

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、底泥及生物體之間轉換與流動，如附錄一所示^[2]。而底泥污染的來源，通常是經由水污染、土壤污染、空氣污染物之落塵或是廢棄物之處置不當所引起。

一般而言汞進入人體後，將與體內細胞(-SH group)結合，而影響人們的腎臟、傷害神經系統、引起麻痺、染色體異常分裂或甚至畸形兒童^[3,4]。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。有機汞因有較高的脂溶性，會累積在人體內，傷害中樞神經系統；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^[5]。

二、底泥中汞的相關規範

在自然界未受污染的底泥中，總汞的濃度約為 20-100 ng/g Hg^[6]，通常底泥中甲基汞的濃度約為總汞濃度之 0.1-1.5%^[7]。加拿大規定若底泥中總汞的濃度大於 100 ng/g 時，即視為已受污染之底泥

^[8]；德國規定底泥中總汞的濃度大於 250 ng/g 時，才視為已受污染之底泥^[9]；英國則以 1000 ng/g 為界限^[9]，但台灣目前對底泥中的汞尚未有法令規範。

三、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。另外是金屬化合物在灰化時，未能將樣品基質分解完全，因此，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。通常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，或使用 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，通常可使用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.)

中空陰極燈管是原子吸收光譜儀測定重金屬時最常使用的光源之一，如圖 1-1 所示，此燈管包含鎢 (tungsten) 陽極和圓柱形的中空陰極，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，氖氣被離子化，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^[10]。

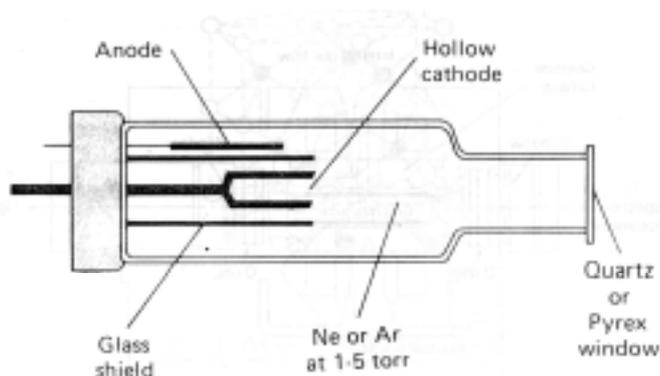


圖 1-1 中空陰極燈管之構造圖^[10]

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光譜線，這些吸收光

譜線的差異約在 0.01 nm，而其總吸光度與分裂前的原始吸收光譜線相等，這種現象稱為 Zeeman 效應 (Zeeman effect)，對原子光譜而言是很常見的。在原子吸收光源的過程中，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 (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，其吸光度為 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譜線。

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 效應作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)，將光源分成與磁場呈平行和垂直的兩平面極化光。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^[10,11]。

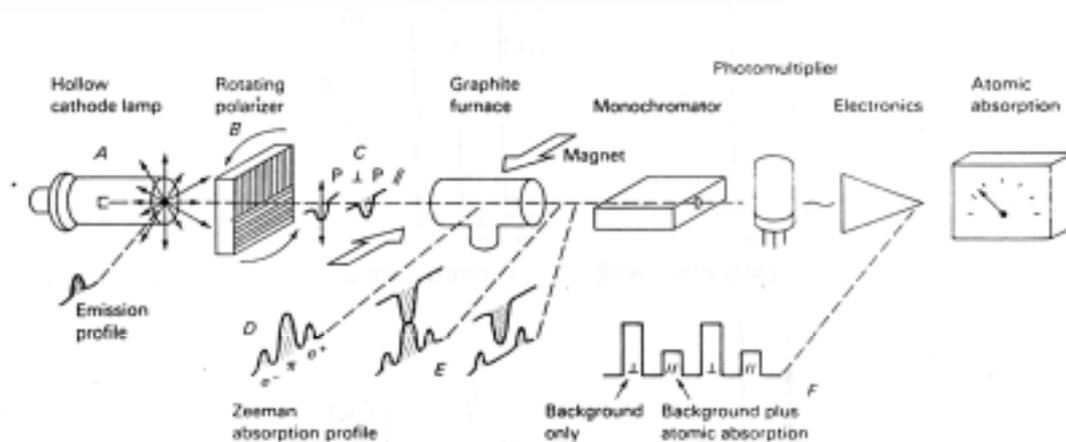


圖 1-2 以 Zeeman 效應為基礎作為原子吸收光譜的背景校正系統^[11]

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，但不致使待測物漏失，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^[12]。

(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，則待測物在尚未到達原子化之前，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，以增加石墨管的使用次數。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，由於石墨管吸熱後的 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 秒。

(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

一般環境中的樣品基質可能很複雜，較少能直接注入儀器作分析，通常需經由前處理步驟來移除干擾物，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，才能被測得。因此本研究選用微波消化及固相萃取(solid phase extraction, SPE)的方式作為測定底泥中總汞的前處理步驟。

1. 微波消化

微波是一種電磁波，其能量介於紅外光與無線電波之間，頻率範圍為 $3-300 \times 10^5$ 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即是能量傳遞的方式。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^[13-18]。

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，並且可以減少試劑(如酸或鹼)的用量及降低或去除空氣中微粒所造成的污染等優點，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^[19-22]。

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^[23]，並且有較大的濃縮倍數，較佳的效率和再現性^[24]。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^[23]，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，通常以 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。

五 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，造成先天性畸型兒^[4]，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^[25,26]，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+})和甲基汞(CH_3Hg^+)中毒時的解毒劑^[27-29]，能將汞排出體外，這是由於 Hg^{2+} 與 DMPS 結合的 formation constant 很大， $\log(K_{\text{stab.}})=42.2$ ^[30]；而 CH_3Hg^+ 與 DMPS 結合的 formation constant 也約有 $\log(K_{\text{stab.}})=21.2$ ^[31]，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^[32]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^[19,33]也曾藉助 DMPS 與汞結合的能力，和經 Sep-Pak C_{18} cartridges 預濃縮後，測定飲用水中微量的總汞和大氣中的甲基汞。陳氏^[34]曾應用此濃縮方式測定人體頭髮中的總汞和甲基汞。楊氏^[35]也應用此濃縮方式來測定土壤中的總汞。因此，本實驗也嘗試使用 DMPS 作為測定底泥中總汞之複合劑。DMPS 之結構式如圖 1-3 所示。

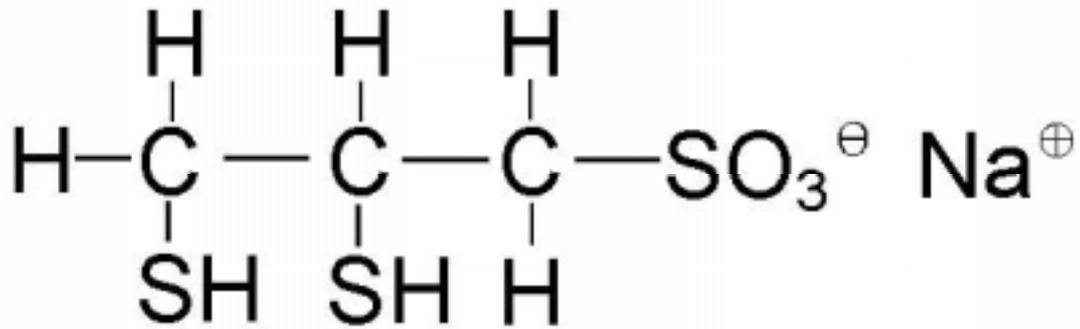


圖 1-3 2,3-Dimercaptopropane-1-sulfonate (DMPS)之結構式

六、研究目的與方法概述

在自然界的食物鏈中，河海中的魚貝類生物會吸食底泥，可能將底泥中的總汞和甲基汞吃入而累積於其體內，進而被人們食用，轉至人體內，對人們造成傷害。因此本研究想建立一種分析方法作為測定台灣一些河川和附近海域底泥中總汞的含量，藉此得知這些底泥是否遭受污染。

本實驗藉由微波消化萃取底泥基質中的總汞，經調整 pH 值至 6.5-7.0 後，加入 DMPS，使與 Hg^{2+} (或 CH_3Hg^+) 形成複合物。藉由自製 C_{18} cartridge 預濃縮後，用甲醇將此複合物沖洗出，並使用 GFAAS 測定底泥中總汞的含量。由實驗所得的結果作為探討本實驗方法測定底泥中總汞的可行性，並建立準確分析底泥中總汞的方法。

第二章 文獻回顧

一、底泥中汞的分析方法

1.底泥中總汞的測定方法

底泥中總汞的測定方法較常用的有下列三種方法：

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

(a)有取 2-5 g 底泥，加入 3 mL 濃 HNO_3 +2 mL 濃 HCl ，消化 6 小時後，再加入氧化劑 ($\text{KMnO}_4+\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)，繼續加熱 15 分鐘，使汞氧化為 Hg^{2+} ，然後加入還原劑 ($\text{NaCl}+\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$)，將過剩的 KMnO_4 還原至無色後，用純水稀釋至 100 mL，使用火焰式原子吸光法 (Flame AAS) 測定總汞的含量。線性範圍為 0.27-183 ($\mu\text{g/g}$) Hg ；方法偵測極限 (method detection limit , MDL) 為 0.1 ng/g；回收率 (%recovery) 為 85-115%^[36]。

(b)有取 0.2 g 底泥，加入 HNO_3 和 NaCl ，消化後加入 SnCl_2 ，將 Hg^{2+} 還原為 Hg^0 ，與金形成汞齊 (Au-amalgamator) 濃縮後，使用冷蒸氣原子吸光法 (cold vapor AAS , CVAAS) 測總汞，測得 BCR CRM 580 [Community Bureau of Reference, European Commission Standards, Measurement and Testing Programme, Belgium, certified value 132 ± 3 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 129 ± 7 ($\mu\text{g/g}$) Hg 。此外，有使用 $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ ； $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HCl}$ ；或 HNO_3/HCl 等混合液作為消化液，經微波消化後，測得 BCR CRM 580 之值分別為 (130 ± 4) (134 ± 8) 和 (135 ± 4) ($\mu\text{g/g}$) Hg 也有使用 HNO_3 在 80 消化 4 小時；或使用 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 迴流 3 小時，分別測得 BCR CRM 580 之值為 133 ± 2 和 134 ± 2 ($\mu\text{g/g}$) Hg ^[37]。

(c)有取 2-60 mg 底泥，使用 3 隻 IR 燈 (1100) 照射 30 秒，使底泥中的汞揮發為 Hg^0 ，然後，用空氣將 Hg^0 吹至 Au-amalgamator 濃縮後，再加溫，將 Hg^0 釋出，以 AAS 測定

總汞，MDL 值為 0.26 ng Hg [或 4 (ng/g)Hg for a 60 mg sample]。使用此方法測試三種底泥參考樣品，所得的準確度都良好。如：測得 SRM NIST (National Institute of Standards and Technology, U.S.A.) Buffalo river sediment [certified value 1.47 ± 0.07 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 1.42 ± 0.06 $\mu\text{g/g}$; CRM NIES (National Institute of Environmental Studies, Japan) pond sediment No. 2 [reference value 1.30 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 1.28 ± 0.04 $\mu\text{g/g}$; 和 CRM IAEA (International Atomic Energy Agency, Vienna) SL-1 lake sediment [reference value 0.13 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 0.13 ± 0.01 $\mu\text{g/g}$ ^[38]。

(d) 有取 200-500 mg 底泥 (CRM , 0.035 - 7.06 $\mu\text{g/g}$) 放入 Ni 製的小船 (boat) , 再放入石英製之加熱管 (750) , 使生成 Hg^0 , 用氧氣帶入 Au-amalgamator 形成汞齊。然後加溫 (900) , 將 Hg^0 釋出，以 AAS 測定總汞，所得的準確度良好，相對標準偏差 (%RSD , $n= 8$) 為 3.6% ^[39]。

(e) 有取 10-250 mg 底泥放入聚丙烯 (PP) 材質之小試管，加入 1 mL 含有 HF 及 HNO_3 (1% , v/v) 和 sodium hexametaphosphate (1% , w/v) , 震盪均勻後，取出 10 μL 懸浮液 (slurry) 注入石墨管，再加入 chemical modifier ($\text{AgNO}_3+\text{KMnO}_4$) , 使用 GFAAS 測定總汞，所得之 MDL 值為 100 (ng/g)。使用此方法測得 CRM PACS-1 marine sediment [certified value 4.57 ± 0.16 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 4.62 ± 0.20 $\mu\text{g/g}$; SRM NIST 2704 river sediment [certified value 1.47 ± 0.07 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 1.52 ± 0.06 $\mu\text{g/g}$; SRM NIST 277 estuarine sediment (certified value 1.77 ± 0.06 ($\mu\text{g/g}$) Hg) 之值為 1.83 ± 0.04 $\mu\text{g/g}$ ^[40]。

(f) 有取 2 g 底泥，加入 20 mL 王水後，在 160 消化 3 小時，使用冷蒸汽式原子吸光法 (CVAAS) 測定總汞^[41]。

(2)使用冷蒸氣原子螢光法(cold vapor atomic fluorescence spectrometry , CVAFS)

有取 0.1 g 底泥放入 60 mL 之鐵氟龍瓶，加入 10 mL 濃酸液 ($\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4=70:30$) 後，在 65 消化 4 小時。冷卻後，加入氧化劑 ($\text{KMnO}_4+\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)，在 65 再消化 2 小時，以純水定容至 25 mL，以 CVAFS 測定總汞，最低可準確定量之濃度 (limit of quantitation, LOQ) 為 8 (ng/g)Hg 或 MDL 值約為 2.4 (ng/g)。使用此方法測得 BCR CRM 320 river sediment 2 [reference value 1030 (ng/g) Hg] 之值為 960 ng/g; BCSS-1 marine sediment [reference value 176 (ng/g) Hg] 之值為 172 ng/g。添加回收率為 104%，相對標準偏差 (%RSD, n= 4) 約 3%^[42]。

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

(a)有取適量底泥，加入 5 mL 濃 HNO_3 和 1.8 mL 濃 HCl 後，在 100 消化 1 小時，然後加入 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ，使汞全部轉為 Hg^{2+} 的形式，再加入 SnCl_2 溶液，將 Hg^{2+} 還原為 Hg^0 ，以 ICP-MS 測定總汞。使用空白試液 (blank solution) 所得之 MDL 值為 0.004 (ng/g) Hg^[43]。

(b)有取 0.25 g 底泥，加入 8 mL 濃 HNO_3 ，使用開放式微波消化 (20 W, 5 分鐘) 後，再加入 2 mL H_2O_2 ，作第二階段之消化，然後定容到一定體積。取出 5 mL，內含有 0.1% Triton X-100，0.1% EDTA，0.1% $\text{NH}_3(\text{aq})$ 和 ^{205}Tl 作為內標準品 (internal standard, 20 $\mu\text{g/L}$)，並使用標準添加法(加入 0 – 40 $\mu\text{g/L}$ Hg)，藉著 flow injection system 注入樣品，連接 ICP-MS，使用 ^{200}Hg 作定性分析和 ^{202}Hg 作定量分析。當使用 0.25 g 底泥樣品時，所得之 MDL 值為 1 (ng/g) Hg；線性範圍為 4-100 ($\mu\text{g/g}$)；回收

率為 95-105%。使用此方法測得 BCR S-19 estuarine sediment [reference value 91.07 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 95 ± 3 ($\mu\text{g/g}$) ; IAEA-356 marine sediment [certified value 7.62 ± 0.65 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 7.3 ± 0.1 ($\mu\text{g/g}$) ; NRCC(National Research Council Canada) CRM PACS-1 sediment [certified value 4.57 ± 0.16 ($\mu\text{g/g}$) Hg] 之值為 4.7 ± 0.3 ($\mu\text{g/g}$)^[44]。

(c) 有使用 HNO_3 或 HNO_3/HCl 作為消化酸液，經微波消化後，加入 SnCl_2 溶液，使生成 Hg^0 ，以 ICP-MS 測得 BCR CRM 580 之值分別為 (134 ± 3) 和 (131 ± 4) ($\mu\text{g/g}$) Hg ^[37]。

(d) 有取 0.25 g 底泥，壓縮製成小丸 (在 60 MPa for 5 sec)，以雷射激發 (laser ablation) 連接 ICP-MS (LA-ICP-MS) 測定汞的含量。當使用 0.25 g 底泥樣品時，所得之偵測極限值為 20 (ng/g)^[45]。

2. 底泥中甲基汞的測定方法

底泥中甲基汞的測定方法較常用的有下列七種方法：

(1) 使用冷蒸氣原子吸光法 (CVAAS)

(a) 有取 1g 底泥，加入 CuCl_2 (0.4g) NaCl (3% , w/v) HCl (10 mL 1M)，震盪 10 分鐘後，以 3000 rpm 離心 2 分鐘，收集上層澄清液 (含有甲基汞和部分無機汞)，如此重複三次。在澄清液中，加入氯仿 (CHCl_3 , 7 mL)，震盪 2 分鐘後，離心，此時，甲基汞被萃取至 CHCl_3 相，如此重複三次。在 CHCl_3 相中，加入螯合劑 Dithizone (diphenylthiocarbazone , 0.4 mL , 0.2%) 與甲基汞生成 chelate，蒸發至近乾，加入酸液 (1 mL of 60% HClO_4)，在 230 加熱 30 分鐘，冷卻後，用水定容至 50 mL。取出 20 mL，以 CVAAS

測定甲基汞的含量和濃度，當使用 1 g 底泥時，所得之 MDL 值為 1 (ng/g)^[46]。

(b)有取 0.2 g 底泥，經蒸餾（或使用 6 M HCl 萃取甲基汞和無機汞）後，流經陰離子交換樹脂（anion-exchange resin）移除無機汞(HgCl_4^{2-})後，以紫外光燈照射 CH_3Hg^+ ，使生成 Hg^{2+} ，再加入 SnCl_2 使形成 Hg^0 ，經 Au-amalgamator 濃縮後，再加熱脫附，以 CVAAS 測定甲基汞的含量。使用此方法測得 IAEA-356 marine sediment [certified value 5.46 ± 0.77 (ng/g) CH_3Hg^+] 之值為 5.97 ± 0.65 (ng/g) 之 CH_3Hg^+ ，回收率為 98%^[47]。

(2)使用氣相層析連接原子吸光法（GC-AAS）

(a)取 0.5 g 底泥，加入 5 mL 5 N HCl [或 5 N H_2SO_4 含有 NaCl (1%, w/v) 和 CuSO_4 (1%, w/v)]。在沸水中加熱 15 分鐘後，加入甲苯（toluene，5 mL）萃取甲基汞，經離心後，在甲苯層中加入硫代硫酸鈉（ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ，4 mL, 1% w/v），將甲基汞回萃至水層，以吹氣捕捉（purge and trap）的方式，導入 GC，使用 FTIR 和 AAS 測定甲基汞的含量。若連續萃取 4 次時，準確度可達 99.6-101.3%；最低可準確被定量的值(LOQ) 為 50 pg CH_3Hg^+ 或 MDL 值為 15 pg^[48]。

(b)有取 1-2 g 底泥，加入 10 mL 2-8 M HCl（或 HNO_3 ），使用開放式微波消化（60 W, 3 分鐘）將底泥中的甲基汞萃取出，經離心（2000 rpm，5 分鐘）後，取出上層水溶液，加入四乙基硼化鈉（ NaBEt_4 ）乙基化，使反應生成 $\text{CH}_3\text{HgC}_2\text{H}_5$ ，經冷凍捕捉（cryogenic trapping）濃縮後，加熱導入 GC，以 Quartz-Furnace AAS 測定甲基汞^[49]。使用此方法測試兩種底泥標準參考樣品（BCR CRM 580 和 BCR CRM S-19），所得之值都可落在 certified values（ 75.5 ± 3.7 ）和（ 53.1 ± 8.6 ）

(ng/g) CH_3Hg^+ 之範圍內，表示準確度良好，其添加回收率為 $(96 \pm 8)\%$ ^[50]。

(c) 有取 0.25 g 底泥，加入 HCl 萃取甲基汞和部分無機汞後，使用 toluene 萃取甲基汞，再以 cysteine 將甲基汞回萃到水層，再以 toluene 萃取至有機相，加入 EtHgCl 作為內標標準品，注入 GC，以 CVAAS 測定甲基汞。使用此方法測得 BCR CRM 580 之值為 73.5 ± 3.5 (ng/g) CH_3Hg^+ ；添加回收率為 $96 \pm 2\%$ ^[37,51]。

(3) 使用氣相層析連接冷蒸氣原子螢光 (cold vapor atomic fluorescence spectrometry, GC-CVAFS) 法

(a) 有取 0.05 g 乾底泥 (或 0.5-2.0 g 濕底泥)，加入水 (10 mL) 和 2.5 mL 水溶液 [內含有 KCl (6.0%, w/v) H_2SO_4 (5%, v/v) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (10%, w/v)]，經蒸餾後，加入醋酸緩衝溶液 (pH=4.5-5.0, 2 M, 0.4 mL acetate buffer) 和四乙基硼化鈉 (75 μL , 1% NaBEt_4)，將甲基汞衍化生成甲基乙基汞 ($\text{CH}_3\text{HgC}_2\text{H}_5$)，以 GC-CVAFS 測定甲基汞的含量和濃度，當使用 1 g 濕底泥樣品時，所測得之 MDL 值為 0.01 ng/g。使用此方法測得 BCR CRM 580 之值為 75.8 ± 3.3 (ng/g) CH_3Hg^+ ；IAEA-356 之值為 4.93 ± 0.13 (ng/g)；添加 5 ng CH_3Hg^+ 於兩種 CRM 之回收率分別為 $(95 \pm 3)\%$ 和 $(97 \pm 5)\%$ 。^[52] 另有測得 BCR CRM 580 之值為 81.5 ± 3.0 (ng/g) CH_3Hg^+ ；%RSD= 3.7%^[49]。

(b) 取 4-5 g 底泥，加入水 (5 mL) 和酸性的 KBr/ CuSO_4 (3:1)，振盪 1 小時後，以二氯甲烷 (CH_2Cl_2 , 5 mL) 萃取甲基汞。離心後，取出部份 (1 mL) CH_2Cl_2 ，加入醋酸鈉緩衝溶液 (acetate buffer) 和四苯基硼化鈉 (sodium tetraphenylborate, $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$)，振盪後，取出部分有機相，注入 GC/AFS，測

定甲基汞的含量。使用此方法，當使用 5 g 底泥樣品時，所測得之 MDL 值為 0.11 (ng/g) CH_3Hg^+ ；線性範圍為 0-50 pg Hg。使用本方法求甲基汞之含量時，需用標準添加法 (standard addition method)，添加回收率為 57-112%^[53]。

(c) 有使用鹼液消化 (alkaline digestion, 25% KOH in methanol)，經蒸餾後，加入 acetate buffer 和 NaBEt_4 ，以 GC-CVAFS 測定甲基汞的含量。使用此方法測得 IAEA-356 之值為 5.28 ± 0.29 (ng/g) CH_3Hg^+ ；添加回收率為 87.4-90.9%^[47]。

(4) 使用 GC-ECD (electron capture detector) 法

(a) 取 0.25 g 底泥，加入 HCl 萃取汞，再將甲基汞萃取至 toluene 層，如此重複兩次。加入 EtHgCl 作為內標標準品，注入 GC，以電子捕捉偵測器 (ECD) 測定甲基汞的濃度，添加回收率為 $(96 \pm 2) \%$ 。^[48] 使用此方法測得 BCR CRM 580 之值為 78.5 ± 2.9 (ng/g) CH_3Hg^+ ；%RSD 為 3.7%^[49]。

(b) 有取 0.5 g 底泥，經蒸餾萃取汞後，加入 4 mL 4 M ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KBr}$)，使生成 CH_3HgBr ，然後加入 5 mL 甲苯萃取甲基汞，如此重複萃取 2 次。將有機相合併，加入 cysteine 水溶液 (1%, 3 mL) 使甲基汞被移至水相，移除雜質淨化後，再回萃至甲苯相 (1 mL)。經濃縮至 0.1 mL 後，取出 2 μL 注入 GC-ECD，測定甲基汞的濃度。使用此方法測得 IAEA-356 (certified value 5.46 ± 0.77 ng/g) 之值為 5.20 ± 0.61 (ng/g) CH_3Hg^+ ；淨化過程之回收率為 $(68 \pm 2) \%$ ^[47]。

(c) 有取 1.5 g 底泥，加入 HCl (6 M, 400 μL) 和 toluene (10 mL)，經微波消化 (120 °C, 10 min) 後，取出有機層，加入 cysteine acetate 水溶液 (3 mL, 1%) 後，再加入 HCl (6 M, 4 mL) 和 toluene (5 mL)，將甲基汞回萃至有機相，取出 1 μL 注入 GC-ECD。使用此方法測得 MDL 值為 8 (ng/g) CH_3Hg^+ ；測

得 2 種 BCR CRM (580 和 S-19) 之準確度良好 ; %RSD 為 8%^[54]。

(5)使用 HPLC-CVAAS 法

(a)取 0.25 g 底泥 , 加入 H_2SO_4 和 NaCl , 經蒸餾後 , 加入醋酸鈉緩衝溶液 (acetate buffer) 和複合劑 (sodium pyrrolidine dithiocarbamate , SPDC) , 經 C_{18} 管柱前濃縮後 , 注入液相層析儀 (HPLC) , 使用 CVAAS 測定甲基汞的含量和濃度。使用此方法測得 BCR CRM 580 (certified value 75.5 ± 3.7 ng/g) 之值為 76.6 ± 8.1 (ng/g) CH_3Hg^+ ; %RSD 為 10.6%^[49]。另有測得 BCR CRM 580 之值為 76.0 ± 6.0 (ng/g) CH_3Hg^+ ; 添加回收率為 (103 ± 7) %^[37]。

(b)有使用 0.2-1.0 g 底泥 , 與上述 5(a)相同的方法 , 測得 BCR CRM S-19 之值為 60.1 ± 4.3 (ng/g) CH_3Hg^+ 及 IAEA-356 之值為 5.59 ± 0.42 (ng/g) CH_3Hg^+ 。以 1 g 的底泥樣品測得 MDL 值為 40 pg [或 0.04 (ng/g) CH_3Hg^+] ; 以標準添加法所得之線性範圍為 0.04-20 ng CH_3Hg^+ ; 添加回收率為 92-95%^[55]。

(6)使用 HPLC-CVAFS 法

(a)取 1 g 底泥 , 加入 HCl , 將甲基汞溶出後 , 接著被萃取至甲苯 (toluene) 相 , 然後 , 加入硫代硫酸鈉溶液 ($Na_2S_2O_3$) , 反萃取至水相 , 使用 HPLC 分離後 , 加入複合劑和氧化劑 , 再加入 $SnCl_2$, 使形成 Hg^0 , 以冷蒸氣原子螢光法 (CVAFS) 測定甲基汞的含量。使用此方法測得 BCR CRM 580 之值為 77.0 ± 4.0 (ng/g) $CH_3Hg^{+[37]}$; 添加回收率為 (103 ± 2) %^[51]。另有測得 BCR CRM 580 之值為 78.0 ± 3.8 (ng/g) CH_3Hg^+ ; %RSD= 4.9%^[49]。

(b)有將 HCl/toluene 加入底泥樣品 , 將甲基汞萃取至有機相 , 如此重複萃取 3 次 , 再加入 $Na_2S_2O_3$ 水溶液 , 將甲基汞由有機

相被萃取至水相。取出 25 μL 注入 HPLC (C_{18} column , 200 x 3 mm 內徑) , 移動相 (mobile phase) 含有 2-mercaptoethanol (0.1 mM) , 以 CVAFS 測定甲基汞的含量和濃度 , 使用此方法測得 IAEA-356 (certified value 5.46 ± 0.77 ng/g) 之值為 3.87 ± 0.46 (ng/g) CH_3Hg^+ ^[47]。

(7)使用 HPLC-ICP-MS 法

(a)取 10 g 底泥 , 加入氯仿(CHCl_3 , 50 mL)萃取甲基汞 , 經過濾後 , 將 CHCl_3 相之體積濃縮至 5 mL , 如此重複萃取 2 次。取出部份(100 μL) , 以 N_2 吹乾 CHCl_3 後 , 加入水 (10 mL) NaCl 、 H_2SO_4 (8 M, 200 μL)、 和 ^{200}Hg (500 ng in 50 μL) , 經蒸餾後 , 收集蒸餾液(約 9 mL) 取出部分注入 HPLC , 以 ICP-MS 測定甲基汞的含量。測得 River Rhine sediment [reference value 0.72(ng/g) CH_3Hg^+]之值為 0.69(ng/g)^[56]。另有測得 BCR CRM 580 之值為 74.8 ± 3.7 (ng/g) CH_3Hg^+ ; %RSD 為 4.9%^[49]。

(b)另有使用 0.2 g 底泥 , 加入 $\text{HCl}/\text{H}_2\text{SO}_4$, 經蒸餾後 , 加入 acetate buffer 和螯合劑(SPDC) , 使用 HPLC 分離後 , 甲基汞與 SPDC 之螯合物被萃取到甲苯中 , 經紫外光燈 (UV) 照射和加入強還原劑 (NaBH_4) 還原為 Hg^0 後 , 用 ICP-MS 測得甲基汞的含量和濃度。使用此方法測得 BCR CRM 580 之值為 75.0 ± 5.0 (ng/g) CH_3Hg^+ ; 添加回收率為 (104 ± 6) %^[37]。

(c)有使用 0.05-0.5 g 底泥 , 加入水 (9.5 mL) 和 KCl 、 H_2SO_4 溶液 , 經蒸餾萃出甲基汞後 , 加入 SPDC 螯合劑 , 反應後 , 用純水定容至 10 mL。取出適量 (1-10 mL) , 經 C_{18} column 前濃縮後 , 注入 HPLC , 以 ICP-MS 測得甲基汞之含量和濃度。使用此方法 , 當樣品量為 0.5 g 時 , 所測得之 MDL 值為 15 pg (or 0.025 ng/g)。此外 , 測得 BCR CRM S-19 之值

為 54.6 ± 1.6 (ng/g) CH_3Hg^+ ; 測得 IAEA-356 之值為 5.95 ± 0.52 (ng/g) CH_3Hg^+ ; 添加回收率為 $(105 \pm 3) \%$ [57]。

二、以石墨式原子吸收光譜法測定汞曾使用的基質修飾劑

由於汞具有揮發性，為了避免在乾燥和灰化步驟時，產生 Hg^0 揮發而漏失，因此在分析過程中通常需添加基質修飾劑，以提高汞在石墨爐內的熱穩定性。

以 GFAAS 測定汞，曾被使用的基質修飾劑有： $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{HNO}_3$ [58,59]， $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ in HNO_3 [60]， TeO_2 in 2% HCl [61]， $\text{Pd} + \text{Pt}$ [62]， $\text{Pd} + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ [63]， Au [62]， Ag [62]， Pd [64]， $\text{Au} + \text{Rh}$ [64]， $\text{DMPS} + \text{NaOAc}$ (pH=6.0) [19,27-35]。加入 $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ 的目的是要與汞形成穩定的硫化物；加入 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 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 [30,31]，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+} 在原子化之前（或在室溫時）生成 Hg^0 ，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^{3+} ， Cd^{2+} ， Hg^{2+} 或 CH_3Hg^+ 等)形成複合物的試劑 [27-29,65]，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 [19,32]，DMPS 可與汞結合形成穩定的複合物。(DMPS- Hg^{2+} 之 formation constant [30] 約為 10^{42} ，而 DMPS- CH_3Hg^+ 之 formation constant [31] 約為 10^{21}) 本實驗室，王氏 [32] 和黃氏 [33] 曾以 GFAAS 測定飲用水中總汞 [(0.25 - 40 $\mu\text{g/L}$) 未經濃縮步驟 [32]；及 (0.053 - 4.0 $\mu\text{g/L}$) 經 C_{18} cartridges

濃縮步驟^[33]), 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^[32]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^[32]。DMPS 與汞結合的反應機制, 黃氏推論為 Hg^{2+} 與 DMPS 之 molar ratio 為 1 : 2, 而 CH_3Hg^+ 與 DMPS 之 molar ratio 為 1 : 4, 如圖 2-1 所示^[19]。

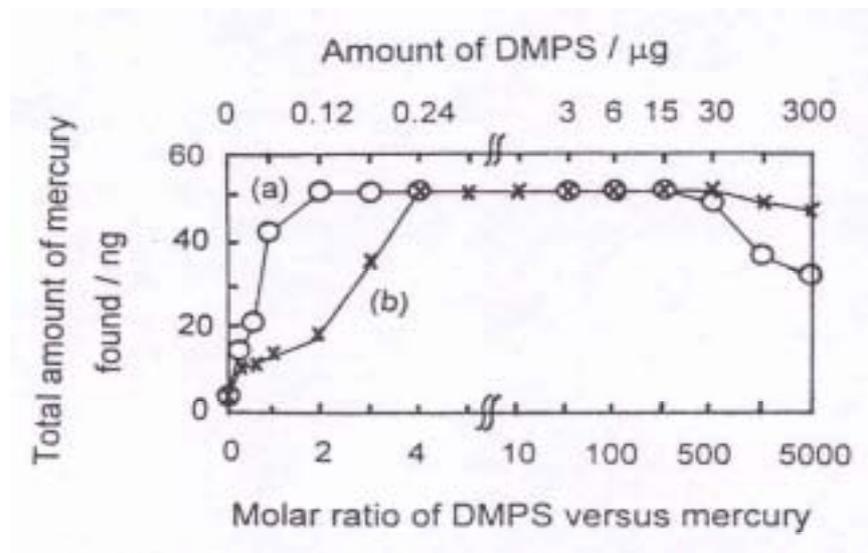


圖 2-1 改變 DMPS 的用量對回收 50 ng 總汞的情形(a) Hg^{2+} -DMPS
(b) CH_3Hg^+ -DMPS

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 , 用於盛裝待消化的微量樣品(< 0.1g)的消化 , 型號 920271。

7. 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 μ L。

(b) eppendorf(Germany)產品

可調範圍由 2.00 至 20.00 μ L。

(c) Mettler-Toledo GmbH(Germany)產品

可調範圍由 20 至 200 μ L 和 100 至 1000 μ L。

(d) Gilson(France)產品

可調範圍由 1.00 至 5.00 mL。

8. 可拋棄式微量滴管(disposable pipet tip) :

由 polypropylene 材質製成。

9. 轉動混合器(vortex mixer) :

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

10. 三向閥 :

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

11. 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。
12. 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。
 13. 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。
 14. 玻璃注射針筒：
50 mL，TOP，日本東京株式會社產品。
 15. 電子分析天平：
Mettler (Switzerland)產品，型號 AJ 100，可精秤至 0.0001 g。
 16. 抽氣幫浦：
Gast 產品，型號 DOA-P104-AA。
 17. 過濾裝置(glass filter holder)：
Millipore (U.S.A.)產品，47 mm diameter，型號 XX15 04700。
 18. 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)。
 19. C_{18} particle：
Waters 公司產品，particle size=55-105 μm ，作為自製 C_{18} cartridge 之用。
 20. 濾膜：
Millipore(U.S.A.)產品，pore size：045 μm ，

型號 HATF 047 00。

21. 錐形瓶：

250 mL，pyrex 材質。

22. 底泥顆粒篩網：

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。

23. 研鉢：磁皿材質。

24. 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軟水系統後，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 公司(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 Co. , 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($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 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. 氫氟酸(HF , Hydrofluoric Acid)

購自 Fisher Co. , GR 級 , 濃度約 48%(w/w)。

15. 底泥中總汞的標準參考樣品 (Certified Reference Material , CRM) , 有下列三種 :

(1) 型號為 GBW 07305 , 購自 Shanghai Institute of Nuclear Research, China , 總汞的濃度為 $0.10 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$ 。

(2) 型號為 GBW 07311 , 購自 Shanghai Institute of Nuclear Research, China , 總汞的濃度為 $0.072 \pm 0.014 \mu\text{g/g}$ 。

(3) 型號為 CRM 016-050 , 購自 Resource Technology Corporation, Laramie, WY, U.S.A. , 總汞的濃度為 $0.11 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$ 。

16. 底泥中總汞及甲基汞的標準參考樣品 (Certified Reference Material) , 型號為 BCR CRM 580 , 購自 Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, Belgium , 底泥中總汞的濃度為 $132 \pm 3 \mu\text{g/g}$; 甲基汞的濃度為 $75.5 \pm 3.7 \text{ ng/g}$ 。

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, 攪拌稍微溶解後, 緩緩加入濃硫酸(Merck, GR 級, 約需用 200 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：

在純水中, 加入 Merck(GR 級)之低汞硝酸, 配製約 1:1 之溶液(約為 8 M HNO_3), 分裝成 3 瓶, 分別標示為清洗空白試液(blank)、低濃度(約 100 ppb 以下)、高濃度(約 ppm 以上)之用。

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和試劑盡量沖洗掉。
- (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, 將殘留的洗劑沖洗掉。
- (4)用酸洗劑(8 M HNO_3)浸泡隔夜(超過 12 小時)。
- (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(Hg^{2+})配製於甲醇中之標準溶液
取 100 μ L 1000 mg/L 之無機汞儲備溶液放入 10.0 mL 量瓶中, 用甲醇稀釋至刻度, 混合後, 即得 10.0 mg-Hg/L 溶液, 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，約每週配製一次。

- (2). 100 $\mu\text{g-Hg/L}$ 之無機汞(Hg^{2+})配製於甲醇中之標準溶液
取 100 μL 10.0 mg/L 之 Hg^{2+} 溶液放入 10.0 mL 量瓶中，以甲醇稀釋至刻度，混合後，即得 100 $\mu\text{g-Hg/L}$ 溶液，每次實驗時配製。
- (3). 1.00×10^4 mg-Hg/L 之甲基汞(CH_3Hg^+)配製於甲醇中之儲備溶液
秤取約 0.1278 g CH_3HgCl (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 之甲基汞配製於甲醇中之標準溶液
由 1.00×10^4 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，每週配製。
- (5). 100 $\mu\text{g-Hg/L}$ 之甲基汞配製於甲醇中之標準溶液
取 100 μL 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，即得 100 $\mu\text{g-Hg/L}$ 之甲基汞溶液，置於 4 冰箱備用，每次實驗時配製。
- (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 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，需保存於 4 ，每月配製。

2. 預濃縮 C₁₈ Cartridge 之製備

取可盛裝 1 mL polypropylene 材質可拋棄式之微量滴管，底端先填充少許玻璃綿(A)，然後秤取 160 mg 之 C₁₈ particle(B)放入後，再填上少許玻璃綿(A)於頂端，如圖 3-1 所示。若將兩個 C₁₈ cartridge conditioning 妥，且串聯之(#1 和#2)，則可作為樣品預濃縮之用。

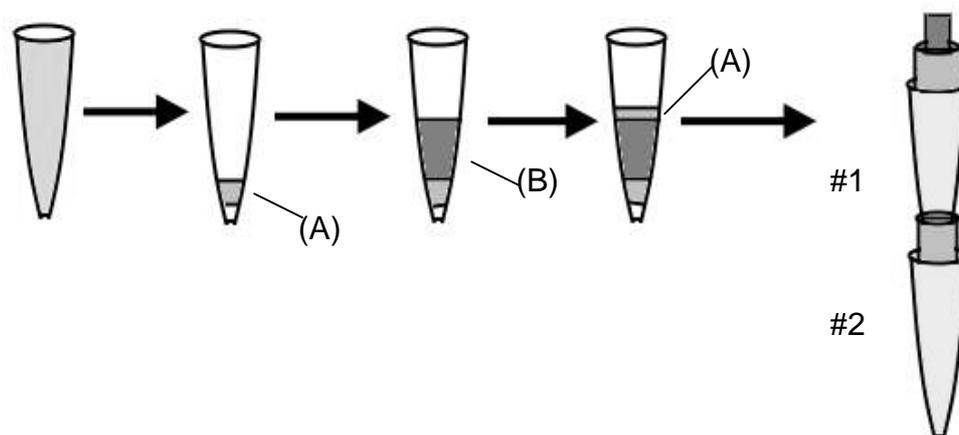


圖 3-1 預濃縮 C₁₈ cartridge 之製備

3. 底泥樣品之前處理、保存及添加已知量的汞於底泥中之配製

本實驗的河川底泥實際樣品有四個，分別採自南投縣的集鹿大橋底、清瑤橋底、雲林縣濁水溪林內 2 號進水口及彰化縣田尾鄉清水溪入口。採樣後的實際樣品放入密閉的塑膠袋中，以 4℃ 冰櫃保存，帶回實驗室，經冷凍乾燥處理移除水分後，再經兩個篩網過篩去除大顆粒物質及草根等雜物後，再使用研鉢研磨成粉末狀，貯存於塑膠瓶中。然後，取出部份（如 2 g）放入棕色玻璃瓶中(20 mL)，再放置於真空乾燥器中【內放置 silica gel 及 Mg(ClO₄)₂】

作為吸水劑】至少 24 小時，以備分析(以 dry-base 表示之)。CRM 的樣品也是同樣的置於真空乾燥器中備用。

在作添加試驗時，先稱取約 50 mg(精稱至 0.1 mg)已經乾燥處理之底泥樣品(CRM 標準參考樣品或實際樣品)，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，打開瓶蓋，置於室溫下靜置隔夜，使甲醇揮發而讓汞停留於底泥上，藉以模擬自然界底泥中的汞。次日，加入酸液消化，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. 底泥中總汞的測定步驟

稱取各約 50 mg(精稱至 0.1 mg)之底泥標準參考樣品(GBW 07305 或實際樣品)分別放入 7-mL 鐵氟龍消化瓶內。每瓶各加入 700 μ L 王水及 50 μ L 氫氟酸，蓋上消化瓶蓋子，在室溫下靜置約 30 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。再使用鎖鐵氟龍瓶的鎖瓶器(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)，以減少待測樣品在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)，使用另一支鎖瓶器將大鐵氟龍瓶鎖緊後，置於微波消化的系統中，依設定的加溫程式進行微波消化。

微波消化完後，取出 7-mL 鐵氟龍消化瓶，待冷卻至室溫後，放入 4 冰箱約 20 分鐘，將可能的汞蒸氣冷凝(condense)為溶液，然後，將消化後之混合物倒入鐵氟龍製之燒杯中(約 200 mL)，用純水沖洗 7-mL 鐵氟龍消化瓶數次，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 NaOH (1.0 N)調整消化液之 pH 值至 6.5 - 7.0，接著使用抽氣過濾裝置(0.45 μm 濾膜) 移除底泥殘渣後，加入 1.0 mL 1.0 M (即 1.0 mmol)之醋酸鈉緩衝液(pH=6.0) 及 500 μL (1.2×10^{-3} M)之 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的 C₁₈ cartridge (cartridge #1 和 cartridge #2，其內分別裝有 160 mg 之 C₁₈ particle, Waters Co.)，使汞-DMPS 之複合物滯留在 C₁₈ cartridge 中，之後，用甲醇將各 cartridge 之汞-DMPS 複合物沖洗出，並分別定量至 0.50 mL。用 vortex mixer 混合均勻後，使用微量注射針筒取出 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 及 cartridge #2 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，可求得底泥標準參考樣品(或實際樣品)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	170	170	40	200
Atomization	1300	1300	3	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

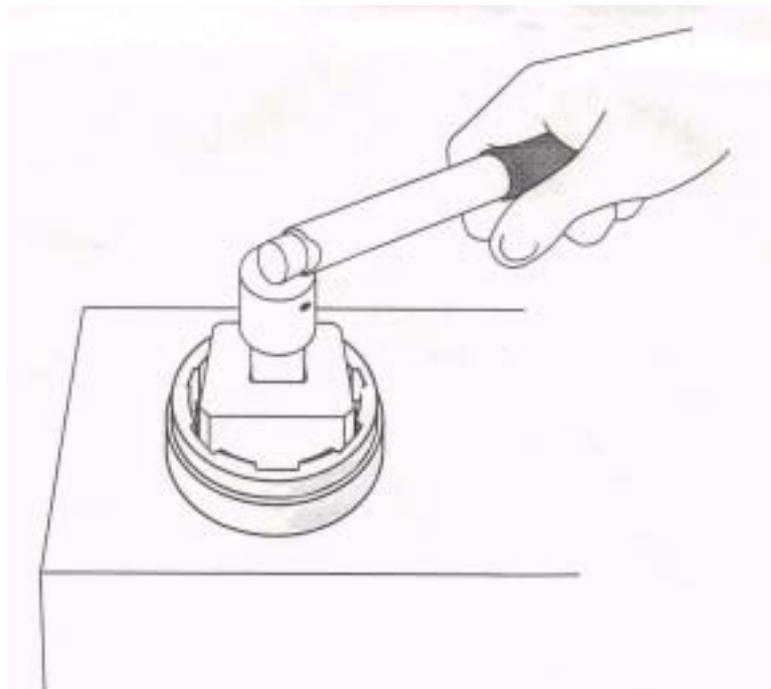


圖 3-2 鐵氟龍消化瓶鎖瓶工具圖

5. 檢量線之配製

(1)直接將汞配製在甲醇中之檢量線

以微量吸管取 10 μL 醋酸鈉緩衝溶液(1.0 M, pH=6.0)及 50 μL DMPS (1.2×10^{-3} M), 放入五個 2 mL 有刻度之試管中, 利用微量注射針筒分別加入適量(如 0-100 μL 100 $\mu\text{g/L}$)配製於甲醇中的汞標準溶液(Hg^{2+} 或 CH_3Hg^+)後, 用甲醇定量至 0.50 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, 扣除空白試液(blank)之吸收峰高度後, 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)使用標準添加法並經微波消化的方式

分別取五份底泥樣品(CRM 標準參考樣品或實際樣品, 各約 50 mg, 精秤至 0.1 mg)放入五個 7-mL 鐵氟龍消化瓶中, 再分別加入適量(如 0-100 μL 100 $\mu\text{g/L}$)配製於甲醇中汞的標準溶液, 靜置隔夜, 讓甲醇揮發, 而使汞停留於底泥上。次日, 加入 700 μL 王水及 50 μL 氫氟酸於消化瓶中, 將消化瓶蓋子旋轉緊, 在室溫下靜置 30 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 9.25 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, 使可能的汞蒸氣 condense 為液體, 然後將消化後之混合物倒入鐵氟龍製燒杯中(約 200 mL), 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 NaOH (1.0 N)調整消化液之 pH 值至 6.5-7.0，接著使用抽氣過濾裝置(0.45 μm 濾膜)移除底泥殘渣後，加入 1.0 mmol 醋酸鈉緩衝液(pH=6.0)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的 C₁₈ cartridge (分別裝有 160 mg C₁₈ particle, Waters Co.)，使汞-DMPS 複合物滯留在 C₁₈ cartridge 上，之後，用甲醇將各 cartridge 之汞-DMPS 複合物洗出，並分別定量至 0.50 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，扣除空白值後，再換算為吸光度，可求得標準添加法之檢量線。

6. 底泥中汞經 C₁₈ cartridge 之固相濃縮步驟^[20-22]

從環境取得的樣品，有許多使用萃取的濃縮方式，而濃縮萃取通常應用於待測物含量較少或基質較複雜的樣品。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^[23]。

-- Condition

Condition 是為了要塑造一個適合待測物吸附的環境並且要將固相材質上的不純物移走。為了達此目的，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 C₁₈ cartridge 之填充量是 160 mg，先使用 3 mL 甲醇流經每個 Sep-Pak C₁₈ cartridge，再用 10 mL 純水清洗，將殘留的甲醇移走。因若有甲醇殘留於 C₁₈ cartridge 時，當汞-DMPS 複合物之水樣通過時，甲醇將會帶走一部份汞-DMPS 之複合物，造成待測物的流失，所以在 conditioning 過程中，當甲醇流經 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，再用大量的純水清洗並使純水充滿 C₁₈ cartridge。

-- Load

Load 的目的是將水樣流經 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流經兩個自製已 condition 且串連之 C₁₈ cartridge(依序為 cartridge #1 和 cartridge #2，如圖 3-3 所示，每個 cartridge 內填裝約 160 mg C₁₈ particle, Waters Co.，使用兩個 C₁₈ cartridge 串聯^[33]，是為防止只用一個 C₁₈ cartridge 無法將全部的汞-DMPS 之複合物滯留。)等水溶液全部流經 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。

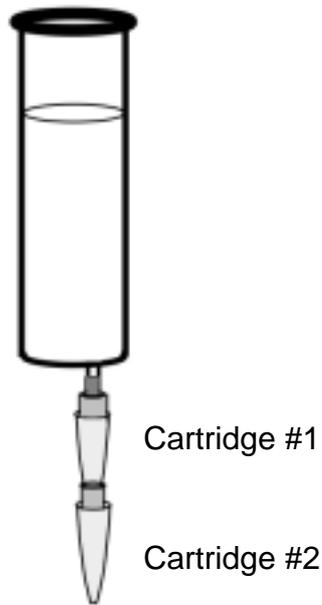


圖 3-3 汞-DMPS 之水溶液流經兩個串聯 C₁₈ cartridge 之圖形

-- Rinse

Rinse 通常是以純水作為溶劑，將一些不必要且滯留在固相材質上的基質移走，但保留待測物於 cartridge 上。本實驗所使用的 DMPS 複合劑屬於水溶性，且 Hg-DMPS 之複合物會被水移走而漏失，故省略此 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 cartridge 的樣品基質沖洗出；若強度不夠時，則無法將待測物完全沖洗出。最理想的 eluting solvent 是能將待測物從固相材質中沖洗出，但將樣品的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 的固相材質之甲醇用量約為 0.5 - 0.8 mL^[21]。因此本研究使用甲醇將 Hg-DMPS 之複合物從自製 C₁₈ cartridge 中沖洗出，並定量至 0.50 mL。

7. 石墨式原子吸光儀之設定條件及底泥樣品之定量分析

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

(2) 底泥樣品之定量分析，原則上是由底泥樣品(CRM 標準參考樣品或實際樣品)所得之淨吸光度帶入”直接將汞配製在甲醇中之檢量線”求得底泥中汞的含量(或濃度)。當使用標準添加法時，可由所

得波峰高度之淨吸光度(net peak height absorbance)作為 Y 軸，汞添加於 50 mg 底泥中的添加量為 X 軸，依標準添加法作一檢量線外插至 x 軸上，可求得底泥中汞的含量(或濃度)。由 CRM 所求得之值，可作為測試本方法準確度 (accuracy)。

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)之底泥標準參考品(GBW 07305)求得實驗各項參數(parameters)之條件，待各項參數條件確定後，以添加試驗作為回收率的測試。添加回收率的計算方式是以添加後的總吸收峰高度(peak height)扣除底泥本身之吸收峰高度，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 0.50 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

本研究在底泥中加入強酸作為消化液，藉著微波消化的方式，將汞從底泥中萃取出來，並溶於強酸中。

1. 酸液種類之選擇

由於本實驗室楊氏⁽³⁰⁾曾選用王水(aqua regia)+氫氟酸(HF)萃取土壤中的總汞，因此本研究先試用兩種酸液萃取底泥中的總汞。各稱取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305 (精秤至 0.1 mg)，放入兩個 7-mL Teflon 消化瓶中，分別加入 750 μ L 王水和 750 μ L 王水+75 μ L 氫氟酸作為消化液，使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式，在 10 分鐘內，由室溫升至 80 $^{\circ}$ C，然後，在 80 $^{\circ}$ C 維持加熱 10 分鐘，提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後，以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣，在濾液中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，所得之吸光度(0.011)，大於王水本身(0.008)，如圖 4-1 所示，因此本實驗使用王水加氫氟酸作為消化液。

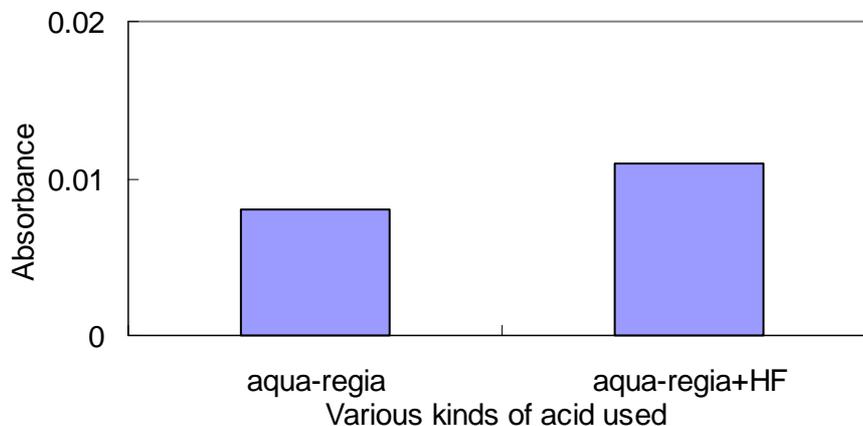


圖 4-1 微波消化酸液的種類對測定底泥中汞吸光度之影響

2. 酸液用量之選擇

(a) 王水用量之選擇

各秤取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305(精秤至 0.1 mg)，放入五個 7-mL Teflon 消化瓶中，分別加入不同體積(500 - 900 μ L)之王水與固定體積(50 μ L)之氫氟酸作為消化液。使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式，在 10 分鐘內，由室溫升至 80 $^{\circ}$ C，然後，在 80 $^{\circ}$ C 維持加熱 10 分鐘，提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後，以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣，在濾液中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。

由實驗結果得知，當使用 700 μ L 王水配合氫氟酸(50 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。當王水用量少於 700 μ L 時，可能是王水用量不足以將底泥基質消化完全，導致吸光度偏低。當王水的用量超過 700 μ L 時，可能是過多的酸液在微波加熱分解為氣體時，造成消化瓶內壓力太大，以致有漏酸的現象[當使用 pH 試紙測試大鐵氟龍(120 mL)瓶內液體之 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 700 μ L。

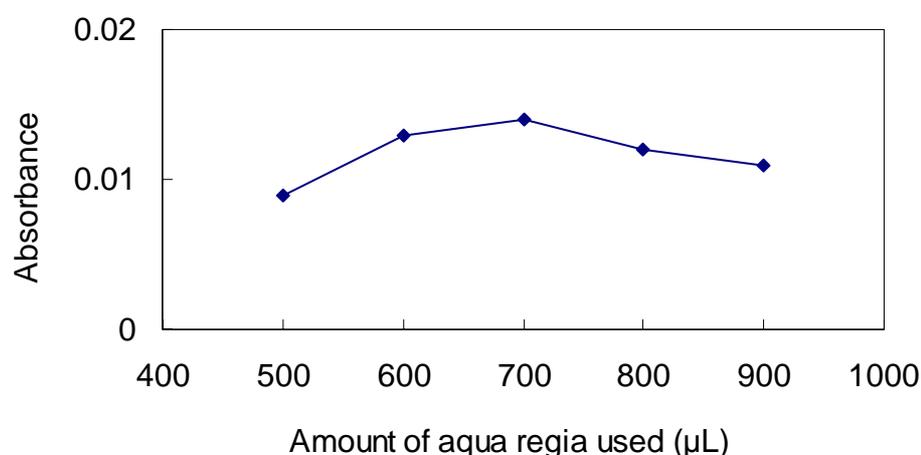


圖 4-2 王水用量對測定底泥中汞吸光度之影響(HF 固定為 75 μ L)

(b) 氫氟酸用量之選擇

各稱取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305(精秤至 0.1 mg)，放入五個 7-mL Teflon 消化瓶中，分別加入不同體積(10 - 90 μL)之氫氟酸與固定體積之王水(700 μL)作為消化液，使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式，在 10 分鐘內，由室溫升至 80 $^{\circ}\text{C}$ ，然後，在 80 $^{\circ}\text{C}$ 維持加熱 10 分鐘，提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後，以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣，在濾液中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 50 μL 氫氟酸及王水(700 μL)作為消化液時，可得到相對較高的吸光度，如圖 4-3 所示。因底泥中含有二氧化矽，因此若只用王水消化時，無法將底泥中的汞萃取完全，造成測定總汞時吸光度偏低的現象。所以必須加入氫氟酸將底泥中之 SiO_2 基質分解後，才能將汞萃取完全。

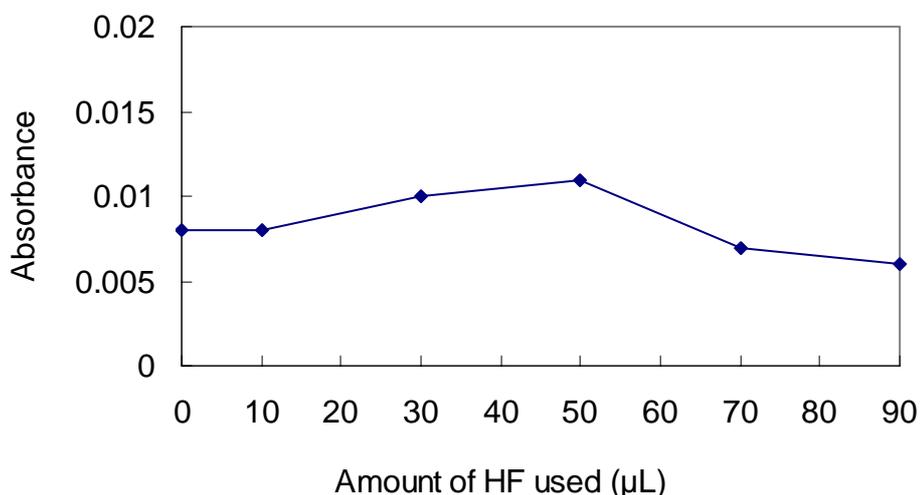


圖 4-3 氫氟酸用量對測定底泥中汞吸光度之影響
(王水固定為 700 μL)

3.微波消化時間及溫度之選擇

(a)微波消化溫度之選擇

各稱取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305(精秤至 0.1 mg),放入四個 7-mL Teflon 消化瓶中,各加入 700 μ L 王水及 50 μ L 氫氟酸作為消化液,提供每個消化瓶約 60 W 的能量,進行微波消化。以梯次加溫方式,在 10 分鐘內,分別達到 75、80、85 或 90 後,在該溫度下維持加熱 10 分鐘。消化完畢待冷卻後,以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣,在濾液中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 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。當微波消化溫度低於 80 時,可能是因為消化溫度不夠高,以致底泥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,可能是因為消化溫度太高,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)瓶中液體之 pH 時,呈現酸性反應,表示氣體有外漏的現象,導致汞漏失,造成吸光度偏低,因此本實驗的消化溫度選用 80。

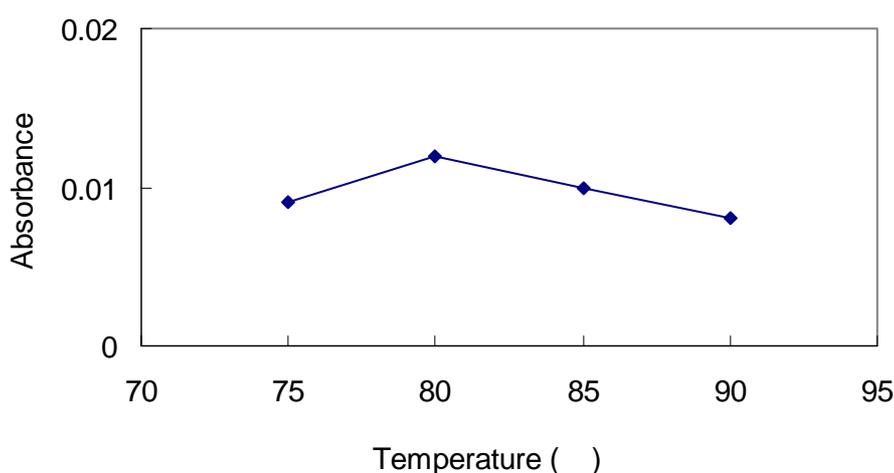


圖 4-4 微波消化溫度對測定底泥中汞吸光度之影響
(加熱消化持續時間設為 10 分鐘)

(b)微波消化時間之選擇

各稱取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305 (精秤至 0.1 mg), 放入四個 7-mL Teflon 消化瓶中, 各加入 700 μ L 王水及 50 μ L 氫氟酸作為消化液, 利用微波消化系統提供每個消化瓶約 60 W 的能量, 升溫至 80 後, 分別在 80 維持 5 分鐘、10 分鐘、15 分鐘或 20 分鐘。消化完畢待冷卻後, 以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣, 在濾液中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, 當微波消化在 80 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, 可能是因為時間太短未能將底泥的基質消化完全; 而多於 10 分鐘時, 則可能是因為溫度持續太久使得底泥中之基質被分解後所產生的氣體太多, 造成瓶內之壓力太大而有漏酸之現象, 導致吸光度偏低, 因此本實驗的消化時間選用 10 分鐘。

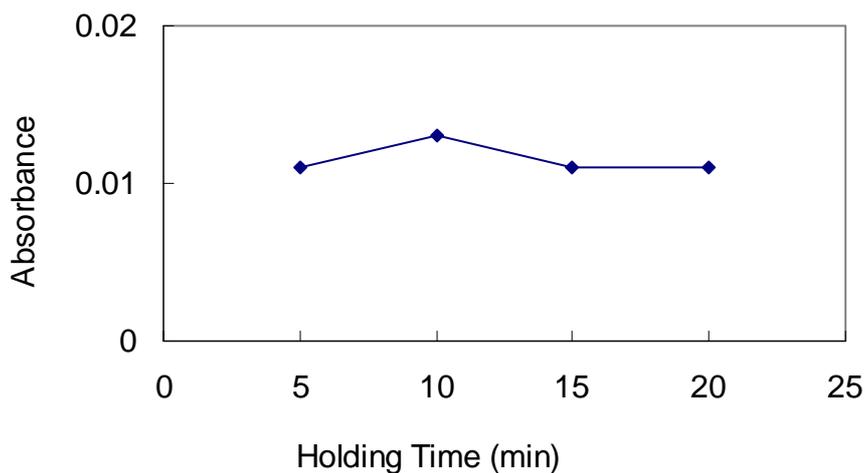


圖 4-5 微波消化時間對測定底泥中汞吸光度之影響
(消化溫度設在 80)

4.調整微波消化後混合物 pH 值之探討

各秤取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305(精秤至 0.1 mg)，放入四個 7-mL Teflon 消化瓶中，各加入 700 μ L 王水及 50 μ L 氫氟酸作為消化液，使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式，在 10 分鐘內，由室溫升至 80 ，然後，在 80 維持加熱 10 分鐘，提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後，以 NaOH 調整其 pH 值至 5.0、6.0、7.0 或 8.0，並過濾移除底泥殘渣，在濾液中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，當消化混合液之 pH 值靠近 7.0 時，可得到相對較高的吸光度，如圖 4-6 所示。此原因和楊氏⁽³⁰⁾在測定土壤中的總汞相似，即底泥中可能含有鐵的成分，當 pH 值大於 3.0 後，即有 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ () 沉澱物生成。比較 pH 值在 5.0、6.0 和 7.0，若 pH 值靠近 7.0 時，可將消化混合液中的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 盡量沉澱下來，且在過濾步驟時被移除，使汞與 DMPS 結合的效果較好。當 pH 值靠近 8.0 時，可能有部分的 Hg^{2+} 生成氫氧化汞的沉澱，致使吸光度偏低。

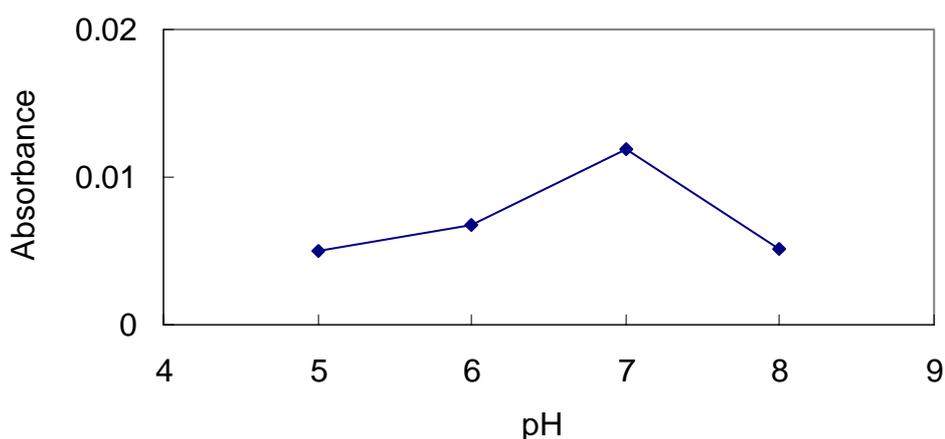


圖 4-6 消化後調整混合液之 pH 值對測定底泥中汞吸光度之影響

二、分析條件之建立

1. 醋酸鈉緩衝溶液 pH 值之選擇

各稱取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305，分別放入五個 7-mL Teflon 消化瓶中，各加入 700 μL 王水及 50 μL 氫氟酸作為消化液，使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式，在 10 分鐘內，由室溫升至 80 $^{\circ}\text{C}$ ，然後，在 80 $^{\circ}\text{C}$ 維持加熱 10 分鐘，提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後，以 NaOH 調整其 pH 值，並過濾移除底泥殘渣，在濾液中分別加入五種不同 pH 值 (pH=5.0 - 7.0) 1.0 M 之醋酸鈉緩衝溶液 (1 mmol) 與 DMPS，使用固相濃縮萃取等步驟後測定總汞的含量。

由結果得知，當醋酸鈉緩衝溶液之 pH 值靠近 6.0 時，所得到的吸光度較大，如圖 4-7 所示，可能是 DMPS 與汞結合成較穩定的複合物，因此本實驗選用 pH 值 6.0 之醋酸鈉緩衝溶液。

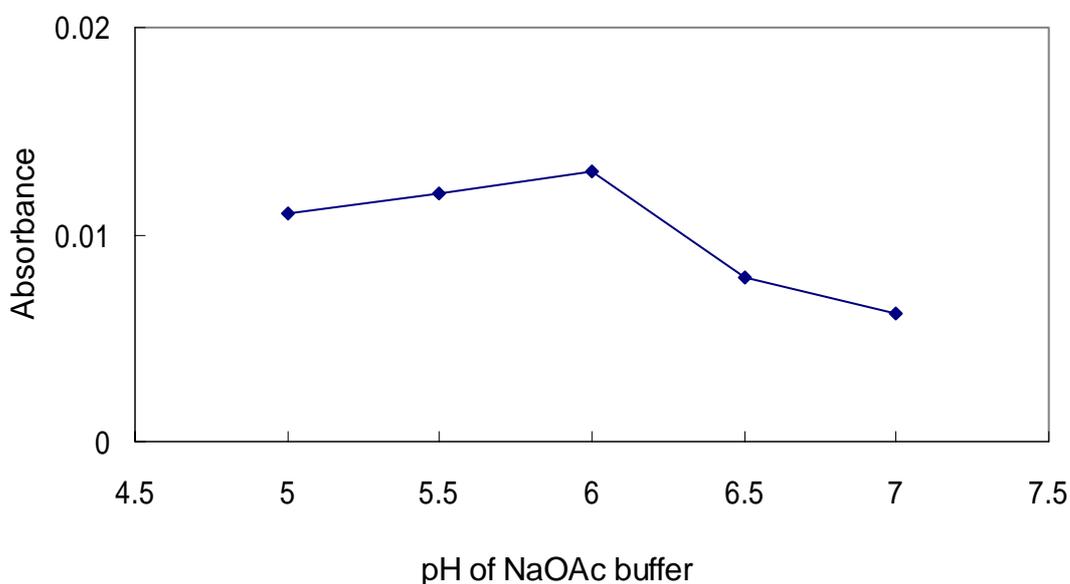


圖 4-7 醋酸鈉緩衝溶液之 pH 值對測定底泥中汞吸光度之影響

2. 醋酸鈉緩衝溶液 (pH 6.0) 用量之選擇

各稱取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305(精秤至 0.1 mg), 放入四個 7-mL Teflon 消化瓶中, 各加入 700 μ L 王水及 50 μ L 氫氟酸作為消化液, 使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式, 在 10 分鐘內, 由室溫升至 80 , 然後, 在 80 維持加熱 10 分鐘, 提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後, 以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣, 在濾液中分別加入 pH 6.0 不同量的醋酸鈉緩衝溶液(0.5、1.0、2.0 或 3.0 mmol)與固定量(500 μ L) 之 DMPS, 使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。

由結果得知, 當醋酸鈉緩衝液 (pH 6.0) 的用量為 1.0 mmol 時, 所得的吸光度較高, 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, 未能使底泥中萃取出的汞和 DMPS 完全形成穩定的複合物, 因此所得之吸光度較低。超過 1.0 mmol 時, 可能是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。

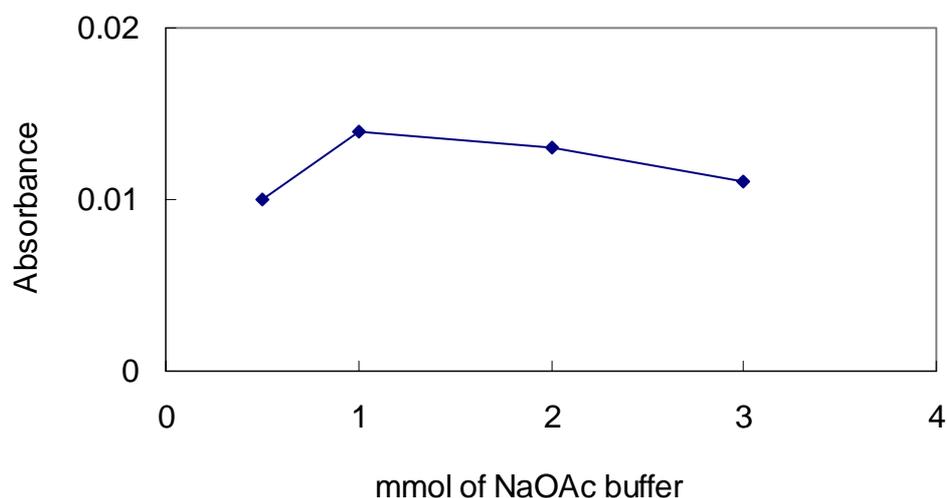


圖 4-8 醋酸鈉緩衝液之用量對測定底泥中汞吸光度之影響

3. DMPS 複合劑用量之選擇

各秤取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305(精秤至 0.1 mg)，放入六個 7-mL Teflon 消化瓶中，各加入 700 μL 王水及 50 μL 氫氟酸作為消化液，使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式，在 10 分鐘內，由室溫升至 80 $^{\circ}\text{C}$ ，然後，在 80 $^{\circ}\text{C}$ 維持加熱 10 分鐘，提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後，以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣，在濾液中加入醋酸鈉緩衝溶液(1.0 mmol)和不同量(100、200、300、400、500 或 600 μL) 的 DMPS (1.2×10^{-3} M)，使用固相濃縮萃取等步驟後測汞。

由結果得知，當 DMPS 的用量為 500 μL 時，所得的吸光度較高，如圖 4-9 所示。當 DMPS 用量少於 500 μL 時，可能所用的量無法足以將消化萃取液中的汞全部錯合，導致吸光度偏低；當用量超過 500 μL 時，可能是 DMPS 的鈉鹽太多，在 ashing 時無法將鹽類全部灰化，導致吸光度偏低，因此本實驗選用 500 μL DMPS。

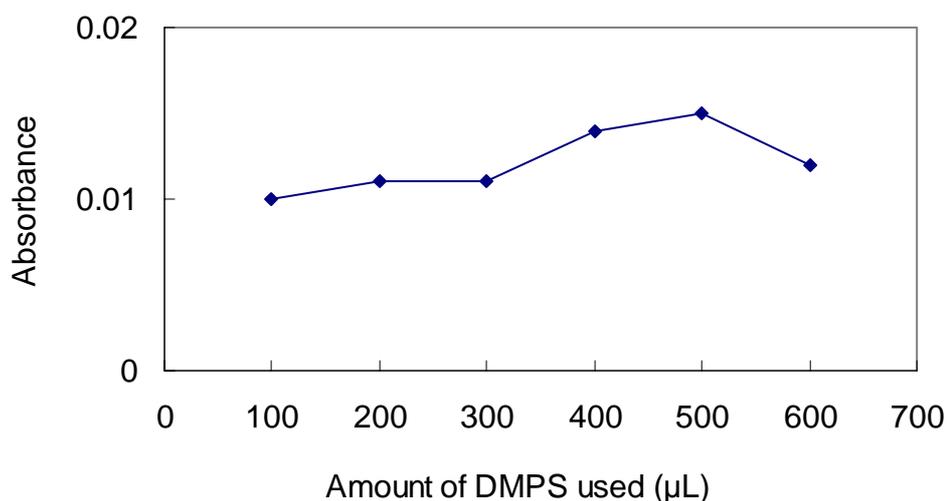


圖 4-9 DMPS 複合劑用量對測定底泥中汞吸光度之影響
(DMPS 之濃度為 1.2×10^{-3} M)

4.使用 C₁₈ cartridge 作為固相濃縮萃取時填充量之選擇

秤取約 50 mg 底泥標準參考樣品 GBW 07305(精秤至 0.1 mg) , 放入五個 7-mL Teflon 消化瓶中, 各加入 700 μ L 王水及 50 μ L 氫氟酸作為消化液, 使用微波消化系統加熱。以梯式加溫方式, 在 10 分鐘內, 由室溫升至 80 , 然後, 在 80 維持加熱 10 分鐘, 提供每個消化瓶 60 W 的微波能量。消化完畢待冷卻後, 以 NaOH 調整其 pH 值並過濾移除底泥殘渣, 在濾液中加入醋酸鈉緩衝溶液與 DMPS , 使其形成 Hg-DMPS 的複合物後, 分別流經 2 個串聯之 C₁₈ cartridge , 其內各填充不同量 (140、150、160、170 或 180 mg) 之 C₁₈ particle , 每個 cartridge 以甲醇沖洗並定量至 0.50 mL , 取出 50 μ L 注入石墨式原子吸光儀測汞。

由結果得知, 當 C₁₈ cartridge 的填充量為 160 mg 時, 所得的吸光度較高, 如圖 4-10 所示。當 C₁₈ cartridge 的填充量少於 160 mg 時, 可能是所用的量太少無法足以將全部的複合物(Hg-DMPS)滯留在 cartridge 上, 導致吸光度偏低; 當填充量超過 160 mg 時, 可能是 0.5 mL 的甲醇無法將滯留在 C₁₈ cartridge 上的複合物全部沖提出來, 導致吸光度偏低, 因此本實驗 C₁₈ cartridge 之填充量選用 160 mg 。

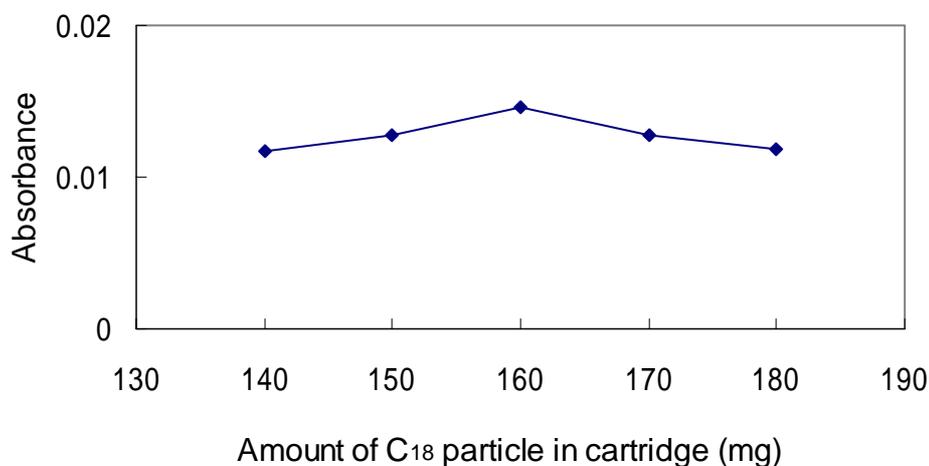


圖 4-10 C₁₈ cartridge 之填充量對測定底泥中汞吸光度之影響

三、石墨式原子吸光儀加溫程式之探討

使用石墨式原子吸光儀測定汞時，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—將樣品基質中的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，但不致使待測物漏失；原子化—以高溫將待測物的 compound 分解為原子蒸氣，此時將氬氣暫停流動，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。

本實驗稱取約 50 mg 之底泥標準參考樣品，加入王水和氫氟酸並進行微波消化、調整 pH 值、過濾移除底泥殘渣後，加入醋酸鈉緩衝溶液(1.0 mmol, pH=6.0)與 DMPS(500 μ L, 1.2×10^{-3} M), 反應約一小時，再經固相 (cartridge #1 和 cartridge #2) 濃縮萃取，各用甲醇沖洗出 Hg-DMPS 之複合物，並定量至 0.50 mL。由於 cartridge #2 所測得汞的含量較小(約為總汞之 0-5%), 因此只用 cartridge #1 所沖洗出之汞含量，作為加溫程式之探討。

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為 1300 3 sec，灰化時間暫定為 40 sec，依序改變灰化溫度由 150 到 200。由圖 4-11 得知，灰化溫度由 160 到 170 所得的吸光度大致相同；當灰化溫度在 180 至 200 時，所得的吸光度逐漸減小，表示待測物已漸漏失，因此本實驗灰化溫度選用 170。

接著再依序改變灰化時間，由 10 到 70 sec，由圖 4-12 得知，當灰化時間在 20 sec 至 40 sec 時，所得的吸光度大致相同，為了使底泥基質能盡量被移除，減少在原子化時之干擾，故本實驗灰化時間選用 40 sec。

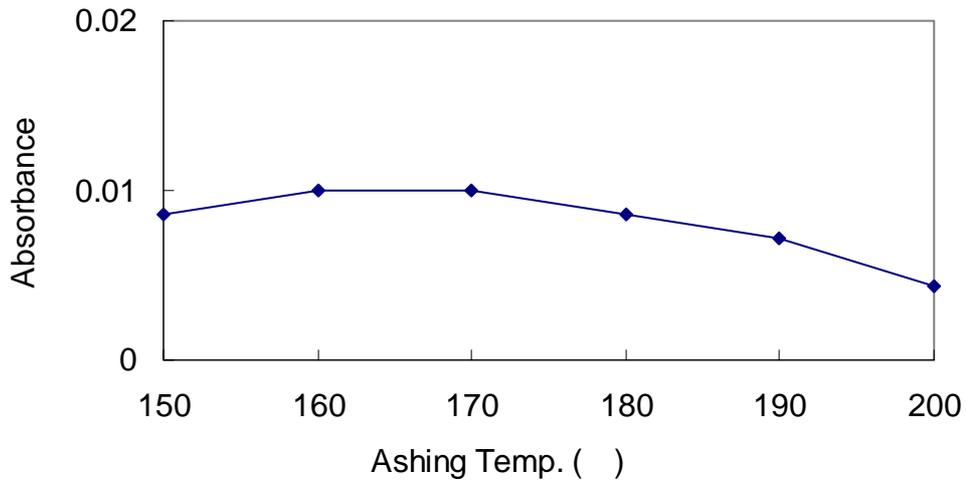


圖 4-11 灰化溫度對測定底泥中汞吸光度之影響
 (乾燥步驟設為 60-120 30 秒，灰化時間定為 40 秒，原子化步驟設為 1300 3 秒)

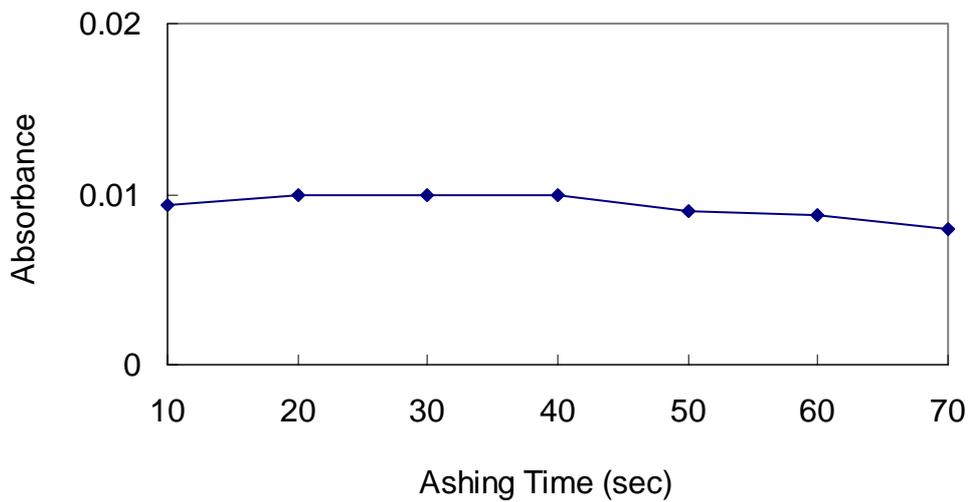


圖 4-12 灰化時間對測定底泥中汞吸光度之影響
 (乾燥步驟定為 60-120 30 秒，灰化溫度定為 170 ，原子化步驟定為 1300 3 秒)

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 170 40 sec，原子化時間暫定在 3 sec，依序改變原子化溫度由 1100 到 1600。由圖 4-13 得知，當原子化溫度在 1300 時，所得的吸光度較大，因此原子化溫度選用 1300。

接著，將原子化溫度固定於 1300，依序改變原子化時間，由 1 sec 到 5 sec，得知原子化時間在 2 - 5 sec 時，有較好之結果，如圖 4-14 所示，本實驗選用 3 sec。由實驗所得的合適加溫程式，如表 3-1 所列。

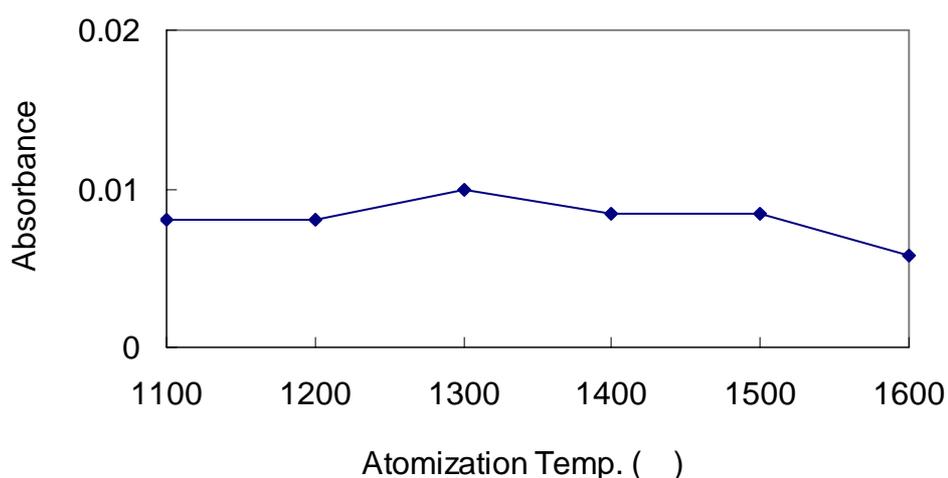


圖 4-13 原子化溫度對測定底泥中汞吸光度之影響

(乾燥步驟定為 60-120 30 秒，灰化步驟定為 170 40 秒，原子化時間定為 3 秒)

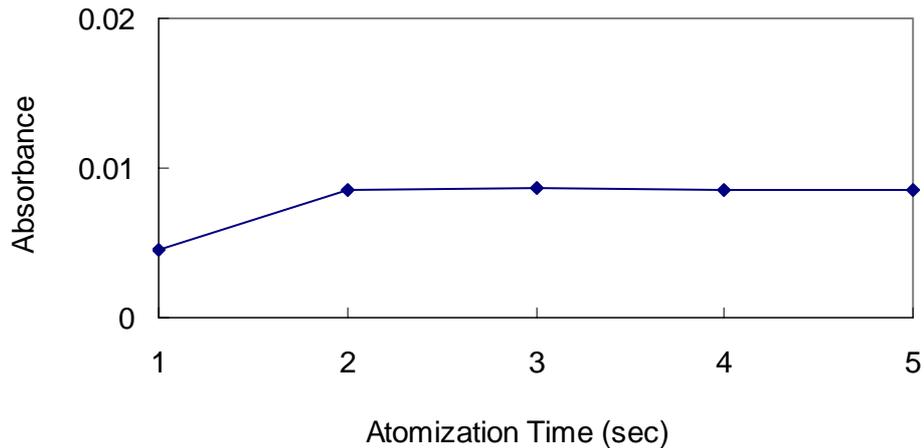


圖 4-14 原子化時間對測定底泥中汞吸光度之影響

(乾燥步驟定為 60-120 30 秒，灰化步驟定為 170 40 秒，原子化溫度定為 1300)

四、分析結果之探討

1. 總汞之檢量線建立

為得知底泥樣品經微波消化及移除底泥殘渣後，底泥中的基質對總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：

第一種方式是將汞 [0-15.0 ng CH₃Hg⁺或 Hg²⁺]直接配製在 0.50 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 $y=2.71 \times 10^{-3}x+1.10 \times 10^{-3}$ ，線性相關係數為 0.9999，如圖 4-15(a) 所示；將無機汞直接配製於甲醇中之代表檢量線為 $y=2.72 \times 10^{-3}x+1.30 \times 10^{-3}$ ，線性相關係數為 0.9996，如圖 4-16(a) 所示。由第一種方式比較將 CH₃Hg⁺(三條)和 Hg²⁺(三條)直接配製在甲醇中所得檢量線之斜率，其相對誤差 1.5%，表示這六條檢量線之斜率相靠近。

第二種方式是使用標準添加法，將配製在甲醇中已知含量之甲基汞(0-10.0 ng CH₃Hg⁺)或無機汞(0-10.0 ng Hg²⁺)添加於兩種

底泥標準參考樣品(50 mg of GBW 07305, 約含有 5.0 ng 汞; 50 mg of CRM 016-050, 約含有 5.5 ng 汞)中, 靜置隔夜, 讓甲醇蒸發而讓汞停留於底泥上, 依本實驗操作步驟測定總汞的含量, 所得之檢量線分別列於表 4-2 及 4-3。其中 GBW 07305 之樣品, 加入甲基汞所得標準添加法(三條)之代表檢量線為 $y=2.72 \times 10^{-3}x+1.36 \times 10^{-2}$, 線性相關係數為 0.9995, 如圖 4-15(b) 所示; 加入無機汞所得標準添加法(三條)之代表檢量線為 $y=2.71 \times 10^{-3}x+1.32 \times 10^{-2}$, 線性相關係數為 0.9996, 如圖 4-16(b) 所示。在另一樣品 CRM 016-050 中, 加入甲基汞之標準添加法(三條)所得代表之檢量線為 $y=2.73 \times 10^{-3}x+1.50 \times 10^{-2}$, 線性相關係數為 0.9996, 如圖 4-17(b)所示; 加入無機汞所得標準添加法(三條)之代表檢量線為 $y=2.71 \times 10^{-3}x+1.47 \times 10^{-2}$, 線性相關係數為 0.9997, 如圖 4-18(b)所示。

比較由標準添加法所得檢量線與直接將汞配製於甲醇中檢量線之斜率, 其相對誤差 2.0%, 這表示底泥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, 且兩種不同的底泥標準參考樣品經本實驗操作步驟後, 所得之斜率也相靠近, 其相對誤差 2.3%, 表示不同底泥的基質應不會對本實驗方法造成大的干擾。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

Trial#	Calibration graph	Linear Range(ng)	Correlation coefficient
1(a)	$y=2.71 \times 10^{-3}x+1.10 \times 10^{-3}$	0.34-15.5	0.9999
2(a)	$y=2.73 \times 10^{-3}x+1.32 \times 10^{-3}$	0.34-15.5	0.9996
3(a)	$y=2.70 \times 10^{-3}x+9.20 \times 10^{-4}$	0.34-15.5	0.9998
1(b)	$y=2.72 \times 10^{-3}x+1.30 \times 10^{-3}$	0.34-15.5	0.9996
2(b)	$y=2.71 \times 10^{-3}x+1.00 \times 10^{-3}$	0.34-15.5	0.9995
3(b)	$y=2.74 \times 10^{-3}x+5.00 \times 10^{-3}$	0.34-15.5	0.9998

表 4-2 使用標準添加法添加[(c)0-10 ng 之甲基汞(d)0-10 ng 之無機汞]於底泥標準參考樣品(GBW 07305)之檢量線及由外插法求得底泥中總汞的含量

Trial#	Calibration graph	Correlation Coefficient	Amount of Total Hg Found in the Sediment* (ng)
1(c)	$y=2.72 \times 10^{-3}x+1.36 \times 10^{-2}$	0.9995	5.00
2(c)	$y=2.70 \times 10^{-3}x+1.37 \times 10^{-2}$	0.9995	5.07
3(c)	$y=2.69 \times 10^{-3}x+1.38 \times 10^{-2}$	0.9995	5.13
1(d)	$y=2.68 \times 10^{-3}x+1.31 \times 10^{-2}$	0.9996	4.89
2(d)	$y=2.72 \times 10^{-3}x+1.36 \times 10^{-2}$	0.9995	5.00
3(d)	$y=2.71 \times 10^{-3}x+1.32 \times 10^{-2}$	0.9996	4.87

* 由標準添加法之檢量線外插至 x 軸上，求得底泥標準參考樣品中總汞之含量。

表 4-3 使用標準添加法添加[(e)0-10 ng 之甲基汞(f)0-10 ng 之無機汞]於底泥標準參考樣品(CRM 016-050)之檢量線及由外插法求得底泥中總汞的含量

Trial#	Calibration graph	Correlation Coefficient	Amount of Total Hg Found in the Sediment* (ng)
1(e)	$y=2.73 \times 10^{-3}x+1.50 \times 10^{-2}$	0.9996	5.49
2(e)	$y=2.74 \times 10^{-3}x+1.57 \times 10^{-2}$	0.9997	5.73
3(e)	$y=2.68 \times 10^{-3}x+1.56 \times 10^{-2}$	0.9995	5.82
1(f)	$y=2.71 \times 10^{-3}x+1.47 \times 10^{-2}$	0.9997	5.42
2(f)	$y=2.71 \times 10^{-3}x+1.40 \times 10^{-2}$	0.9995	5.17
3(f)	$y=2.69 \times 10^{-3}x+1.55 \times 10^{-2}$	0.9999	5.58

* 由標準添加法之檢量線外插至 x 軸上，求得底泥標準參考樣品中總汞之含量。

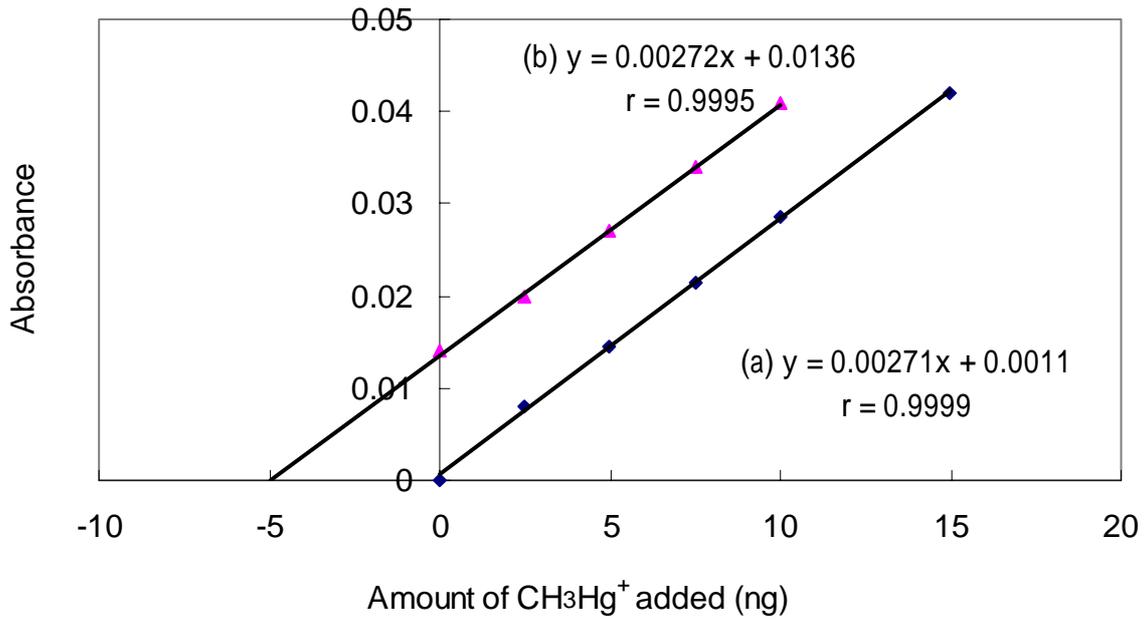


圖 4-15 (a)直接將 CH_3Hg^+ 配製於甲醇中之檢量線與(b) 使用標準添加法將 CH_3Hg^+ 加入底泥標準參考樣品(GBW 07305)中，經實驗步驟所得檢量線之比較

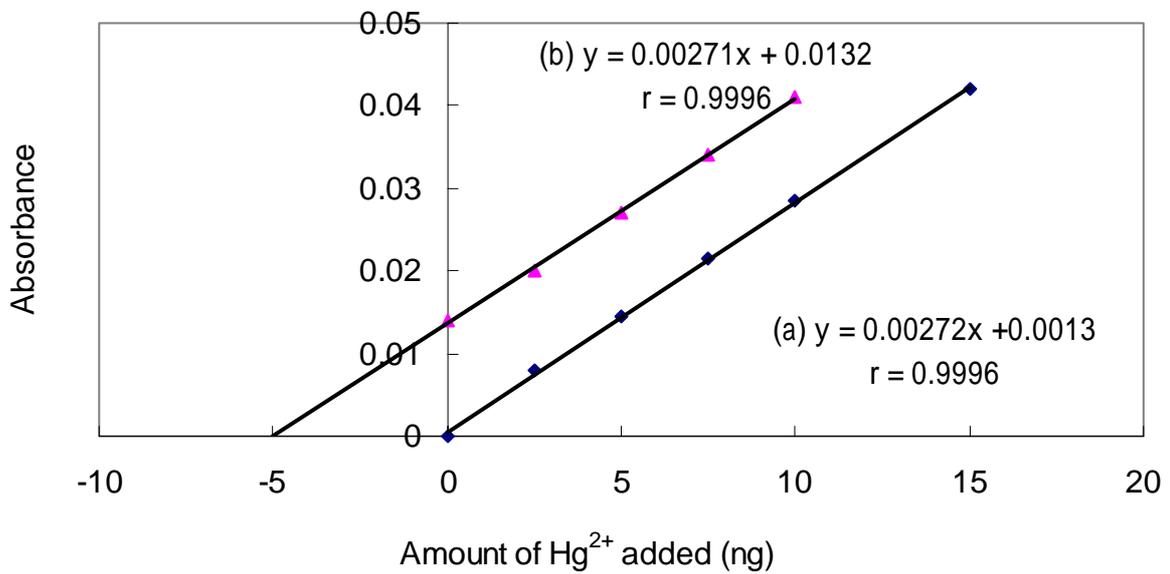


圖 4-16 (a)直接將 Hg^{2+} 配製於甲醇中之檢量線與(b)使用標準添加法將 Hg^{2+} 加入底泥標準參考樣品(GBW 07305)中，經實驗步驟所得檢量線之比較

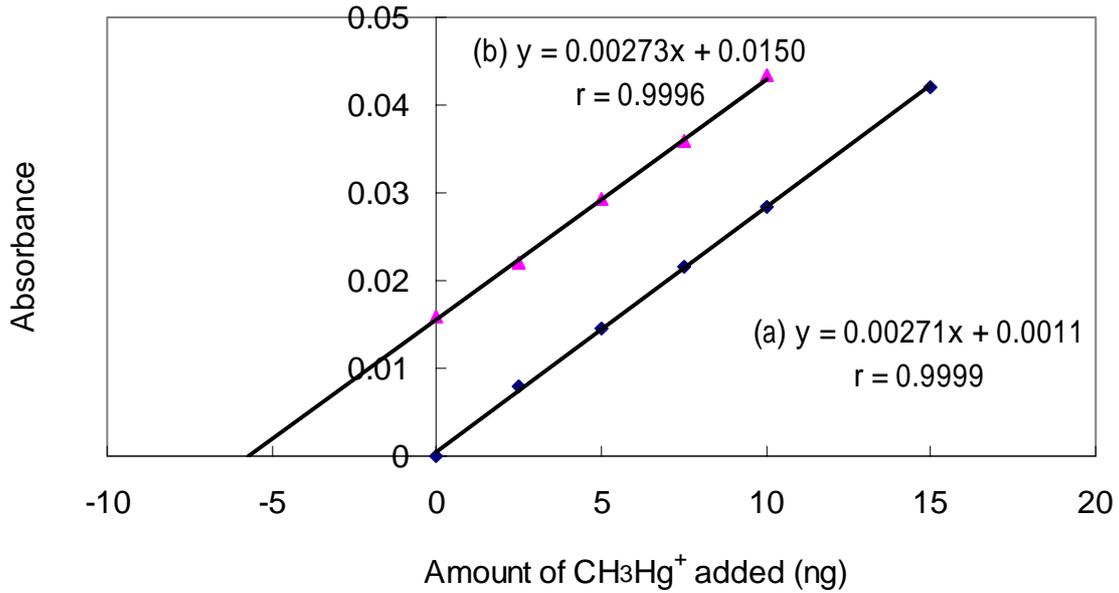


圖 4-17 (a)直接將 CH_3Hg^+ 配製於甲醇中之檢量線與(b) 使用標準添加法將 CH_3Hg^+ 加入底泥標準參考樣品(CRM 016-050)中，經實驗步驟所得檢量線之比較

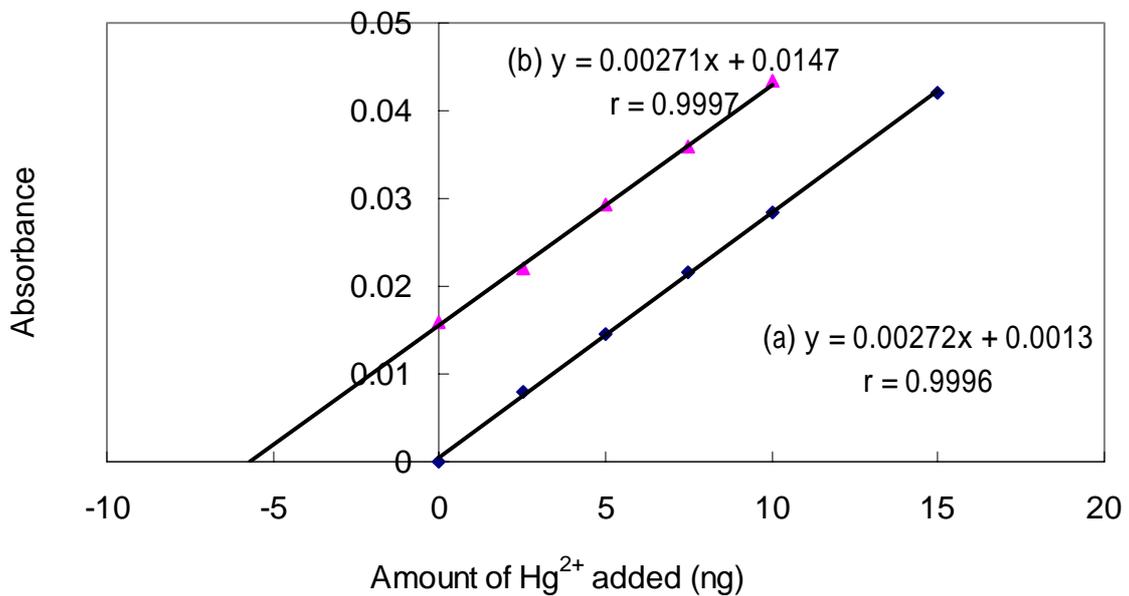


圖 4-18 (a)直接將 Hg^{2+} 配製於甲醇中之檢量線與(b)使用標準添加法將 Hg^{2+} 加入底泥標準參考樣品(CRM 016-050)中，經實驗步驟所得檢量線之比較

2. 準確度之測試

本實驗使用四種底泥標準參考樣品 (即 GBW 07305、CRM 016-050、GBW07311 及 BCR-CRM 580)，作為本方法準確度之測試。

(a)於不同天，共取 6 份 GBW 07305 底泥標準參考樣品，每份 50 mg(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(如附錄二)，由 6 次平均所得 GBW 07305 底泥標準參考樣品之值為 4.80 ± 0.12 ng，相當於濃度為 96.0 ± 2.4 (ng/g)，如表 4-4 所列。由結果得知，所測得的值都能落在 certified value [(100 \pm 20) ng/g] 之範圍內，表示本方法之準確度良好。此 6 次測值之相對標準偏差(RSD, n=6) 為 2.5%，表是本方法之精密度在可接受之範圍。由標準添加法(表 4-2)求得底泥中總汞的平均含量(n=6)為 4.99 ± 0.1 ng，相當於濃度為 99.8 ± 2.0 (ng/g)，也可落在 certified value [(100 \pm 20)ng/g] 之範圍內。

(b)於不同天，共取 6 份 CRM 016-050 底泥標準參考樣品，每份 50 mg(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(如附錄二)，由 6 次平均所得 CRM 016-050 底泥標準樣品之值為 5.36 ± 0.14 ng，相當於濃度為 107.2 ± 2.8 (ng/g)，如表 4-4 所列。由結果得知，所測得的值都能落在 certified value [(110 \pm 40) ng/g] 之範圍內，表示本方法之準確度良好。此 6 次測值之相對標準偏差(RSD, n=6) 約為 2.6%，表是本方法之精密度在可接受之範圍。此外，由標準添加法(表 4-3)求得底泥中總汞的平均含量(n=6)為 5.54 ± 0.23 ng，相當於濃度為 110.8 ± 4.6 (ng/g)，也可落在 certified value [(110 \pm 40) ng/g] 之範圍內。

(c)於不同天，取共 3 份 GBW 07311 底泥標準參考樣品，每

份 50 mg(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(如附錄二)，由 3 次平均所得 GBW 07311 底泥標準樣品之值為 3.09 ± 0.15 ng，相當於濃度為 61.8 ± 3.0 (ng/g)，如表 4-4 所列。由結果得知，所測得的值都能落在 certified value [(72 ± 14) ng/g] 之範圍內，表示本方法之準確度良好。此 3 次測值之相對標準偏差(RSD, n=3)約為 4.9%，表是本方法之精密度在可接受之範圍。由標準添加法求得底泥中總汞的平均含量(n=3)為 3.74 ± 0.14 ng，相當於濃度為 74.8 ± 2.8 (ng/g)，也可落在 certified value [(72 ± 14) ng/g] 之範圍內。

(d)此外，在不同天，各取 3 份 50 mg 底泥標準參考樣品(BCR CRM 580)，經本實驗步驟微波消化，調整其 pH 值，經過濾後，倒入 1000 mL 量瓶，以純水 rinse 濾液瓶，並定量至 1000 mL。然後各取出 1.00mL 分別放入 3 個 20 mL 棕色瓶中，各加入醋酸鈉緩衝溶液(1 mmol, pH=6.0)及 DMPS(500 μ L of 1.2×10^{-3} M)，經三個串聯之 C_{18} cartridge 預濃縮後，各以甲醇沖洗並定量至 0.50 mL，取出部份(50 μ L)注入石墨式原子吸光儀測汞。由於 BCR CRM 580 總汞的濃度很高，超出本方法檢量線的線性範圍，因此將它稀釋 1000 倍。使用直接將汞配製於甲醇中之檢量線，求得總汞的含量(如附錄二)，由 6 次平均所測得之值為 6.62 ± 0.09 ng，除以樣品重量，再乘以稀釋倍數後，相當於濃度為 132.4 ± 1.8 (μ g/g)，如表 4-4 所列。由結果得知，所測得的值都能落在 certified value [132 ± 3 (μ g/g)] 之範圍內，表示本方法之準確度良好。此 6 次測值之相對標準偏差(RSD, n=6)約為 1.4%，表示本方法之精密度良好。

表 4-4 本方法準確度測試

CRM Sediment Samples	Day	Amount of Hg (ng)		Conc. of total Hg in sediment (ng/g)	
		measured	Mean±S.D.	This Method	Certified Value
GBW 07305	1	4.68	4.80±0.12	96.0±2.4	100±20
	2	4.95			
	3	4.63			
	4	4.82			
	5	4.87			
	6	4.84			
CRM 016 -050	1	5.29	5.36±0.14	107.2±2.8	110±40
	2	5.52			
	3	5.51			
	4	5.28			
	5	5.16			
	6	5.37			
GBW 07311	1	3.13	3.09±0.15	61.8±3.0	72±14
	2	2.93			
	3	3.22			
CRM 580	1	6.74 ^a	6.62±0.09 ^a	132.4±1.8 ^b	132±3
	2	6.63 ^a			
	3	6.62 ^a			
	4	6.50 ^a			
	5	6.55 ^a			
	6	6.70 ^a			

a. 樣品(50 mg)經微波消化，調整其 pH 值經過濾後，用純水稀釋至 1000 mL。取出 1.00 mL 加入醋酸鈉緩衝溶液(1 mmol, pH=6.0) 及 DMPS(500 μ L of 1.2×10^{-3} M)，經 3 個串聯之 C₁₈ cartridge(160 mg)預濃縮後，各以甲醇沖洗並定量至 0.50 mL，取出 50 μ L 注入 GFAAS，由三個 cartridge 所得之值相加，求得總汞的含量。

b. 將 a 除以樣品重量，再乘以 1000 倍之稀釋倍數，即得原樣品含汞之濃度。

3. 回收率之測試

在標準添加法中，添加 2.50 -10.0 ng 甲基汞或無機汞(約為底泥標準參考樣品含汞量之 0.5-2.0 倍)於底泥標準參考樣品(GBW 07305、GBW 07311 及 CRM 016-050)中，經實驗後所測得 (a).GBW 07311 底泥標準參考樣品之回收率在 96.7-98.3%，精密度(RSD, n=3)約在 3.5%以內，如表 4-5 所列。(b).GBW 07305 底泥標準參考樣品之回收率在 98.9-101.2%，精密度(RSD, n=6)約在 3.7%以內，如表 4-6 所列。(c).CRM 016-050 底泥標準參考樣品之回收率在 96.9-100.9%，精密度(RSD, n=6)約在 4.0%以內，如表 4-7 所列，表示本方法之回收率在可接受的範圍。

表 4-5 添加無機汞(4.00-8.00 ng)於底泥標準參考樣品(GBW 07311)中^a，測試本方法之回收率

Trial No.	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)
	added	found		
1	Hg ²⁺ 4.00	3.75	93.8	96.7±3.4
2	4.00	4.02	100.5	
3	4.00	3.83	95.8	
1	Hg ²⁺ 8.00	7.81	97.6	98.3±2.7
2	8.00	8.10	101.3	
3	8.00	7.68	96.0	

a. 取 50 mg 底泥標準樣品(GBW 07311，精秤至 0.1 mg，含汞量約為 3.8 ng)。

b. 由三次實驗所測得的平均值及標準偏差。

表 4-6 添加甲基汞或無機汞(2.50-10.00 ng)於底泥標準參考樣品
(GBW 07305)中^a，測試本方法之回收率

Trial No.	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)	
	added	found			
1	CH ₃ Hg ⁺	2.50	2.59	103.6	99.5±3.7
2		2.50	2.44	97.6	
3		2.50	2.37	94.8	
1	Hg ²⁺	2.50	2.41	96.4	
2		2.50	2.58	103.2	
3		2.50	2.54	101.6	
1	CH ₃ Hg ⁺	5.00	4.81	96.2	98.9±2.6
2		5.00	4.93	98.6	
3		5.00	5.07	101.4	
1	Hg ²⁺	5.00	4.93	98.6	
2		5.00	4.81	96.2	
3		5.00	5.12	102.4	
1	CH ₃ Hg ⁺	7.50	7.40	98.7	99.6±1.2
2		7.50	7.52	100.3	
3		7.50	7.56	100.8	
1	Hg ²⁺	7.50	7.52	100.3	
2		7.50	7.31	97.5	
3		7.50	7.50	100.0	
1	CH ₃ Hg ⁺	10.00	10.00	100.0	101.2±1.1
2		10.00	10.11	101.1	
3		10.00	10.26	102.6	
1	Hg ²⁺	10.00	10.11	101.1	
2		10.00	10.00	100.0	
3		10.00	10.23	102.3	

a. 取 50 mg 底泥標準樣品(GBW 07305，精秤至 0.1 mg，含汞量約為 5.0 ng)。

b. 由六次實驗所測得的平均值及標準偏差。

表 4-7 添加甲基汞或無機汞(2.50-10.00 ng)於底泥標準參考樣品 (CRM 016-050)中^a，測試本方法之回收率

Trial No.	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)	
	added	found			
1	CH ₃ Hg ⁺	2.50	2.37	94.8	96.9±3.9
2		2.50	2.41	96.4	
3		2.50	2.39	95.6	
1	Hg ²⁺	2.50	2.37	94.8	
2		2.50	2.62	104.8	
3		2.50	2.37	94.8	
1	CH ₃ Hg ⁺	5.00	4.96	99.2	99.3±1.9
2		5.00	4.93	98.6	
3		5.00	5.08	101.6	
1	Hg ²⁺	5.00	5.04	100.8	
2		5.00	4.81	96.2	
3		5.00	4.96	99.2	
1	CH ₃ Hg ⁺	7.50	7.56	100.8	100.3±1.6
2		7.50	7.70	102.7	
3		7.50	7.39	98.5	
1	Hg ²⁺	7.50	7.52	100.3	
2		7.50	7.38	98.4	
3		7.50	7.56	100.8	
1	CH ₃ Hg ⁺	10.00	10.15	101.5	100.9±0.7
2		10.00	10.07	100.7	
3		10.00	10.08	100.8	
1	Hg ²⁺	10.00	10.11	101.1	
2		10.00	9.96	99.6	
3		10.00	10.15	101.5	

a. 取 50 mg 底泥標準樣品(CRM 016-050, 精秤至 0.1 mg, 含汞量約為 5.5 ng)。

b. 由六次實驗所測得的平均值及標準偏差。

4. 方法偵測極限 (Method Detection Limit , MDL) 之測定

MDL 值之測定是取 50 mg 底泥標準參考樣品 (GBW 07311) , 加入王水和氫氟酸 , 使用微波消化萃取 , 依本實驗的操作 , 預濃縮於兩個 C₁₈ cartridge , 再分別用甲醇沖洗出 , 並定量至 0.50 mL。由於大部分汞(約 90%)可滯留於 cartridge #1 , 因此選用甲醇所沖洗出 C₁₈ cartridge #1 之汞-DMPS 複合物作為測試 MDL 值之用。取出 50 μ L 注入石墨式原子吸光儀 , 由 12 次重複(replicates) , 求得汞之吸收峰高度之平均值(\bar{x})與標準偏差 (S)。將所得之標準偏差換算為吸光度後 , 乘以 3 倍 , 再除以檢量線之斜率 , 求得汞 MDL 之絕對量 ; 若將其除以底泥之樣品重量 , 即可換算為濃度。當使用 50 mg 底泥樣品時 , 由 6 次平均所測得汞 MDL 之絕對量為 0.34 ng 底泥樣品 , 或是濃度約為 6.8 (ng/g) , 如表 4-8 所列 , 原子吸光儀之代表吸收光譜如圖 4-19 所示。

本方法以 50 mg 底泥標準參考樣品 (GBW 07311) 所得 MDL 之濃度為 6.7 ng/g , 較 Huggett^[36]使用 200–500 mg 底泥樣品以 FAAS 測定 , 所得之 MDL 值 0.1 ng/g ; Costly^[39]使用 500 mg 底泥樣品以 AAS 測定 , 所得之 MDL 值 0.12 ng/g ; Balogh^[42]使用 100 mg 底泥樣品以 CVAFS 測定 , 所得之 MDL 值 2.4 ng/g ; Magalhaes^[38]使用 60 mg 底泥樣品以 AAS 測定 , 所得之 MDL 值 4 ng/g ; Walker^[43]取適量底泥樣品以 ICP-MS 測定 , 所得之 MDL 值 4 ng/g 為高。較 Guanhung^[45]使用 250 mg 底泥樣品以 LA-ICP-MS 測定 , 所得之 MDL 值 20 ng/g ; Lopez-Garcia^[40]使用 10-250 mg 底泥樣品以 GFAAS 測定 , 所得之 MDL 值 100 ng/g 為低 , 如表 4-9 所列。雖然本實驗方法之 MDL 值較 Huggett^[36]、Costly^[39]、Magalhaes^[38]和 Walker^[43]所得的值為高 , 但由參考文獻 8 和 9 , 談及加拿大認為當底泥中總汞的濃度大於 100 ng/g^[8]及德國認為底泥中總汞的濃度大於 250 ng/g 時^[9] , 可視為此底泥已受污染 , 因此本方法應可應用在檢驗底泥是否遭受汞

之污染。

表 4-8 使用本方法求得底泥樣品中汞之 MDL 值

Day	底泥重(mg) ^a	MDL(ng)絕對量	MDL(ng/g)濃度
1	50.1	0.34	6.8
2	50.3	0.37	7.4
3	50.2	0.29	5.8
4	50.0	0.39	7.8
5	50.2	0.32	6.4
6	50.1	0.31	6.2
Mean ± S.D. ^b		0.34 ± 0.04	6.8 ± 0.8

a. 使用 GBW 07311 底泥標準參考樣品。

b. 由六次實驗所測得的平均值及標準偏差。

表 4-9 本方法所得 MDL 值與其他文獻方法之比較

參考 文獻	底泥使用量 (mg)	方法概要	M.D.L. ()	
			(ng)	(ng/g)
36	2000-5000	加入濃 HNO ₃ + 濃 HCl 消化 6 小時 使用 FAAS 測定之	0.2-0.5	0.1
39	500	在 750 下加熱， 用氧氣將汞蒸氣帶入 Au-amalgamator 形成汞齊 使用 AAS 測定之	0.06	0.12
42	100	加入濃 HNO ₃ + 濃 H ₂ SO ₄ 在 65 消化， 使用 CVAFS 測定之	0.24	2.4
44	250	加入濃 HNO ₃ + H ₂ O ₂ 經二次微波消化後， 使用 FI-ICP-MS 測定之	0.25	1.0
38	60	使用 3 支 IR 燈 (1100) 照射 30 秒，用空氣將汞蒸 氣帶入 Au-amalgamator 形 成汞齊後，在加熱， 使用 CVAAS 測定之	0.24	4.0
43		加入濃 HNO ₃ + 濃 HCl 在 100 消化 1 小時， 使用 ICP-MS 測定之		4.0
This study	50	加入王水 + HF 微波消化 (80 ， 10 分鐘) 加入 DMPS 複合劑， 使用 GFAAS 測定之	0.34	6.8
45	250	將底泥壓製成小丸 使用 LA-ICP-MS 測定之	5	20
40	10-250	加入 HNO ₃ + HF + sodium hexametaphosphate， 使用 Slurry-GFAAS 測定之	1-25	100

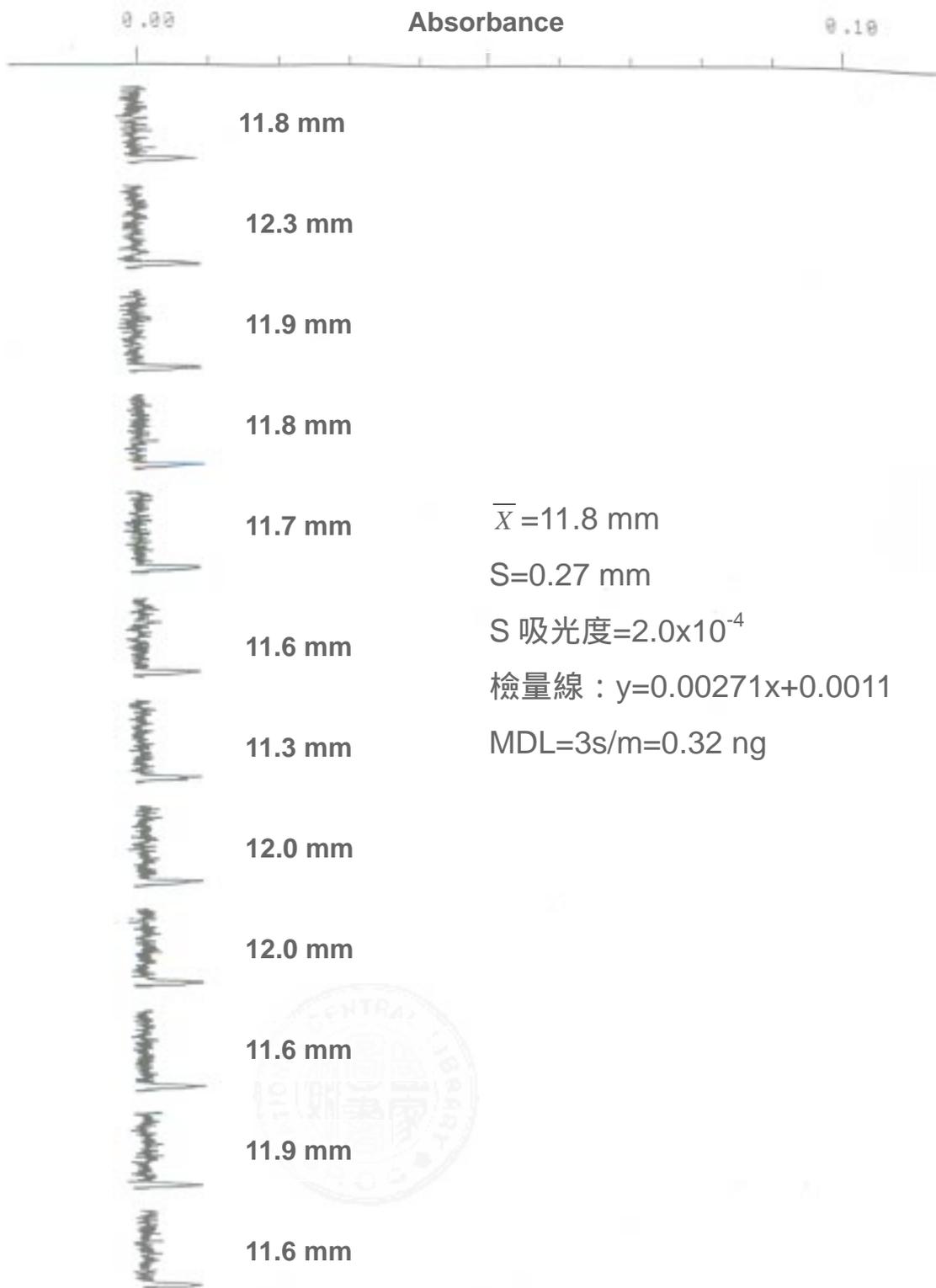


圖 4-19 使用底泥標準參考樣品(GBW 07311)測定 MDL 值之代表吸收光譜

五、實際底泥樣品(real sample)之檢測

藉由本研究建立的實驗方法來檢測台灣中部地區所取得之河川底泥實際樣品，分別採自南投縣的集鹿大橋底 (No.1)、清瑀橋底 (No.2)、雲林縣濁水溪林內 2 號進水口 (No.3) 及彰化縣田尾鄉清水溪入口 (No.4)。依本實驗的分析步驟操作，測定總汞之含量和濃度，並同時測試其添加回收率。

1. 測定實際底泥樣品中汞之濃度

每個樣品 (No.1、No.2、No.3 和 No.4，已經前處理之乾燥粉末) 分別取 3 份 50 mg，加入王水加氫氟酸後，依本實驗操作步驟，測定底泥實際樣品中總汞的含量和濃度 (dry basis)。

使用本方法測得實際底泥樣品 No.1 (南投縣的集鹿大橋底) 所含汞的量為 1.68 ± 0.03 ng，相當於濃度為 33.6 ± 0.6 ng/g；測得實際底泥樣品 No.2 (南投縣的清瑀橋底) 所含汞的量為 1.98 ± 0.02 ng，相當於濃度為 39.6 ± 0.4 ng/g；測得實際底泥樣品 No.3 (雲林縣濁水溪林內 2 號進水口) 所含汞的量為 2.94 ± 0.17 ng，相當於濃度為 58.8 ± 3.4 ng/g；測得實際底泥樣品 No.4 (彰化縣田尾鄉清水溪入口) 所含汞的量為 3.36 ± 0.18 ng，相當於濃度為 67.2 ± 3.6 ng/g，如表 4-10 所列。

由結果得知，上述之四種底泥樣品，其濃度落在 33.6 – 67.2 ng/g 之範圍。由於目前台灣對底泥中的汞尚未有規範，因此引用加拿大最嚴格的規範來檢視，即當底泥中總汞的濃度大於 100 ng/g 時，可視為已受污染之底泥^[8]，所以目前台灣這四條河川的底泥仍屬未受污染的程度。

表 4-10 使用本方法測得實際底泥樣品(No.1、 No.2、 No.3 和 No.4)

中汞之含量

Sediment	Sample ^a	Amount of Hg (ng) ^b		Conc. of Hg (ng/g)	
		Found	Mean±S.D. ^c	Found	Mean±S.D. ^c
No.1		1.70	1.68±0.03	34.0	33.6±0.6
		1.70		34.0	
		1.65		33.0	
No.2		2.00	1.98±0.02	40.0	39.6±0.4
		1.96		39.2	
		1.98		39.6	
No.3		2.93	2.94±0.17	58.6	58.8±3.4
		3.11		62.2	
		2.78		55.6	
No.4		3.15	3.36±0.18	63.0	67.2±3.6
		3.42		68.4	
		3.50		70.0	

a. 取 50 mg 實際底泥樣品(已經前處理之乾燥粉末),精秤至 0.1 mg

b. 由直接將汞配製在甲醇中之檢量線,求得底泥樣品中汞之含量。

c. 由三次實驗所測得的平均值及標準偏差。

2. 實際底泥樣品之添加回收率測試

各取 3 份 50 mg 底泥實際樣品(No.1、 No.2、 No.3 及 No.4), 以大約 1 : 1 和 1 : 2 的添加量來進行回收率之試驗(No.1 添加 2.00 ng 和 5.00 ng Hg²⁺; No.2 添加 2.00 ng 和 5.00 ng Hg²⁺; No.3 添加 3.00 ng 和 6.00 ng Hg²⁺; No.4 添加 3.00 ng 和 6.00 ng Hg²⁺)。依本實驗操作步驟測定汞的含量,所得之回收率如表 4-11、表 4-12、表 4-13 和表 4-14 所列。

表 4-11 使用本實驗方法測得底泥樣品 (No.1)^a 中汞之回收率

Trial No.	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)
	added	found		
1	2.00	1.92	96.0	98.3±2.5
2	2.00	1.96	98.0	
3	2.00	2.02	101.0	
1	5.00	4.92	98.4	97.1±1.8
2	5.00	4.75	95.0	
3	5.00	4.89	97.8	

a. 取 50 mg 底泥實際樣品(No.1 , 精秤至 0.1 mg)。

b. 由三次實驗所測得的平均值及標準偏差。

表 4-12 使用本實驗方法測得底泥樣品 (No.2)^a 中汞之回收率

Trial No.	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)
	added	found		
1	2.00	2.00	100.0	100.8±2.4
2	2.00	1.98	99.0	
3	2.00	2.07	103.5	
1	5.00	5.10	102.0	101.7±1.4
2	5.00	5.15	103.0	
3	5.00	5.01	100.2	

a. 取 50 mg 底泥實際樣品(No.2 , 精秤至 0.1 mg)。

b. 由三次實驗所測得的平均值及標準偏差。

表 4-13 使用本實驗方法測得底泥樣品 (No.3)^a 中汞之回收率

Trial No.	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)
	added	found		
1	3.00	3.20	106.7	101.5±4.7
2	3.00	3.00	100.0	
3	3.00	2.93	97.7	
1	6.00	5.92	98.7	99.6±0.8
2	6.00	6.00	100.0	
3	6.00	6.00	100.0	

a. 取 50 mg 底泥實際樣品(No.3，精秤至 0.1 mg)。

b. 由三次實驗所測得的平均值及標準偏差。

表 4-14 使用本實驗方法測得底泥樣品 (No.4)^a 中汞之回收率

Trial No.	Amount of Hg (ng)		Recovery (%)	Mean±S.D. ^b (%)
	added	found		
1	3.00	3.16	105.3	102.1±3.9
2	3.00	3.10	103.3	
3	3.00	2.93	97.7	
1	6.00	5.65	94.2	97.1±2.5
2	6.00	5.92	98.7	
3	6.00	5.91	98.5	

a. 取 50 mg 底泥實際樣品(No.4，精秤至 0.1 mg)。

b. 由三次實驗所測得的平均值及標準偏差。

其中，南投縣的集鹿大橋底的底泥樣品 (No.1) 所測得的回收率範圍為 95.0-101.0%；南投縣的清瑀橋底的底泥樣品 (No.2) 所測得的回收率範圍為 99.0-103.5%；雲林縣濁水溪林內 2 號進水口的底泥樣品 (No.3) 所測得的回收率範圍為 97.7-106.7%；彰化縣田尾鄉清水溪入口的底泥樣品 (No.4) 所測得的回收率範圍為 94.2-105.3%。由表 4-9、表 4-10、表 4-11 和表 4-12 得知，本方法之平均添加回收率(n=3)約為 97.1-102.1%；RSD 在 4.7%以內。

第五章 結論與建議

一、本研究所用之各項參數

本研究選用 50 mg 底泥標準參考樣品[GBW 07305，含有 100 ± 20 (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 700 μ L 王水和 50 μ L 氫氟酸。
- (2). 微波消化選用 80 加熱 10 min。
- (3). 消化後底泥和酸液混合物之 pH 值用 NaOH (1 N) 調整至 6.5-7.0。
- (5). DMPS 之用量選用 500 μ L of 1.2×10^{-3} M。
- (6). NaOAc buffer (pH=6.0) 之用量選用 1.0 mmol (即 1.0 mL 1.0 M)。
- (7). 自製濃縮用之 C_{18} cartridge 選用 160 mg 之 C_{18} particle (Waters Co.)。
- (8). 石墨式原子吸光儀加溫程式選用[乾燥 60-120 ，30 秒；灰化 170 ，40 秒；原子化 1300 ，3 秒(氫氣暫停)；清除 1800 ，5 秒]。

二、本方法使用四種底泥標準參考樣品(GBW 07311、GBW 07305、CRM 016-050 和 BCR CRM 580) 測試準確度，所測得的值都能落在該 certified value 之範圍內，表示準確度良好。添加回收率約為 96.7-101.2%。本方法測定底泥中總汞之偵測極限為 0.34 ng 或 6.8 ng/g，線性範圍在 0.34-15.5 ng 之間，或濃度為 6.8 – 310 (ng/g) Hg。本方法應可應用於實際底泥樣品的測試。

三、實際底泥樣品之測定

使用本方法測試台灣中部地區四種底泥樣品之結果如下：

(No.1) 南投縣的集鹿大橋底

底泥中汞含量為 1.68 ± 0.03 ng，相當於濃度為 33.6 ± 0.6 ng/g，添加回收率範圍為 95.0-101.0%。

(No.2) 南投縣的清瑀橋底

底泥中汞含量為 1.98 ± 0.02 ng，相當於濃度為 39.6 ± 0.4 ng/g，添加回收率範圍為 99.0-103.5%。

(No.3) 雲林縣濁水溪林內 2 號進水口

底泥中汞含量為 2.94 ± 0.17 ng，相當於濃度為 58.8 ± 3.4 ng/g，添加回收率範圍為 97.6-106.0%。

(No.4) 彰化縣田尾鄉清水溪入口

底泥中汞含量為 3.36 ± 0.18 ng，相當於濃度為 67.2 ± 3.6 ng/g，添加回收率範圍為 94.2-105.3%。

以上四種實際底泥樣品，都屬尚未受汞污染 (<100 ng/g) 之底泥。

四、建議

1. 本實驗在進行微波加溫之前，務必將 7mL 鐵氟龍瓶打開，釋放出瓶內已產生的部分 NO_2 氣體，如此可降低在微波消化時，因瓶內壓力過大而造成漏酸的現象，導致實驗結果不理想。
2. 以 NaOH 調整底泥混合物之酸液時，盡量將 pH 值調靠近 7 左右，使酸液中的鐵盡量形成氫氧化鐵的沉澱物而被移除，使汞與 DMPS 結合效果較好。此外，在預濃縮步驟時， C_{18} cartridge 較不會被 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ () 堵塞而影響收集 Hg-DMPS 的時間。