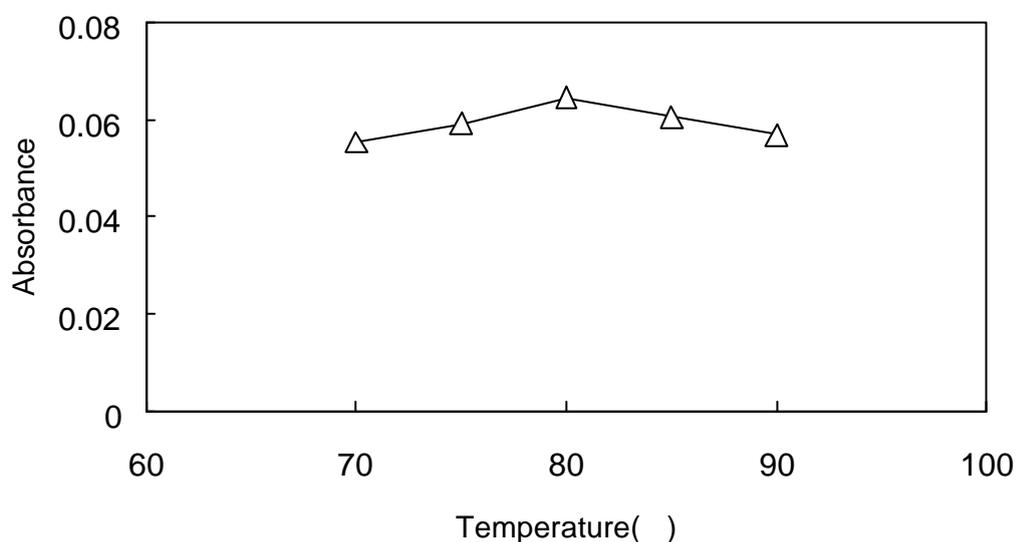


圖 4-5 改變微波消化時間對測定土壤中汞吸光度之影響
(消化溫度設在 80 $^{\circ}$ C)

二、中和及移除部分之土壤基質

經過微波消化後之土壤混合物，以 1.0 N 的氫氧化鈉溶液調整 pH 值至 6.0 左右，其目的有三：第一是將氫氟酸轉為氟化鈉；第二是將土壤基質中的 Fe^{3+} 轉成 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 之沈澱，以利後續步驟之進行；第三是使 DMPS 與汞結合成較穩定的複合物。再以抽氣過濾的方式將消化混物流經 0.45 μm 之濾膜，移走沙土顆粒後，將濾液流經一個自製淨化用之 C_{18} cartridge，以移除部分土壤中之基質。

1. 消化後混合物 pH 值之選擇

各稱取約 0.070 g 之土壤標準品(精秤至 0.1 mg)，放入四個 7-mL Teflon 製的反應瓶中，加入王水和氫氟酸並進行微波消化的程序。之後，分別以 1.0 N 之 NaOH 調整 pH 值至 5.0、6.0、7.0 和 8.0，再經過濾沙土、經淨化用之 C_{18} cartridge 移除部分之土壤基質、加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS，使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知，當消化液之 pH 值調整至 5.0-7.0 時，可得到大約相同且高的吸光度，如圖 4-6 所示。

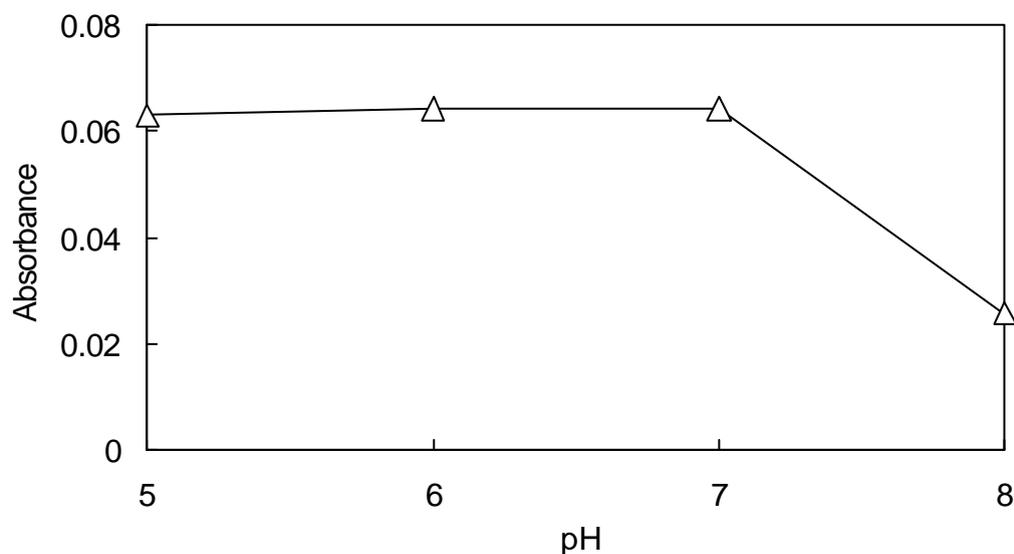


圖 4-6 消化後調整 pH 值對測定土壤中汞吸光度之影響

在本實驗中，所調整消化混合物之 pH 值若小於 6.0 時，經過濾移走沙土及將濾液流經淨化用之 C₁₈ cartridge 後，在流出液中加入醋酸鈉緩衝溶液和 DMPS 後，會有大量的橘黃色沈澱物生成 [推測為 Fe(OH)₃]，這將減緩固相萃取用之 C₁₈ cartridges 的流速；若將此橘黃色沈澱混合物經 0.45 μm 濾膜過濾後，才流經固相萃取用之 C₁₈ cartridge 時，所得之結果與調整 pH 值至 6.0-7.0 時大約相同，但實驗前處理的時間需增長約 4 小時。若將消化混合物之 pH 值調整至約 8.0 時，則在流出液中加入醋酸鈉緩衝溶液和 DMPS 後，雖沒有橘黃色之 Fe(OH)₃ 生成，但可能有部分的汞已生成氫氧化汞之沈澱，經過濾沙土後，在濾液中，汞的含量已減少，導致原子化時汞的吸光度偏低，因此本實驗選擇將消化混合物中之 pH 值調整至 6.0-7.0。

2. 移除部分土壤基質淨化用 C₁₈ cartridge 填充量之選擇

各稱取約 0.070 g 之土壤標準品，放入四個 7-mL Teflon 製的反應瓶中，加入王水和氫氟酸並進行微波消化的程序。之後，先調整消化混合物之 pH 值、過濾移除沙土後，分別將濾液不流經及流經一個淨化用含有不同量 [100 mg(自製)、200 mg(自製)及 360 mg(購自 Waters Co.)] 之 C₁₈ cartridge，作為移除部分土壤基質之用，再加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS，使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知，當淨化用 C₁₈ cartridge 之填充量為 100、200 或 360 mg 時，所得的吸光度大致相同，且較不流經淨化用 C₁₈ cartridge 時之吸光度稍高些，如圖 4-7 所示。

由於土壤之基質複雜，未流經淨化用之 C₁₈ cartridge 時，可能有些極性小之基質未被移除，在灰化步驟時，可能無法將這些干擾物完全移除，造成原子化時吸光度偏低。又經 100、200 或 360 mg 淨化用之 C₁₈ cartridge 移除部分土壤基質後之吸光度並無明顯的差異。由於考量成本效益，因此選用填充 100 mg C₁₈

particle 之 cartridge 作為淨化移除部分土壤基質之用。

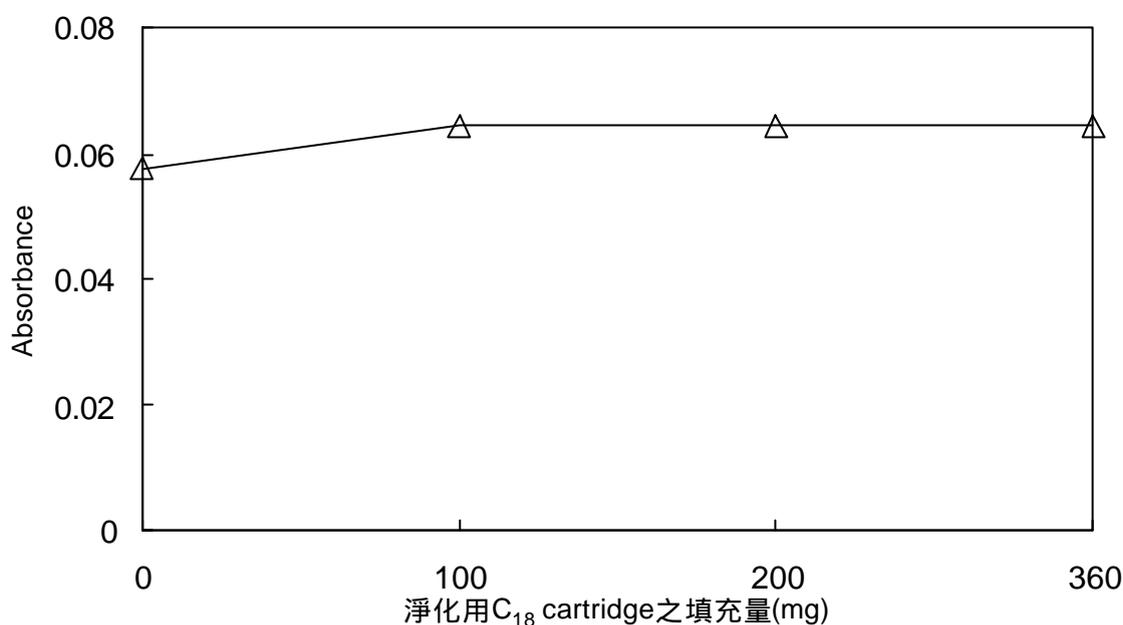


圖 4-7 淨化用 C₁₈ cartridge 填充量對測定土壤中汞吸光度之影響

三、緩衝溶液及複合劑用量之探討

在經過移除部分土壤基質之樣品流出液中，加入醋酸鈉緩衝液，以維持 pH 值在 6.0 左右，再加入 DMPS 複合劑與汞作用，反應約一小時後，使生成汞-DMPS 之複合物，流經兩個各裝有 100 mg 且串連之 C₁₈ cartridge 作為前濃縮，最後以甲醇將每個 cartridge 中之汞-DMPS 複合物沖洗出，並定量至 1.00 mL，取出部分(50 μ L)以石墨式原子吸光法測定總汞。

1. 醋酸鈉緩衝溶液用量之選擇

各稱取約 0.070 g 之土壤標準品，放入四個 7-mL Teflon 製的反應瓶中，加入王水和氫氟酸並進行微波消化、調整 pH 值、過濾沙土、經淨化之 C₁₈ cartridge 移除部分土壤基質等步驟後，分別加入不同量(0.5、1.0、2.0、3.0 mmol)之醋酸鈉緩衝溶液(pH=6.0)

與固定量之 DMPS(1.2×10^{-3} M, 500 μ L), 反應約一小時後, 再經

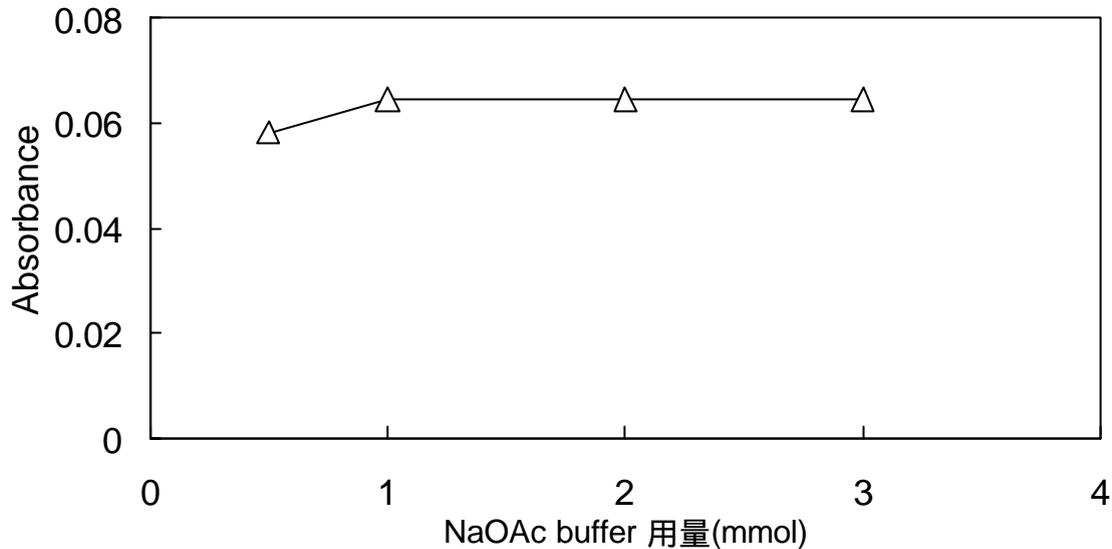


圖 4-8 改變醋酸鈉緩衝液用量對測定土壤中汞吸光度之影響

固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知, 當醋酸鈉緩衝液的用量為 1.0、2.0 或 3.0 mmol 時, 所得的吸光度大致相同, 且稍高於使用 0.5 mmol 之醋酸鈉緩衝溶液, 如圖 4-8 所示。

當醋酸鈉緩衝溶液用量少於 1.0 mmol 時, 可能是緩衝容量不足, 未能使土壤中萃取出之汞和 DMPS 完全形成穩定的複合物, 因此所得之吸光度較低。此外, 為了避免過多的鹽類累積於石墨管中影響吸光度值, 因此, 本實驗醋酸鈉緩衝溶液之用量選用 1.0 mmol。

2. DMPS 複合劑用量之選擇

各稱取約 0.070 g 之土壤標準品, 放入六個 7-mL Teflon 製的反應瓶中, 加入王水和氫氟酸並進行微波消化、調整 pH 值、過濾沙土、經淨化之 C_{18} cartridge 移除部分土壤基質等步驟後, 分別加入 1.0 mmol 之醋酸鈉緩衝溶液(pH=6.0)與不同體積(100、200、300、400、500 和 600 μ L)之 DMPS(1.2×10^{-3} M)複合劑,

反應約一小時後，再經固相濃縮萃取等步驟後測汞。由結果得知，

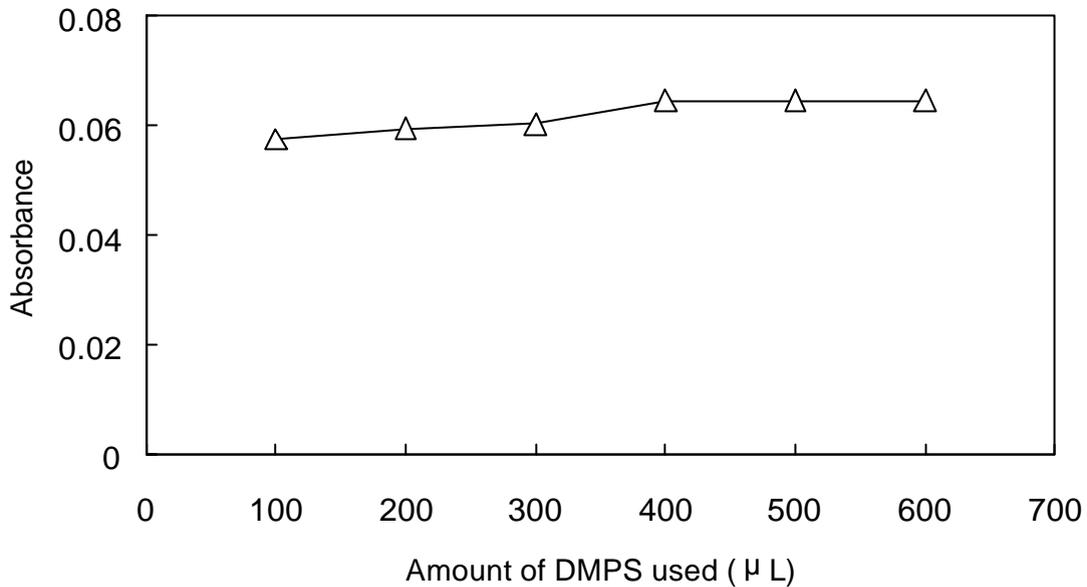


圖 4-9 改變 DMPS 複合劑用量對測定土壤中汞吸光度之影響
(DMPS 之濃度為 1.2×10^{-3} M)

當 DMPS 體積之用量為 400-600 μ L 時，所測得汞的吸光度大致相同，且稍高於使用 100、200 或 300 μ L 之 DMPS，如圖 4-9 所示。當 DMPS 體積之用量小於 400 μ L 時，雖然理論上 DMPS 與汞 mole 數的比值約為 580 至 2300，但可能土壤中有些基質也會與 DMPS 結合，而使 DMPS 的用量不足，無法將土壤中所萃取出之汞完全結合，形成汞-DMPS 之複合物。當 DMPS 的用量在 400 μ L 至 600 μ L 時，所得的效果大致相同，因此本實驗選用 500 μ L 之 DMPS。

四、 石墨式原子吸光儀加溫程式之探討

使用石墨式原子吸光法測定汞時，原則上分為四個步驟：即乾燥—將樣品中的水分、酸或溶劑蒸發；灰化—將樣品基質中一些有機物質或較易揮發的成分移除，以提高原子化時之靈敏度，但不應讓待測物漏失；原子化—以高溫將待測物分解轉為原子蒸

氣，此時使用氫氣暫停流動的方式，以提高待測物之靈敏度；清除—將殘留在石墨管的剩餘物盡量移除，以利下個樣品之測定。

秤取約 0.070 g 之土壤標準品，加入王水和氫氟酸並進行微波消化、調整 pH 值、過濾沙土、經淨化之 C₁₈ cartridge 移除部分土壤基質等步驟後，加入醋酸鈉緩衝溶液(1.0 mmol, pH=6.0)與 DMPS(500 μL, 1.2×10⁻³ M)，反應約一小時，再經固相濃縮萃取等步驟後，改變石墨式原子吸光儀之加溫程式測汞。

1. 灰化步驟之探討

將乾燥溫度和時間固定於 60-120 30 sec，原子化溫度和時間暫定於 1200 2 sec，灰化時間暫定在 30 sec，依序改變灰化溫度由 150 到 240。由圖 4-10 得知，灰化溫度由 150 到 180 所得的吸光度大致相同；當灰化溫度在 190 至 240 時，所得的吸光度逐漸減小，表示待測物已漸漏失，因此本實驗選用 180。接著再依序改變灰化時間，由 10 到 100 sec，由圖 4-11 得知，當灰化時間為 30 sec 時，所得的吸光度較大，故本實驗選用 30 sec。

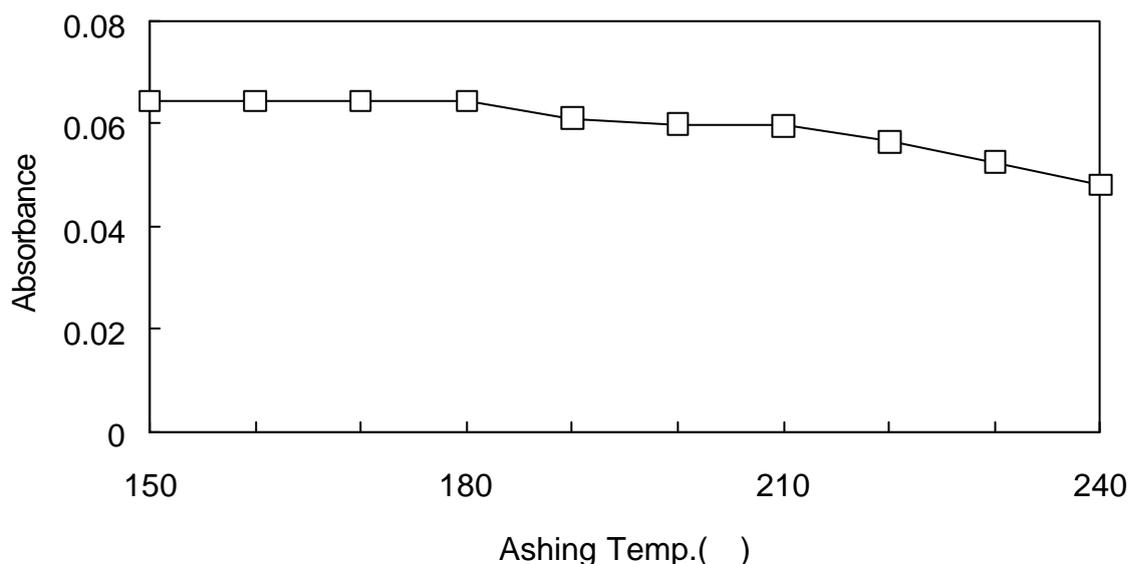


圖 4-10 改變灰化溫度對測定土壤中汞吸光度之影響

(乾燥步驟設為 60-120 30 秒，灰化時間定為 30 秒，原子

化步驟設為 1200 2 秒)

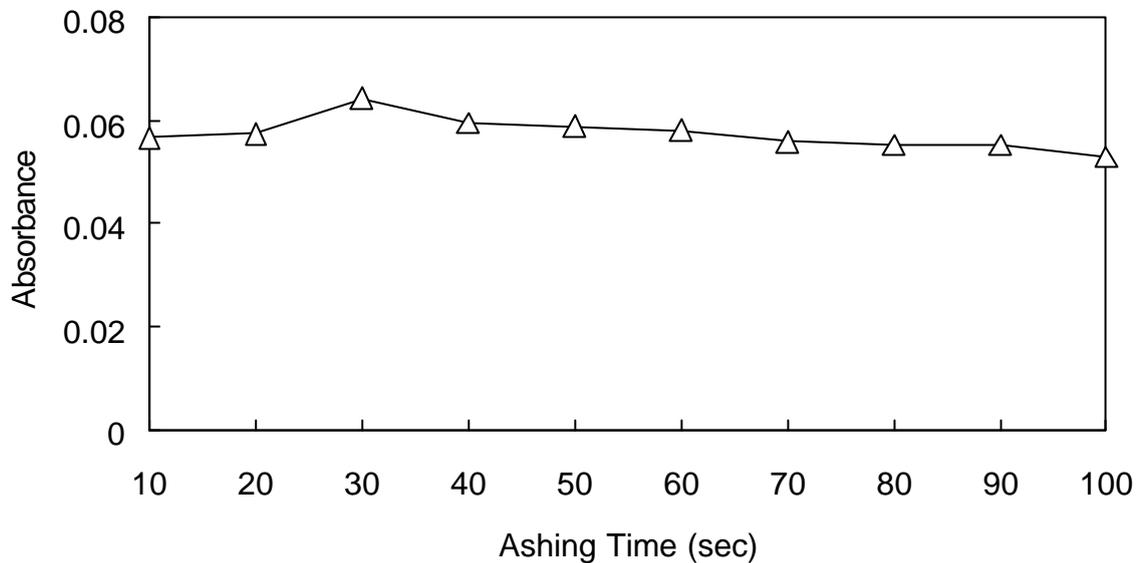


圖 4-11 改變灰化時間對測定土壤中汞吸光度之影響

(乾燥步驟定為 60-120 30 秒，灰化溫度定為 180 ，原子化步驟定為 1200 2 秒)

2. 原子化步驟之探討

將乾燥溫度和時間固定於 60-120 30 sec，灰化溫度和時間固定於 180 30 sec，原子化時間暫定在 2 sec，依序改變原子化溫度由 800 到 1600 。由圖 4-12 得知，當原子化溫度在 1200-1500 時，所得的吸光度相對稍微大些，因此選用 1200 。接著，將原子化溫度固定於 1200 ，依序改變原子化時間，由 0.5 到 5 sec，得知原子化時間為 1.5 - 3.0 sec 時，有較好之結果，如圖 4-13 所示，因此選用 2 sec。由實驗所得的合適加溫程式，如表 3-1 所列。

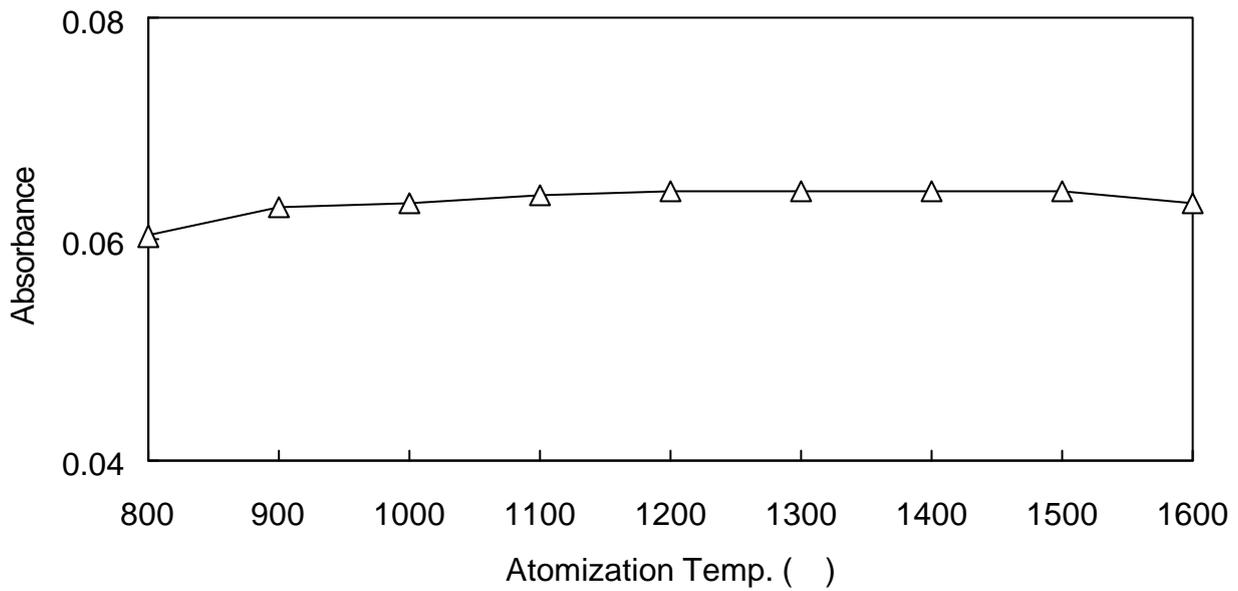


圖 4-12 改變原子化溫度對測定土壤中汞吸光度之影響
 (乾燥步驟定為 60-120 30 秒，灰化步驟定為 180 30 秒，原子化時間定為 2 秒)

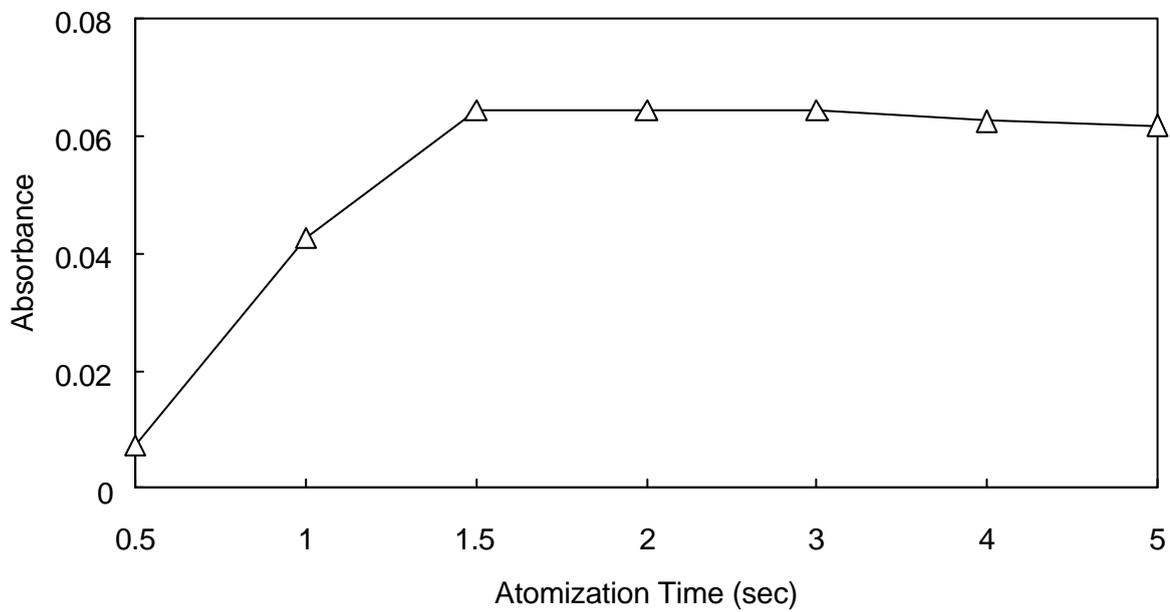


圖 4-13 改變原子化時間對測定土壤中汞吸光度之影響
 (乾燥步驟定為 60-120 30 秒，灰化步驟定為 180 30 秒，原子化溫度定為 1200)

五、總汞之檢量線

為得知土壤樣品經消化和淨化移除雜質後，土壤中的基質對汞之測定是否有嚴重的干擾，因此，本實驗使用兩種方式配製檢量線：

第一種方式是直接將汞[0-100 ng CH_3Hg^+ 或 Hg^{2+}]配製在 1.00 mL 甲醇中[內含有 50 μL DMPS (1.2×10^{-3} M)和適量(10 μL) NaOAc buffer (1.0 M, pH=6.0)]，所得之檢量線與線性範圍列於表 4-1。其中，將甲基汞直接配製於甲醇中之代表檢量線為 $y=1.59\times 10^{-3}x+8.89\times 10^{-4}$ ，線性相關係數為 0.9995，如圖 4-14(a) 所示；將無機汞直接配製於甲醇中之代表檢量線為 $y=1.58\times 10^{-3}x+0.46\times 10^{-4}$ ，線性相關係數為 0.9996，如圖 4-15(a) 所示。由第一種方式比較 CH_3Hg^+ (七條)和 Hg^{2+} (七條)直接配製在甲醇中檢量線之斜率，其相對誤差 3.2%，表示檢量線之斜率相靠近。

第二種方式是使用標準添加法將已知含量之甲基汞(0-60.0 ng CH_3Hg^+)或無機汞(0-60.0 ng Hg^{2+})添加於土壤標準品(0.070 g of GBW 07404，約含有 41.3 ng 汞)中，靜置隔夜，讓甲醇蒸發而讓汞停留於土壤上，依本實驗操作步驟測定總汞，所得之檢量線列於表 4-2。其中，加入甲基汞之標準添加法(四條)代表檢量線為 $y=1.57\times 10^{-3}x+6.61\times 10^{-2}$ ，線性相關係數為 0.9999，如圖 4-14(b) 所示；加入無機汞之標準添加法(三條)代表檢量線為 $y=1.55\times 10^{-3}x+6.63\times 10^{-2}$ ，線性相關係數為 0.9998，如圖 4-15(b) 所示。

比較標準添加法檢量線(七條)與直接將汞配製於甲醇中檢量線(十四條)之斜率，其相對誤差 6.0%，這表示土壤樣品基質經本實驗操作步驟後，對總汞的測定沒有顯著的干擾，因此，可用第一種方式所得的檢量線作為定量之用。

表 4-1 直接將汞[(a)甲基汞(b)無機汞]配製於甲醇中之檢量線

Day	Calibration graph	Linear Range(ng)	Correlation coefficient
1(a)	$y=1.55 \times 10^{-3}x+3.10 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9996
2(a)	$y=1.57 \times 10^{-3}x+6.12 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9998
3(a)	$y=1.57 \times 10^{-3}x+9.02 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9998
4(a)	$y=1.58 \times 10^{-3}x+1.26 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9999
5(a)	$y=1.59 \times 10^{-3}x+8.89 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9995
6(a)	$y=1.59 \times 10^{-3}x+7.00 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9996
7(a)	$y=1.59 \times 10^{-3}x+4.67 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9994
1(b)	$y=1.57 \times 10^{-3}x+1.77 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9996
2(b)	$y=1.58 \times 10^{-3}x+0.46 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9996
3(b)	$y=1.58 \times 10^{-3}x+1.70 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9993
4(b)	$y=1.58 \times 10^{-3}x+1.02 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9999
5(b)	$y=1.58 \times 10^{-3}x+4.89 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9998
6(b)	$y=1.59 \times 10^{-3}x+4.67 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9994
7(b)	$y=1.60 \times 10^{-3}x+2.40 \times 10^{-4}$	0.5-100	0.9998

表 4-2 使用標準添加法[(a)添加 0-60 ng 之甲基汞(b)添加 0-60 ng 之無機汞]之檢量線及外插法，求得土壤標準品(GBW 07404)中總汞的含量

Trial#	Calibration graph	Correlation Coefficient	Amount of Total Hg in soil (ng)*
1(a)	$y=1.57 \times 10^{-3}x+6.61 \times 10^{-2}$	0.9999	42.1
2(a)	$y=1.59 \times 10^{-3}x+6.58 \times 10^{-2}$	0.9999	41.4
3(a)	$y=1.57 \times 10^{-3}x+6.66 \times 10^{-2}$	0.9999	42.4
4(a)	$y=1.56 \times 10^{-3}x+6.47 \times 10^{-2}$	0.9999	41.5
1(b)	$y=1.51 \times 10^{-3}x+6.42 \times 10^{-2}$	0.9998	42.5
2(b)	$y=1.55 \times 10^{-3}x+6.53 \times 10^{-2}$	0.9994	42.1
3(b)	$y=1.58 \times 10^{-3}x+6.65 \times 10^{-2}$	0.9998	42.1

* 由標準添加法之檢量線外插與 x 軸相交，求得土壤標準品中總汞之含量。

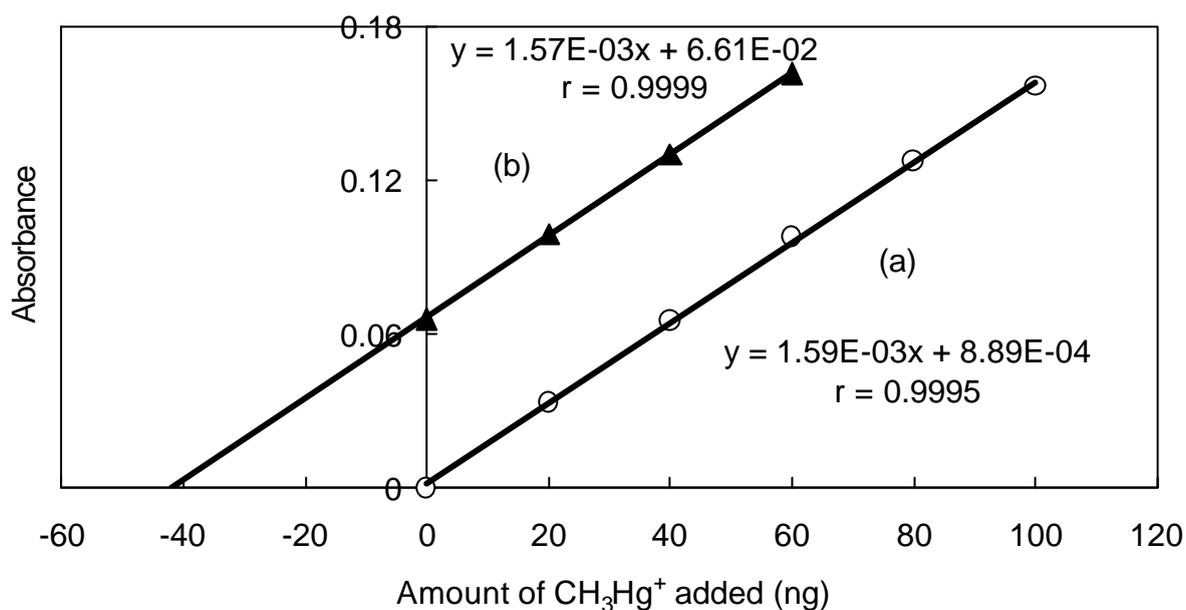


圖 4-14 (a)直接將 CH_3Hg^+ 配製於甲醇中之檢量線與(b) 使用標準添加法將 CH_3Hg^+ 加入土壤標準品中，經實驗步驟所得檢量線之比較

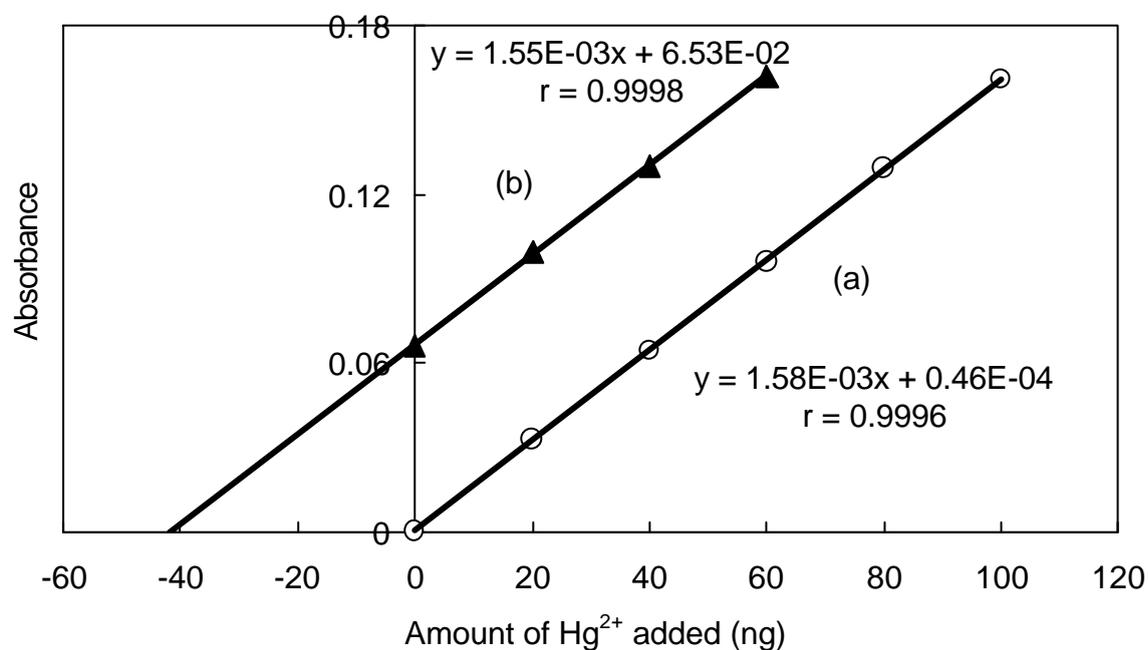


圖 4-15 (a)直接將 Hg^{2+} 配製於甲醇中之檢量線與(b)使用標準添加法將 Hg^{2+} 加入土壤標準品中，經實驗步驟所得檢量線之比較

六、 準確度測試

於不同天(Day 1 and Day 2), 各取四份 0.070 g 土壤標準樣品(GBW 07404, 精秤至 0.1 mg), 經本實驗步驟消化濃縮後, 使用直接將汞配製於甲醇中之檢量線, 求得總汞的含量, 由 8 次平均所得之結果為 41.0 ± 1.3 ng, 相當於 586 ± 19 (ng/g), 如表 4-3 所列。由不同天所測得土壤中總汞的濃度之相對誤差約為 1.7%, 且所得的值均能落在 Certified value [(590 \pm 80)ng/g]之範圍內, 表示本方法之準確度良好, 相對標準偏差(RSD, n=8)約為 3.2%。

此外, 由標準添加法(表 4-2)求得土壤中總汞的平均含量(n=7)為 42 ± 0.4 ng, 相當於濃度為 600 ± 6 (ng/g), 亦落在 Certified value [(590 \pm 80) ng/g] 之範圍內。

表 4-3 以土壤標準樣品(GBW 07404)測試本方法之準確度

Certified Reference Material ^a	Day	Trial #	Amount of mercury measured (ng)				Mean±S.D. ^b	Conc. of total mercury in soil (ng/g)	
			Cart. # 1	Cart. # 2	Clean-up Cart.	Sum (Total Hg)		This Method ^b	Certified Value
GBW 07404	1	1	35.7	3.8	0	39.5	41.0±1.3	586±19	590±80
		2	39.0	3.5	0	42.5			
		3	38.3	2.2	0	40.5			
		4	39.7	3.4	0	43.1			
	2	1	37.3	4.8	0	42.1			
		2	35.4	4.7	0	40.1			
		3	36.4	4.1	0	40.5			
		4	37.3	2.7	0	40.0			

^a 取 0.070 g 土壤參考樣品(GBW 07404)。

^b Mean of eight determinations with standard deviation.

七、回收率測試

在標準添加法中，添加 20.0-60.0 ng 甲基汞或無機汞(約為土壤標準品含汞量之 0.5-1.5 倍)於土壤標準品(GBW 07404)中，經實驗後所得之回收率在 97.6-99.6%，精密度(RSD, n=6)約在 2.2% 以內，如表 4-4 所列，表示本方法之回收率在可接受的範圍。

表 4-4 添加甲基汞或無機汞(20.0-60.0 ng)於土壤標準樣品(GBW 07404)中^a，測試本方法之回收率

Trial #	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)	
	added	found			
1	CH ₃ Hg ⁺	20.0	20.1	101	99.6±1.9
2		20.0	20.3	102	
3		20.0	19.3	96.5	
1	Hg ²⁺	20.0	19.8	99.1	
2		20.0	20.0	100	
3		20.0	19.8	99.0	
1	CH ₃ Hg ⁺	40.0	39.9	99.7	98.6±2.1
2		40.0	39.7	99.4	
3		40.0	38.9	97.2	
1	Hg ²⁺	40.0	38.1	95.0	
2		40.0	40.3	101	
3		40.0	39.6	99.0	
1	CH ₃ Hg ⁺	60.0	58.4	97.4	97.6±1.3
2		60.0	59.4	99.0	
3		60.0	59.0	98.3	
1	Hg ²⁺	60.0	58.5	97.5	
2		60.0	58.8	98.0	
3		60.0	57.2	95.3	

^a 取 0.070 g 土壤標準樣品(GBW 07404，精秤至 0.1 mg，含汞量約為 41.3 ng)。

^b Mean of six replicates with standard deviation.

八、 使用東海土壤測試本方法之偵測極限(MDL)

東海土壤樣品經本方法實測結果含汞濃度約為 24 ± 1 ng/g ($n=5$)，在土壤汞濃度分級標準中屬於低含量，因此選擇東海土壤來做本實驗 MDL 的測定。取東海土壤 0.070 g，經本實驗步驟消化濃縮至兩個串連自製之 C_{18} cartridge 上，再各自用甲醇沖洗並定量至 1.00 mL 甲醇中。由第一個 C_{18} cartridge 之甲醇溶液中，取出 50 μ L 注入石墨式原子吸光儀，由 12 次重複(replicates)，求得汞的吸收峰高度平均值和標準偏差(s)。將標準偏差乘以 3，再換算為吸光度，除以檢量線的斜率，求得汞 MDL 的絕對量(如表 4-5 所列)。由 5 次平均所得之 MDL 值為 0.45 ng[或是濃度為 6.4 (ng/g)](如表 4-6 所列)，原子吸光儀之吸收光譜圖例如圖 4-16 所示。

本方法使用 0.070 g 東海土壤樣品所得之 MDL 值，若以濃度表示時，相較於 Zhou^[43]使用 0.3 g 土壤樣品所得之 D.L.值 83 (ng/g)，Gu^[44]使用 0.25 g 土壤樣品所得之 D.L.值 100 (ng/g)，Biester^[45]使用 0.2 g 土壤樣品所得之 D.L.值 200 (ng/g)，López-García^[47]使用 0.01-0.125 g 土壤樣品所得之 D.L.值 100 (ng/g)，及 Claire^[59]使用 0.2-0.5 g 土壤樣品所得之 D.L.值 35 (ng/g)較低；與 Tomiyasu^[50]使用 1 g 土壤樣品所得之甲基汞 D.L.值 1 (ng/g)、無機汞 D.L.值 8 (ng/g)及 Chen^[56]使用 0.1 g 三種土壤樣品所得之 D.L.值 2-19 (ng/g)相當；而較 Pagano^[49]使用 0.25 g 土壤樣品所得之 D.L.值 0.14 (ng/g)(經微波消化後，使用 ETA-LEAFS 測定)、Vedrina-Dragojevic^[51]使用 10 g 土壤樣品所得之 D.L.值 1 (ng/g)(經消化及濃縮後，使用 AFS 測定)及 Hintekmann^[46]使用 5 g 土壤樣品所得之有機汞 D.L.值 0.1 (ng/g)(經螯合劑及有機溶劑萃取後，以 HPLC 分離及 CVAFS 測定)為高。

若 MDL 值以絕對量表示時，也較 Zhou^[43]之 25 ng，Gu^[44]之 25 ng，Bombach^[57]之 20 ng，Biester^[45]之 40 ng，Tomiyasu^[50]之甲基汞 1 ng、無機汞 8 ng，Vedrina-Dragojevic^[51]之 10 ng 為低；與 Chen^[56]之 0.2-1.9 ng 及 Hintekmann^[46]之有機汞 0.5 ng 相當；而較 Pagano^[49]之 0.035 為高，如表 4-7 所列。

表 4-5 使用東海土壤測試本方法之偵測極限(MDL)範例

土壤重(g)	0.0703					
高度(mm)	5.5	6.5	5.8	6.2	6.0	6.0
	5.8	6.5	6.0	5.5	6.0	6.2
平均值(mm)	6.1					
標準偏差 s(mm)	0.31					
s 吸光度	2.3×10^{-4}					
MDL(ng)絕對量	0.44					
MDL(ng/g)濃度 ^a	6.3					

^a 在 0.070 g 的東海土壤中，使用微波消化法，將汞-DMPS 之複合物濃縮於兩個串連自製的 C₁₈ cartridge 上，再分別以甲醇沖洗出並定量至 1.00 mL。由第一個 C₁₈ cartridge 之甲醇溶液中，取出 50 μ L 注入 GFAAS，連續測定 12 次，求得平均吸收峰高度(\bar{x})及標準偏差(s)；將 3s 換算為吸光度後，除以檢量線(檢量線代表 $y=1.57 \times 10^{-3}x+1.77 \times 10^{-3}$)的斜率，求得汞的含量，即為方法偵測極限之絕對量(absolute amount)，若除以土壤樣品重量，可以濃度單位表示。

表 4-6 使用東海土壤所得之 MDL 值及其汞含量

Trial #	土壤重(g)	平均值 ^a (mm)	s(mm)	s 吸光度	MDL(ng)絕對量	MDL(ng/g)濃度	平均值吸光度	土壤濃度(ng/g)
1	0.0703	6.1	0.31	2.3E-04	0.44	6.3	4.5E-03	24
2	0.0701	6.0	0.29	2.2E-04	0.41	5.8	4.4E-03	24
3	0.0702	6.1	0.29	2.1E-04	0.40	5.7	4.4E-03	24
4	0.0706	6.4	0.37	2.7E-04	0.52	7.4	4.7E-03	26
5	0.0699	5.8	0.35	2.6E-04	0.49	7.0	4.3E-03	23
平均					0.45 ± 0.05	6.4 ± 0.7		24 ± 1

檢量線代表 $y = 1.57 \times 10^{-3} x + 1.77 \times 10^{-3}$; MDL = 3s/m

^a Mean of twelve replicates

表 4-7 本方法之 MDL 值與其他文獻方法之比較

Ref.	Sample of soil used (g)	Method	Instrument	D.L. (ng/g)
45	0.2	Pyrolysis	CVAAS	200
47	0.01-0.125	Slurry	GFAAS	100
44	0.25	Microwave digestion	CVAAS	100
43	0.3	Microwave digestion	CVAAS	83
57		Pyrolysis and amalgamation	CVAAS	(20 ng)
53	0.5-2.0	Heating block digestion	CVAAS	(4 ng)
This study	0.070	Microwave digestion and C ₁₈ preconcentration	GFAAS	6.4 (0.45 ng)
56	0.1	Slurry	ETV-ICP-MS	2-19
50	1	Extraction and digestion	CVAAS	Org-Hg= 1 Inorg-Hg= 8
51	10	Digestion and preconcentrated in an impinger	AFS	1
49	0.25	Microwave digestion	ETA-LEAFS	0.14
46	5	Extraction and HPLC	CVAFS	Org-Hg= 0.1

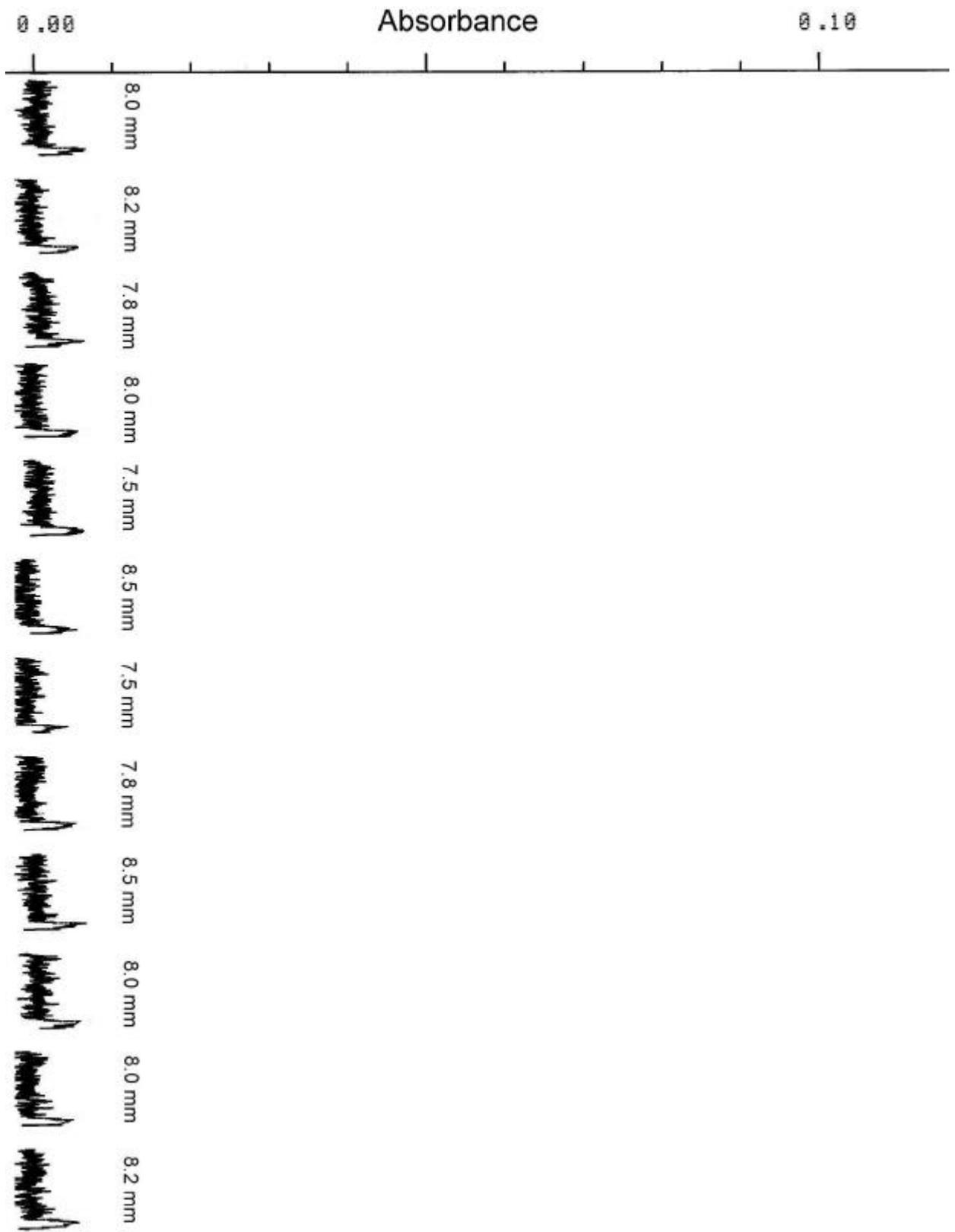


圖 4-16 使用東海土壤測定本實驗 MDL 之 AA 代表圖譜

第五章 結論與建議

一、結論

1. 本實驗選用 0.070 g 土壤標準參考樣品[GBW 07404，含有 590 ± 80 (ng/g) Hg]，放入 7-mL 小鐵氟龍反應瓶中，依次探討各項變數，求得合適的操作條件如下：
 - (1).酸液的用量，使用 750 μ L 王水和 75 μ L 氫氟酸。
 - (2).微波消化選用 80 加熱 10 min。
 - (3).消化後土壤和酸液混合物之 pH 值用 NaOH(1 N)調整至 6.0-7.0。
 - (4).自製淨化用之 C₁₈ cartridge 選用 100 mg C₁₈ particles (Waters Co.)。
 - (5). DMPS 之用量選用 500 μ L of 1.2×10^{-3} M。
 - (6).NaOAc buffer 之用量選用 1.0 mmol (即 1.0 mL 1.0 M)。
 - (7).自製濃縮用之 C₁₈ cartridge 選用 200 mg C₁₈ particles (Waters Co.)。
 - (8).石墨式原子吸光儀加溫程式選用[乾燥 60-120 °C，30 s；灰化 180 °C，30 s；原子化 1200 °C，2 s(氫氣暫停)；清除 1800 °C，5 s]。
2. 將汞(0-100 ng of Hg²⁺ or CH₃Hg⁺)直接配製在甲醇中(內含有適量 DMPS 和 NaOAc buffer)所得檢量線(十四條)之斜率與標準添加法(將 0-60 ng 汞加入 GBW 07404 土壤參考樣品中)所得檢量線(七條)之斜率相比較時，其相對誤差 $\leq 6.0\%$ ，這表示土壤樣品基質經本實驗操作步驟後，對總汞的測定沒有嚴重的干擾，因此，可用直接將汞配製於甲醇中的檢量線作為定量之用。
3. 使用檢量線法測得土壤標準參考品(GBW 07404)總汞之含量，由八次之平均值為 41.0 ± 1.3 ng，或濃度為 586 ± 19 ng/g，

%RSD 為 3.2%。由標準添加法(n=7)所測得土壤平均之濃度為 600 ± 6 (ng/g) Hg，都可落在 certified 之範圍內，表示本方法之準確度良好。由檢量線法和標準添加法所求得土壤中總汞之相對誤差約為 2.4%。

4. 於 0.070 g 土壤標準參考品(GBW 07404)中加入 20.0-60.0 ng 甲基汞或無機汞，經實驗步驟後所得之回收率為 97.6-99.6%。
5. 使用本方法，測得東海大學圖書館附近土壤中總汞的濃度為 24 ± 1 ng/g。用此樣品(0.070 g)，求得本方法之偵測極限值(MDL, 3)為 6.4 (ng/g) Hg，或絕對量為 0.45 ng。本方法之線性可達 1.4 μ g/g，應可適用於一般土壤中總汞之檢測。

二、建議

1. 對土壤中總汞的部分，需再測試一些(三至四種)不同基質的土壤樣品，求得其含量(和濃度)後，再使用標準添加法，求得其回收率，以確保本實驗方法之可行性與準確度。
2. 有關測定土壤中甲基汞的部分，建議嘗試使用約 1 g 的土壤，置於 100 mL Teflon 瓶中，加入適量之鹽酸(如 2-6 M)進行微波消化萃取，接著調整 pH 值至 6.0-7.0，使用抽氣過濾裝置移除沙土顆粒後，將濾液流經一個自製淨化用的 C₁₈ cartridge 以移除部分之土壤基質。然後，在流出液中，加入適量醋酸鈉緩衝液及複合劑。混合均勻後，在室溫靜置約 1 小時，使其反應生成汞-DMPS 之複合物。然後，將此溶液流經兩個串連自製的 C₁₈ cartridge，使汞-DMPS 之複合物滯留在 C₁₈ cartridge 上，之後，用甲醇將每個 cartridge 之汞-DMPS 複合物洗出，並分別定量至 1.00 mL。取出 50 μ L 注入 GFAAS 測定甲基汞的含量。之後，再使用標準添加法測試土壤中甲基汞的含量及其回收率。

1. NIOSH Manual of Analytical Methods(1989) Method 6009, Mercury.
2. S. E. Manaham, “ *Environmental Chemistry*” , 7th ed., **2000**, Lewis Publishers, Inc., New York, p.191 and 318.
3. D. L. Johnson and R. S. Braman(1974) Distribution of atmospheric mercury species near ground, *Environ. Sci. Technol.*, **8** : 1003-1009.
4. NAS(1978) *An Assessment of Mercury in the Environment. Panel on Mercury*, Washington, DC : National Academy of Science.
5. D. C. Adriano (ed)(1986), “ *Trace Elements in the Terrestrial Environment*” , New York : Springer-Verlag.
6. R. K. Bhamra and M. Costa(1992) Trace Elements Aluminum, Arsenic, Cadmium, Mercury, and Nickel. *In Environmental Toxicants : Human Exposures and Their Health Effects*, eds. Lippmann, M., New York : Van Nostrand Reinhold.
7. R. Ebinghaus, H. Hintelmann, and R. D. Wilken(1994) Mercury-cycling in surface waters and in the atmosphere-species analysis for the investigation of transformation and transport properties of mercury, *Fresenius’ J. Anal. Chem.*, **350** : 21-29.
8. B. J. Alloway and D. C. Ayres, “ *Chemical Principles of Environmental Pollution*” , 2nd ed., **1997**, Chapman & Hall, UK, pp. 214-218.
9. L. J. Blanchard and J. D. Robertson (1997) Determination of mercury in coal using radiochemical neutron activation analysis, *Analyst.*, **122**, 1261-1264.
10. 王一雄、陳尊賢、李達源(1995) 土壤污染學，初版，pp. 39-54，台北：國立空中大學。

11. Reimers, R. S., P. A. Krenkel(1974) *J. Water Pollut. Control Fed.*, **46** : 352-356.
12. W. N. Marchant (1974) Modified cellulose adsorbent for removal of mercury from aqueous solution, *Environ. Sci. Technol.*, **8** : 993-996.
13. D. E. Robertson, D. S. Sklarew, K. B. Olsen, N. S. Bloom, E. A. Crecelius, C. W. Apts(1987), " *Measurement of bioavailable mercury species in fresh water and sediments*", Report No. EA-5197, Electric Power Research Institute : Palo Alto, CA.
14. J. R. Postgate (1984), " *The sulphate-reducing bacteria*", Cambridge University Press, Cambridge.
15. M. Amyot, G. Mierle, D. R. S. Lean, and D. J. McQueen(1994) *Environ. Sci. Technol.*, **28** : 2366-2371.
16. R. G. Fischer, S. Rapsomanikis, and M. O. Andreae(1995) Bioaccumulation of methylmercury and transformation of inorganic mercury by macrofungi, *Environ. Sci. Technol.*, **29** : 993-999.
17. A. Matthiessen (1996) Kinetic aspects of the reduction of mercury ions by humic substances : I. Experimental design, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **354** : 747-749.
18. 樊邦棠(1994)環境工程化學 , 三版 , pp. 319-330 , 台北 : 科技圖書。
19. J. Aaseth, D. Jacobsen, O. Andersen, and E. Wickstrom(1995) Treatment of mercury and lead poisonings with dimercaptosuccinic acid and sodium dimercaptopropane-sulfonate : A review, *Analyst*, **120** : 853-854.
20. Occupational Safety and Health Administration, Subpart 2-Toxic and hazardous substance. Code of federal regulations 29(part 1910.10000), **1981**, 673-679.

21. 行政院環境保護署(1998) 地面水體分類及水質標準，環署水字第 0039259 號修正。
22. 行政院環境保護署(2001) 放流水標準，環署水字第 0069097 號修正。
23. 行政院環境保護署(2000) 台灣地區土壤重金屬含量等級區分表，台灣。
24. 行政院環境保護署(2001) 土壤污染管制標準，環署水字第 0073684 號。
25. D. A. Skoog, and J. J. Leary, " *Principle of instrumental analysis*", 4th ed., **1992**, pp. 209-220, Florida : Saunders College Publishing.
26. D. A. Skoog, D. M. West and F. J. Holler, " *Fundamentals of Analytical Chemistry*", 7th ed., **1996**, pp. 611-629, Philadelphia, Saunders College Publishing.
27. Hitachi Co. " *Operational Mannual for Atomic Absorption Spectrophotometry*" .
28. H. M. Kington and L. B. Jassie (1986) Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical sample, *Anal. Chem.*, **58**, 2534-3541.
29. F. E. Smith and E. A. Arsenault (1996) Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry, Review, *Talanta*, **43**, 1207-1268.
30. K. J. Lamble and S. J. Hill (1998) Microwave digestion procedures for environmental matrices, Critical Review, *Analyst*, **123**, 103R-133R.
31. 紀柏享，楊末雄，1998，“微波消化之方法與應用”，*Chemistry [R. O. C.]*，**56**, 269-284.
32. R. N. Sah and R. O. Miller (1992) Spontaneous reaction for acid

- dissolution of biological tissues in closed vessels, *Anal. Chem.*, **64**, 230-233.
33. S. Baldwin, M. Deaker and W. Maher (1994) Low-volume microwave digestion of marine biological tissues for the measurement of trace elements, *Analyst*, **119**, 1701-1704.
34. D. Rood. " *The use of solid phase extraction for environmental samples. In Quality Assurance in Environmental Monitoring : Instrumental Methods*" eds. Snbramanian, G., **1995**, VCH Publishers : New York.
35. M. F. Garcia , R. P. Garcia, N. B. Garcia and A. Sanz-Medel(1994) On-line preconcentration of inorganic mercury and methylmercury in sea water by sorbent-extraction and total mercury determination by cold vapour atomic absorption spectrometry, *Talanta*, **41** : 1833-1839.
36. M. M. Jones, M. A. Basinger, and A. D. Weaver (1980) Comparison of standard chelating agents for acute mercuric chloride poisoning in mice, *Res. Commun. Chem. Path. Pharmacol.*, **27** : 363-371.
37. A. P. Arnold, A .J. Canty, and R. S. Reid et al.(1985) Nuclear magnetic resonance and potentiometric studies of the complexation of methylmercury by dithiols, *Can. J. Chem.*, **63** : 2430-2436.
38. 王厚傳(1995) 以石墨電熱式原子吸光法測定飲用水中總汞、人體尿液和血清中總硒、及人體尿液中總砷之研究，私立東海大學環境科學研究所碩士論文，台中。
39. 黃昱中(1997) 以石墨電熱式原子吸光法測定飲用水中和空氣中微量的總汞之研究，私立東海大學環境科學研究所碩士論文，台中。

40. H. C. Wang, Y. C. Hwang, C. J. Hsieh and M. S. Kuo(1998)
Determination of total mercury in drinking water and of methylmercury in air by graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry using 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate as a complexing agent, *Anal. Sci.*, **14** : 983-986.
41. 陳文毅(2001)以石墨式原子吸光法測定頭髮中總汞及甲基汞之研究，私立東海大學環境科學研究所碩士論文，台中。
42. W. Y. Chen, Y. C. Wang and M. S. Kuo (2002) Determination of total mercury and methylmercury in human hair by graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry using 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate as a complexing agent, *Anal. Sci.*, **18** : 255-260.
43. C. Y. Zhou, M. K. Wong, L. L. Koh, and Y. C. Wee(1996)
Comparison of acid mixtures in high-pressure microwave digestion methods for determination of the total mercury in sediments by cold-vapor atomic absorption spectrometry, *Anal. Sci.*, **12** : 471-476.
44. W. Gu, C. Y. Zhou, M. K. Wong, and L. M. Gan(1998)
Orthogonal array design(OAD) for the optimization of mercury extraction from soils by dilute acid with microwave heating, *Talanta*, **46** : 1019-1029.
45. H. Biester and G. Nehrke(1997) Quantification of mercury in soils and sediments – acid digestion versus pyrolysis, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **358** : 446-452.

46. H. Hintekmann, M. Hempel, and R. D. Wilken(1995)
Observation of unusual organic mercury species in soils and sediments of industrially contaminated sites, *Environ. Sci.*

Technol., **29** : 1845-1850.

47. I. Lopez-Garcia, M. Sanchez-Merlos, and M. Hernandez-Cordoba (1997) Determination of mercury in soils and sediments by graphite furnace atomic absorption spectrometry with slurry sampling, *Spectrochim. Acta*, **52B** : 2085-2092.
48. W. X. Ma, F. Liu, K. A. Li, W. Chen, and S. Y. Tong (2000) Preconcentration, separation and determination of trace Hg() in environmental samples with aminopropyl-benzoylazo-2-mercaptobenzothiazole bonded to silica gel, *Anal. Chem. Acta*, **416** : 191-196.
49. S. T. Pagano, B. W. Smith, and J. D. Winefordner(1994) Determination of mercury in microwave-digested soil by laser-excited atomic fluorescence spectrometry with electrothermal atomization, *Talanta*, **41** : 2073-2078.
50. T. Tomiyasu, A. Nagano, H. Sakamoto, and N. Yonehara(1996) Differential determination of organic mercury and inorganic mercury in sediment, soil and aquatic organisms by cold-vapor atomic absorption spectrometry, *Anal. Sci.*, **12** : 477-481.
51. I. Vedrinar-Dragojevic, D. Dragojevic, and S. Cadez(1997) Spectrofluorimetric method for the determination of the total mercury content in sediment and soil, *Anal. Chim. Acta*, **355** : 151-156.
52. M. T. M. Zaki and M. A. Esmail(1997) Determination of total mercury in soils, waste water and sewage effluents, *Anal. Lett.*, **30** : 1579-1590.
53. S. Landi and F. Fagioli(1994) The adaptation of the dichromate digestion method for total mercury determination by cold-vapor atomic absorption spectrometry to the analysis of soils,

- sediments and sludges, *Anal. Chim. Acta*, **298** : 363-374.
54. H. Biester and C. Scholz(1997) Determination of mercury binding forms in contaminated soils : mercury pyrolysis versus sequential extractions, *Environ. Sci. Technol.*, **31** : 233-229.
55. M. Ashraf-Khorassani and L. T. Taylor(1999) Supercritical fluid extraction of mercury() ion via in situ chelation and pre-formed mercury complexes from different matrices, *Anal. Chim. Acta*, **379** : 1-9.
56. S. F. Chen and S. J. Jiang(1998) Determination of cadmium, mercury and lead in soil samples by slurry-sampling electrothermal-vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, **13** : 1113-1117.
57. G. Bombach, K. Bombach, and W. Klemm(1994) Speciation of mercury in soils and sediments by thermal evaporation and cold vapour atomic absorption, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **350** : 18-20.
58. 行政院環境保護署(1991)土壤中汞檢驗方法—冷蒸氣無焰式原子吸收光譜法，環署檢字第 27038 號公告，NIEA S340.60T。
59. T. Claire, K. F. Mossop, J. R. Dean, L. M. Garden, J. Marshall, and J. Carroll(2000) Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic absorption spectrometry with gold amalgamation, *Anal. Chim. Acta*, **405** : 179-183.
60. B. J. Keller, M. E. Penden, and A. Rattogetti(1984) Graphite-furnace atomic absorption method for trace-level determination of total mercury, *Anal. Chem.*, **56** : 2617-2618.
61. R. D. Ediger (1975) Atomic absorption analysis with the graphite furnace using matrix modification, *At. Absorpt. Newsl.*, **14** : 127-130.

62. G. F. Kirkbright, H. C. Shan, and R. D. Snook(1980) An evaluation of some matrix modification procedures for use in the determination of mercury and selenium by atomic absorption spectroscopy with a graphite tube electrothermal atomizer, *Atom. Spectros.*, **1** : 85-89.
63. 馮慧梅(1991) 用石墨電熱式原子吸光法直接測定飲用水中總汞和總硒之研究，私立東海大學環境科學研究所碩士論文，台中。
64. L. Ping, K. Fuwa, and K. Matsumoto(1985) Sensitivity enhancement by palladium addition in the electrothermal atomic absorption spectrometry of mercury, *Anal. Chim. Acta*, **171** : 279-284.
65. B. Welz, G. Schlemmer, and J. R. Mudakavi(1992) Palladium nitrate-magnesium modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, **7** : 1257-1271.
66. B. Bulska, W. kandler, and A. Hukanicki(1996) Nobel metals as permanent modifiers for the determination of mercury by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta*, **51B** : 1263-1270.
67. H. V. Aposhina, C. H. Tadlock, and T. E. Moon(1981) Protection of mice against the lethal effect of sodium arsenite - A quantitative comparison of a number of chelating agents, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **61** : 385-392.
68. A. P. Arnold, A. J. Canty, R. S. Reid, and D. L. Rabenstein(1985) Nuclear magnetic resonance and potentiometric studies of the complexation of methylmercury() by dithiols, *Can. J. Chem.*, **63(9)** : 2430-2436.
69. I. Equiarte, R. M. Alonso, and R. M. Jimenez(1996) Determination of Total Arsenic in Soils by Differential-pulse Cathodic Stripping Voltammetry, *Analyst*, **121** : 1835-1838.

70. Sep-Pak Cartridge : instruction sheet, Waters Inc., Milford, Massachusetts.
71. Waters Sep-Pak Cartridge : care and use manual (1993)Waters Inc., Milford, Massachusetts.
72. Sample preparation products for solid extraction, Waters Inc., Milford, Massachusetts.

附錄一 土壤標準參考樣品 (GBW07404) 之成分

Certified values of soil reference materials

(Certification 1986, Revision 1998)

	ì g/g		ì g/g		ì g/g		ì g/g		%
Ag	0.070±0.016	Eu	0.85±0.11	Nd	27±3	Ti	10800±470	SiO ₂	50.95±0.21
As	58±3	F	540±38	Ni	64±7	Tl	0.94±0.33	Al ₂ O ₃	23.45±0.29
Au	0.0055	Ga	31±5	P	695±43	Tm	0.70±0.12	TFe ₂ O ₃	10.30±0.16
B	97±13	Gd	4.7±0.6	Pb	58±7	U	6.7±1.2	FeO	0.41
Ba	213±31	Ge	1.9±0.4	Pr	8.4±1.9	V	247±21	MgO	0.49±0.07
Be	1.85±0.53	Hf	14±2	Rb	75±6	W	6.2±0.7	CaO	0.26±0.05
Bi	1.04±0.20	Hg	0.59±0.08	S	180±40	Y	39±8	Na ₂ O	0.11±0.03
Br	4.0±1.1	Ho	1.46±0.14	Sb	6.3±1.7	Yb	4.8±0.5	K ₂ O	1.03±0.09
Cd	0.35±0.08	I	9.4±1.2	Sc	20±2	Zn	210±19	H ₂ O ⁺	10.1
Ce	136±16	In	0.12±0.03	Se	0.64±0.18	Zr	500±65	CO ₂	0.12
Cl	36	La	53±6	Sm	4.4±0.5			Org-C	0.62±0.06
Co	22±3	Li	55±3	Sn	5.7±1.3			LOI	10.9
Cr	370±24	Lu	0.75±0.09	Sr	77±9			(Corr)	100.35
Cs	21.4±1.3	Mn	1420±117	Ta	3.1±0.3				
Cu	40±4	Mo	2.6±0.4	Tb	0.94±0.13				
Dy	6.6±0.7	N	1000±50	Te	0.15				
Er	4.5±0.8	Nb	38±5	Th	27±2				