

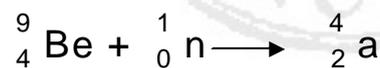
第一章前言

一、鈹 (Be) 的性質與用途

鈹 (Beryllium) 的元素符號為 Be，原子序為 4，原子量為 9.012 g/mol，密度 1.848 g/cm³，比重 1.847，熔點 (melting point) 1287，沸點 (boiling point) 2500^{〔1-4〕}。鈹是一種灰色、質輕且堅硬的金屬，形成的離子價數為+2，屬於 2A 族。天然同位素有⁹Be；另有放射性同位素⁷Be、⁸Be 和 ¹⁰Be^{〔1,2〕}。

鈹的化學性質和鋁相似，可與稀酸和鹼反應形成共價化合物^{〔1,5,6〕}。與強鹼反應會形成 beryllate ion 並生成大量氫氣 (H₂)。在有氧的情況下，表面易形成氧化物之薄膜而具有抗腐蝕性^{〔1,3,5〕}。

鈹因質輕堅硬，具有抗腐蝕性 (corrosion - resistant) 和延展性^{〔1,3,7〕}，已被廣泛應用於工業上：如與銅製成之合金，富彈性、耐摩擦，可用於製造無火花工具，電器開關零件，精密儀器耐磨齒輪，凸輪及軸承。與鎳製成的合金可增加硬度，適用於鑽石切削的鑄件；此外鈹具有高的吸熱容量，可與其他金屬 (如鋁、鐵、鎂、鎳等) 製成合金應用於航太工業，製造耐熱陶瓷、化學藥劑及半導體等^{〔1-3,6,7〕}。由於鈹受到中子撞擊時，會釋出 α - particle：



因此，可應用於核反應作為中子反射器及中子控制器^{〔1,6,8〕}。

二、鈹的污染來源與對人體的傷害

在自然界中，鈹化合物的分布很廣，如：地殼中約含有 2-3.5 ppm ($\mu\text{g/g}$)^[2,9,10]；海水中約有 5×10^{-13} g/mL^[11]；一般土壤中約為 1.2-2.1 ppm ($\mu\text{g/g}$)^[2]；煤炭中約含有 2.5 ppm ($\mu\text{g/g}$)^[2,12]。

由於鈹被人們廣泛應用於工業上，使得大量的鈹被釋放到環境中。鈹的來源可分為自然散逸與人為排放，其中，自然散逸主要是來自含鈹岩層經風化作用或是火山噴發所形成的火山灰及經酸雨沖刷存在環境中^[2,13]；人為排放源有：金屬加工業、核能電廠、燃煤之火力發電廠、電子工業、陶瓷製造及半導體製造業等^[2-5,8,14]排出的廢氣、飛灰或廢水。大部分的來源是來自人為排放，而自然散逸只佔少部份。

當這些釋放到大氣中的鈹，經沈降作用進入土壤或水體後，藉由擴散稀釋、生物轉化、生物降解等機制，可轉變鈹物種的型態。若含鈹的氣體藉由呼吸進入人體時，將傷害人體的肺部，分為急性鈹中毒—症狀為肺部發炎、有紅腫的現象，類似肺炎或支氣管炎的症狀；慢性中毒（berylliosis）症狀為肺部肉芽腫及呼吸漸感困難等^[15,16]。因此美國環保署（USA EPA）將鈹分類為 Group B2^[16,17]。

若鈹是經由飲食的方式進入人體，主要是以 colloidal beryllium phosphate and hydroxide complex 的型式在血液中傳輸，經由肝臟，大部分的鈹伴隨著排泄物排出體外，小部分則沈積在骨骼中，也會有體重減輕和厭食等症狀。根據動物實驗，當鈹以食入的方式進入體內，經由腸道的吸收相當

緩慢，約有 80% 的鈹由糞便中排出，1% 的鈹由尿液排出，但是經由肺臟的吸收則快速且效率高。若是藉由皮膚接觸時，則皮膚會有過敏的症狀^[2,8,16]。

三、鈹的相關法令規定

1. 在飲用水方面，美國規定飲用水中鈹的最大可許濃度 (maximum admissible concentration) 為 $4 \mu\text{g/L}$ ^[18]；捷克 (The Czech Republic) 和俄國規定飲用水中鈹的最大可許濃度為 $0.2 \mu\text{g/L}$ ^[19,20]。

2. 在空氣方面，美國職業安全衛生協會 (Occupational Safety and Health Association, OSHA)^[16,17,21] 和日本^[14] 規定在每天 8 小時的工作環境中，空氣中鈹的平均最大可許暴露濃度限值為 $2.0 \mu\text{g/m}^3$ ；瞬間最大暴露量 (in a duration time of 30 minutes) 為 $25.0 \mu\text{g/m}^3$ ^[2,8,14]，國際職業安全衛生協會 (National Institute of Occupational Safety and Health, NIOSH) 也建議大氣中鈹的濃度不要超過 $5.0 \mu\text{g/m}^3$ ^[23]；美國政府工業衛生協會 (The American Conference of Government Industrial Hygienists, ACGIH) 規定鈹的恕限值 (threshold limit value, TLV) 為 $2.0 \mu\text{g/m}^3$ ^[23]。

3. 在魚肉方面，美國 EPA 建議魚肉中鈹的最大可許限值 (risk level)^[24] 為 84 (ng/g)。

4. 目前，我國對於飲用水中、大氣中和食米中鈹之最大可許濃度限值尚未規定。

四、研究動機

人類在地球上生存、取得和使用各項資源。一旦地球環境（如大氣、水體及土壤）遭受到汙染時所影響的範圍將是很大的。由於近代工業發展快速，當大氣受到鈹污染後，可能被帶入水體與土壤中，使它們也受到污染。若水體中含有鈹，經灌溉系統進入農田，被稻米的根部所吸收而累積在食米中。當人們食用食米後，將鈹間接累積於體內，若累積過量的鈹，可能對人體的健康造成危害。

由於國內對於食米中鈹的分析尚未有標準方法，因此本實驗想藉由微波消化萃取食米中的鈹，經預濃縮於固相 Oasis cartridge 上，再用甲醇將鈹的螯合物沖洗出，定量後，使用石墨式原子吸光儀（graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry, GFAAS）測定食米中鈹的含量和濃度，由實驗結果來探討使用本方法測定食米中鈹的可行性。

第二章 文獻回顧

一、食米中鈹的分析方法

有關食米中鈹的分析方法，到目前為止尚未看到有文獻發表。所以參考本實驗室曾經測定頭髮中^[25]和魚貝類中^[26]鈹的方式進行。

二、選用石墨式原子吸光法的理由

通常用來測定環境中鈹的方法有使用石墨式原子吸收光譜法（GFAAS）^[26-29,49]分析魚肉中、植物中、水中與大氣中鈹之含量；有使用感應耦合電漿原子發射光譜法（inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, ICP-AES）^[20,30]分析水中及植物樣品中的鈹；有使用感應耦合電漿質譜法（ICP-MS）^[20,31]分析水中、土壤中、煤炭中與魚肉中的鈹；有使用氣相層析質譜法（gas chromatography with mass spectrometry, GC-MS）^[32]分析生物物質樣品（如人體血液、尿液和組織）中鈹之含量；有使用離子層析法（ion chromatography）^[33]分析水中鈹的含量；及使用比色法（spectrophotometry）^[34]測定合金中鈹之含量等。

在上述的方法中以 ICP-MS 和 GFAAS 具有較高的靈敏度，但由於 ICP-MS 的設備及維修費昂貴，而且推估食米中鈹的含量可能很低，因此本實驗選用 GFAAS 作為分析的儀器。

三、 石墨式原子吸收光譜儀（GFAAS）的基本原理^[35]

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

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

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

H.C.L.是測定原子吸光時最常使用的光源之一，如圖 2-1 所示，此燈管包含鎢（tungsten）陽極和圓柱形中空陰極，燈管內填充 1 – 5 torr 的惰性氣體（如氬氣（argon）或氖氣（neon）），且陰極上鍍有

待測元素之金屬。本實驗所使用鈹中空陰極燈管是填充氖氣，當通入電流（10 mA）時，兩電極施以 300 volts 之電壓，燈管內的氖氣被離子化，生成 Ne^+ 和 e^- ，其中 Ne^+ 移向陰極。當陰極表面被 Ne^+ 氣態陽離子撞擊時，使得陰極表面上所鍍的金屬原子被撞出而形成原子雲，稱為濺射（sputtering）。部分原子吸收能量躍遷至激發態，當回到基態時，會放出一定頻率的能量作為原子吸收光譜法所使用的光源 [35,36]。

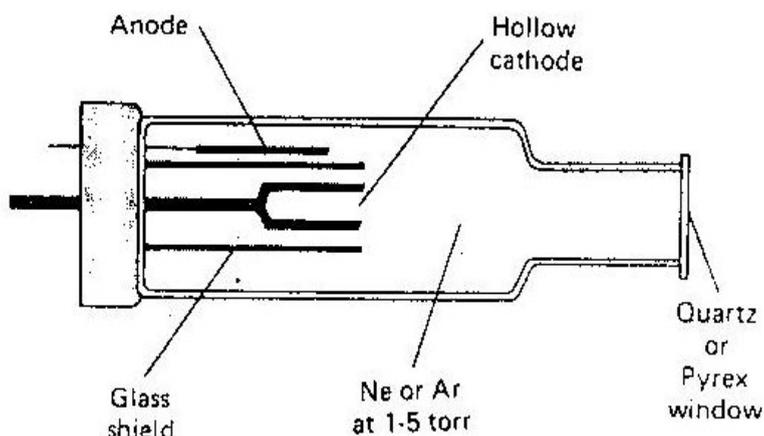


圖 2-1 中空陰極燈管之構造圖 [35]

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

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

旁等距離且較微弱的 s 譜線。

圖 2-2 顯示利用 Zeeman effect 為背景校正的石墨式原子吸收光譜儀，來自 H.C.L. 的光源通過一旋轉的極化器 (rotating polarizer) 時，將光源分成與磁場呈平行和垂直的兩極化光，當光源與磁場呈平行方向時，可測得待測物及干擾物之吸光度；當光源與磁場呈垂直方向時，僅測得干擾物之吸光度，兩者相減後，可得到待測物之吸光度 [35,36]。

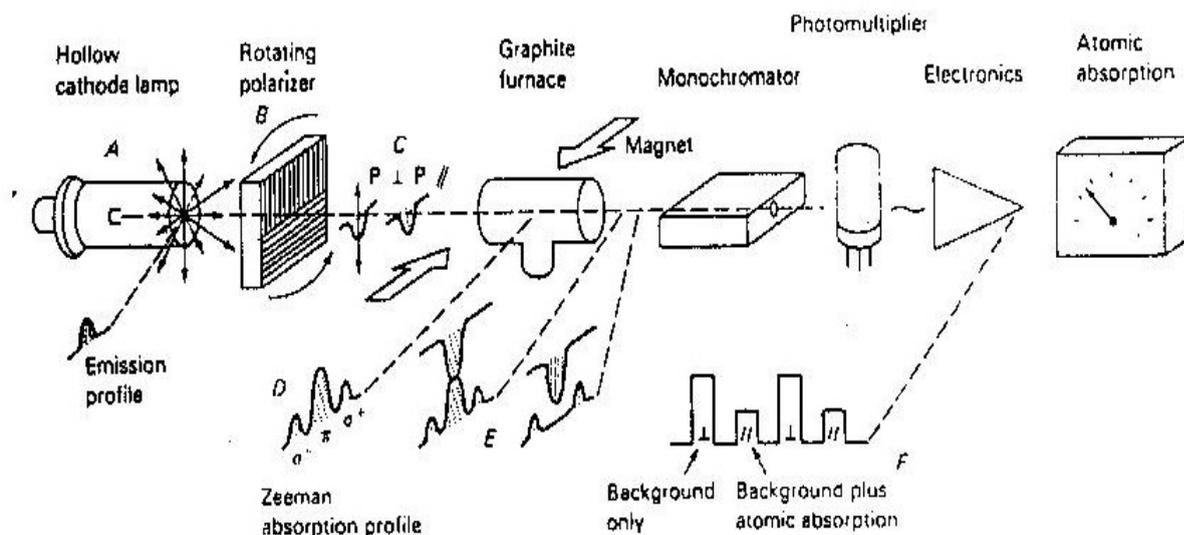


圖 2-2 以 Zeeman 效應為基礎作為原子吸收光譜的背景校正系統^[36]

3. 基質修飾劑 (matrix modifier)

為了降低樣品基質的干擾及提高待測物在原子化時的靈敏度，通常會加入適當的基質修飾劑，使在灰化步驟時，盡量將樣品中的基質移走。如樣品中含有 NaCl 時，因其沸點高達 1400 ，可能在原子化

時對待測金屬產生干擾，可加入 NH_4OAc ，使 NaCl 轉為 NaOAc 和 NH_4Cl (沸點約 350 – 380)，以降低樣品基質干擾。或是在樣品中加入合適的螯合劑或複合劑，使與待測物形成穩定的螯合物或複合物，在待測物不漏失的情形下，提高灰化的溫度來提高原子化時之靈敏度。

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

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

(1) 乾燥 (drying)

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

(2) 灰化 (ashing)

Ashing 用以移除樣品中可揮發的基質，在不漏失待測物的情況下，盡量提高灰化的溫度和時間，以期能將樣品中的基質盡量移除。若加溫的溫度太高或時間太長時，則待測物在尚未達原子化之前，可能有部分漏失，造成原子化時吸光度偏低；若加溫的溫度太低或時間太短時，則原子化時之背景吸光度可能會偏高。

(3) 原子化 (atomization)

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

四、 適當的前處理步驟

大部分來自環境中的樣品基質可能很複雜，由於干擾物和樣品基質會影響分析的結果，所以注入 GFAAS 前，樣品須經過適當的前處理步驟以降低樣品基質的干擾，但不使待測物漏失。此外，若待測物的濃度或含量很低無法準確被測得時，此時需藉由濃縮的方式將樣品

中待測物的濃度提高，使能準確測得待測物的含量。因此本研究選用微波消化及固相萃取（solid phase extraction，SPE）的方式作為測定食米樣品中鉍的前處理步驟。

1. 微波消化

微波是一種以電磁波形式存在的能量，其能量介於紅外光與無線電波之間，頻率範圍為 $300 - 3 \times 10^5$ MHz 之間，水分子的轉動頻率為 2450 MHz，是一般較常用的頻率。微波主要是藉由偶極轉動（dipole rotation）與離子傳導（ionic conduction）兩種輻射傳遞方式，將能量傳遞給溶液，因此與一般傳統的加熱法不同。微波加熱以輻射的方式傳遞能量，可直接對溶液加熱，不需透過容器的傳遞熱量，因此可以減少熱能在傳遞過程中的散失，並且提升加熱速率，可以減少樣品消化的時間^[37-42]。

此外，選用密閉式的微波消化系統，藉密閉空間累積壓力，讓樣品的沸點比常壓（一大氣壓）高，加速反應速率，有效縮短樣品消化的時間，並可減少消化試劑（酸）的用量，及避免外來物的干擾（如：空氣中微粒）^[37,40-42]，因此選用微波消化的方式作為前處理的步驟。

2. 固相萃取

從環境中取得的樣品基質可能很複雜且待測物的濃度低，藉固相材質對極性不同的萃取濃縮方式以提高待測物的濃度。

本研究所使用的固相萃取材質為 Oasis HLB (Water Co. 產品) , 填充物主要是由 N-vinyl pyrrolidone (親水性) 及 divinylbenzene (親油性) 兩種不同特性 (1 : 1) 的單體組成的分子聚合物 (copolymer) , 屬於 reversed phase mode , 如圖 2-3 所示^[43]。若與極性最大的水相比時 , Oasis HLB 是一種極性相對小的材質 , 因螯合物 Be(acac)₂ 的極性小 , 所以當水溶液流經 Oasis cartridge 時 , Oasis cartridge 可將 Be(acac)₂ 捕捉住 , 而極性大的物質 (如水) , 則不易滯留在 cartridge 上 , 藉此達到分離以及純化的效果。而滯留物再以適當的溶劑給予沖提出來 , 通常使用甲醇或極性更小的溶劑來沖提 , 如表 2-1 所列^[44]。

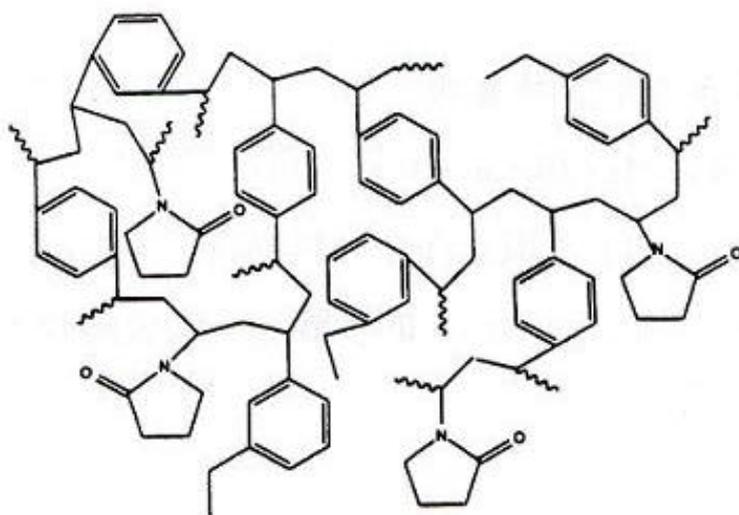


圖 2-3 Oasis HLB 固相萃取吸附劑的結構式^[43]

表 2-1 溶劑極性強度^[44]

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

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

由文獻得知，在 1952 年 Adam et al. 已開始使用 acetylacetonone^[45] 作為測定鈹的螯合劑。由另外的文獻^[46,47] 得知 Be (II) 與 acetylacetonone 可形成 “ BeL₂ 形式 ” 的螯合物，即 Be(acac)₂，其形成常數 (over-all formation constant) 約為 10^{13.9}，螯合物的結構屬 sp³ 型式，如圖 2-4 所示^[45]。

本實驗室，李氏^[48]、彭氏^[49]和徐氏^[26]測定飲用水中、空氣中、人體頭髮中和魚肉樣品中的鈹時，均採用 acetylacetonone 作為螯合劑。所測得鈹的含量與標準參考品相比較時，都能得到良好的準確度和回收率。因此，本研究也選用 acetylacetonone 作為鈹的螯合劑。

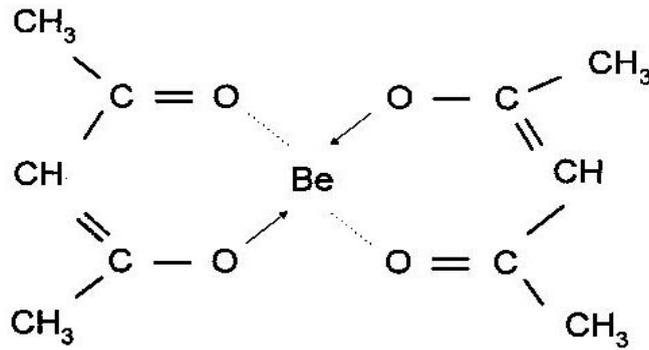


圖 2-4 鈹與 acac 螯合物之結構圖^[45]

Be 與 acac 形成螯合物 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 之反應機構^[50,51]為：

1. acac 須先形成 (a) deprotonated form 或形成 (b) enol form , 如圖 2-5 所示。
2. The deprotonated acac 與 Be^{2+} ; 或 enol form 與 $\text{Be}(\text{OH})_2$, 可形成 beryllium acetylacetonate chelate , 即 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 之螯合物 , 如圖 2-4 所示。

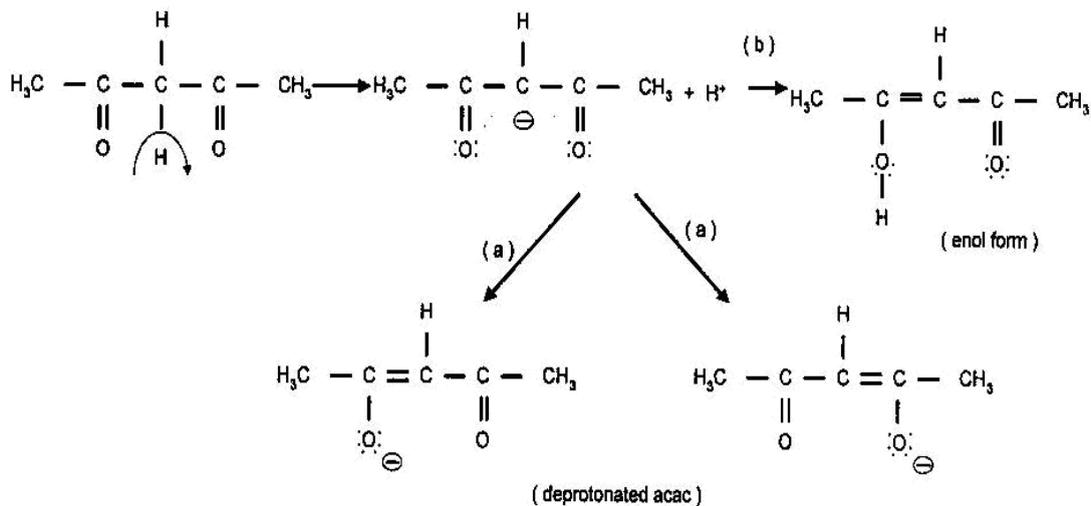


圖 2-5 acac 形成 (a) deprotonated form 和 (b) enol form 的形式

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-2700 型附有偏極化茲曼背景校正器 (polarized Zeeman background corrector)。

2. 鈹中空陰極燈管 (beryllium hollow cathode lamp):

購自 Hitachi Co. (Japan)。電流設定在 10 mA , 波長設定在 234.9 nm 處 , 狹縫寬度 (slit width) 選用 1.3 nm , 使用前需先將鈹燈管預熱約 30 分鐘 , 使達到穩定的電流。

3. 石墨管 (graphite tube-cuvette):

選用 uncoated graphite tube-cuvette (Hitachi, part No.750-8885)。

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 , 型號 MARS-5 , 為密閉式的消化系統 , 附有溫度控制的 sensor , 可依 ramping time 和 holding time 所設定的時間進行加溫。外層微波消化

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. 內層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。

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 公司產品 , 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、

500 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 公司產品，25, 50, 100 和 500 μ L，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 :

100 mL (實際可容納的體積大約 130 mL), TOP，日本東京株式會社產品。

15. 電子天平 :

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

16. 抽氣幫浦 :

Gast 產品，型號 DOA-P104-AA。

17. C₁₈ particle :

Water 公司產品，particle size = 55-105 μ m，作為自製 C₁₈ cartridge 之用。

18. Oasis cartridge :

Water 公司產品，Oasis HLB particle 由 N-vinyl pyrrolidone (親水性) 及 divinylbenzene (親油性) 兩種不同特性 (1 : 1) 的單體組成的分子聚合物 (copolymer)，屬於極性小的材質，particle size = 54.4 μ m。秤約 100 mg 放入 pp 材質的

cartridge，使用前，先加入 2 mL 甲醇，移走 cartridge 內的一些不純物質，然後用約 20 mL 純水清洗，將多餘的甲醇移走，並充滿水後，即可使用。

19. 棕色瓶 (brown bottle) :

10、20、50 及 100 mL 等體積，Pyrex 玻璃材質，Iwaki Glass Co. (Japan)。

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)，含鈹殘留濃度小於 0.005 ($\mu\text{g/L}$)，其餘雜質含量介於 ppb 至 ppt 之間。

3. 硝酸 (HNO_3 ，GR 級) :

Merck 公司產品，GR 級，濃度約 65% (w/w)，用純水稀釋為 1 : 1 (約 8 M) 之溶液，作為清洗玻璃器皿之用。

4. 鈹儲備標準溶液 (stock standard solution)

使用 $\text{Be}_4\text{O}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_6$ 配製於 2% HNO_3 中，購自 Merck (ICP

standard), 濃度為 1000 mg/L of Be^{2+} , 有效期限為一年。

5. 乙醯丙酮 (acetylacetone, 又名 2,4-pentanedione):
分子式為 $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COCH}_3$, 購自 Merck, GR 級, 純度 99.5%。
6. 醋酸 (CH_3COOH , glacial acetic acid):
購自 Aldrich, 純度 99.99%, 濃度約 17.5 M。
7. 醋酸銨 ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, ammonium acetate):
購自 Merck, GR 級。
8. 甲醇 (CH_3OH , methanol):
購自 Merck, GR 級, 純度 99.8%。
9. 雙氧水 (H_2O_2 , hydrogen peroxide):
購自 Merck, 濃度為 35% (w/w)。
10. 重鉻酸鉀 ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, potassium dichromate):
購自 Merck, GR 級, 純度 99.8%。
11. 濃硫酸 (H_2SO_4 , sulfuric acid):
購自 Merck, GR 級, 純度 99.8% (w/w)。
12. 氨水溶液 ($\text{NH}_{3(\text{aq})}$, ammonium hydroxide):
購自 ARCH Co., Norwalk, U.S.A., semiconductor grade。
13. 食米標準參考品 (Certified Reference Material, GBW **08508**), 購自中國大陸, 但未註明鈹的含量或濃度。
14. 食米標準參考品 (Certified Reference Material, SRM 1568a), 購自美國, 但未註明鈹的含量或濃度。

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 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 :

以 Merck (GR 級) 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 ppb) , 和高濃度 (約 ppm) 。

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 HNO_3) 浸泡隔夜 (超過 12 h) 。
- (5) 用去離子水清洗酸液。
- (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-Be/L 之 Be^{2+} 配製於甲醇中之標準溶液

取 100 μ L 1000 mg/L 之 Be^{2+} 儲備溶液 , 放入 10.0 mL 量瓶中 , 以甲醇定量至刻度 , 即為 10.0 mg-Be/L 之 Be^{2+} 標準溶

液，保存於 4 冰箱備用，每週配製。

(2) 100 $\mu\text{g-Be/L}$ 之 Be^{2+} 配製於甲醇中之標準溶液

取 100 μL 10.0 mg/L 之 Be^{2+} 溶液，放入 10.0 mL 量瓶中，以甲醇定量至刻度，即為 100 $\mu\text{g-Be/L}$ 溶液，保存於 4 冰箱備用，每天配製。

(3) 醋酸銨緩衝溶液之配製（於純水中）

秤取約 18.23 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ，加入 770 μL 冰醋酸，以純水稀釋至 50 mL，即為 5.0 M，pH 值約為 6.0 之醋酸銨緩衝溶液，保存於 4 冰箱備用，每月配製。

(4) 醋酸銨緩衝溶液之配製（於甲醇中）

秤取約 1.46 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ，加入 62 μL 冰醋酸，以甲醇稀釋至 10.0 mL，即為 2.0 M，pH 值約為 6.0 之醋酸銨緩衝溶液，保存於 4 冰箱備用，每週配製。

(5) 氫氧化銨溶液之配製

量取 31 mL 濃氨水，用純水稀釋至 500 mL，即為 1.0 M $\text{NH}_3(\text{aq})$ ，作為食米經微波消化後，調整酸性消化溶液 pH 值之用。

2. 食米樣品之來源、保存及添加已知量鉍於食米中之配製

食米參考樣品粉末狀，購自中國大陸 (GBW 08508) 和美國 (SRM 1568a)，但都未註明鉍的含量或濃度，其樣品經乾燥後即可使用。此外食米的實際樣品，購自一般米店和台中新光三越公司，食米生產於台灣雲林，苑裡，彰化，台東，花蓮等地。將買

來的食米，以純水清洗乾淨後，於室溫下晾乾一至兩天，然後放入烘箱（約 50 °C）四小時，移除水份後，用研鉢磨成粉末，再經 40 mesh 篩網（粒徑約 450 μm ）過篩後，收集其粉末放入棕色瓶中備用。由於計算濃度時是以乾重（dry weight）為基準，為了確保這些食米樣品屬於完全乾燥的狀態並隨時可以使用，因此，須先將樣品放入真空乾燥器中至少 24 小時，內裝有過氯酸鎂（magnesium perchlorate, Merck GR 級）和 silica gel 作為吸水劑。

推估食米中鈹的含量可能很低，因此，秤取適量（約 0.010 g）食米樣品（GBW 08508）放入微量樣品鐵氟龍消化瓶（約 7 mL，如圖 3-1 所示）後，用微量注射針筒（microsyringe）取適量（如 0.20 ng Be^{2+} ）配製於甲醇中（100 $\mu\text{g}\text{-Be/L}$ ）之 Be^{2+} 標準溶液添加於食米樣品。將鐵氟龍瓶的蓋子打開，置於室溫下隔夜，使甲醇從食米中揮發，而使鈹停留於食米上，藉此模擬食米中的鈹，作為探討本實驗的各項變數和求回收率。

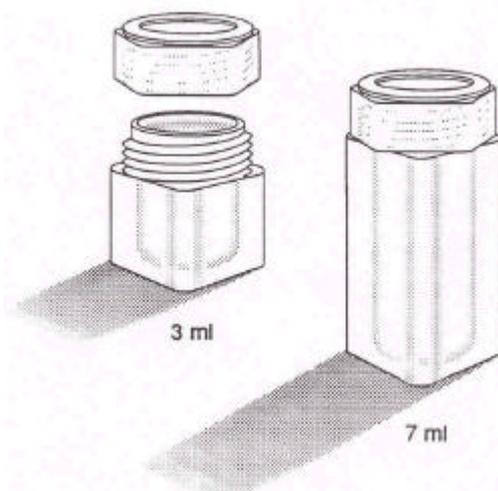


圖 3-1 微量樣品鐵氟龍消化瓶

3. 食米中鈹的測定方法

由於食米 CRM 的參考樣品中都尚未有 Be 的確認值，因此本實驗使用標準添加法來求食米中鈹的含量和濃度。實驗流程圖如附錄五所示。先取食米樣品（約 0.010 g）放入 7-mL 鐵氟龍消化瓶中，分別添加配製在甲醇中的鈹（0 - 0.40 ng）於食米樣品中，將瓶蓋打開，放置隔夜，使甲醇揮發並讓鈹停留在樣品上。次日，加入適量（約 500 μ L）濃硝酸，將消化瓶蓋子旋轉緊，在室溫下先反應約 1 小時，使食米溶於酸中，然後打開消化瓶瓶蓋，將部分反應生成的 NO_2 氣體排除。再使用特殊鎖瓶器工具（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。當微量樣品鐵氟龍瓶冷卻至室溫後，再加入適量（約 75 μ L）過氧化氫於 7-mL 鐵氟龍消化瓶中，再做第二階段的微波消化。

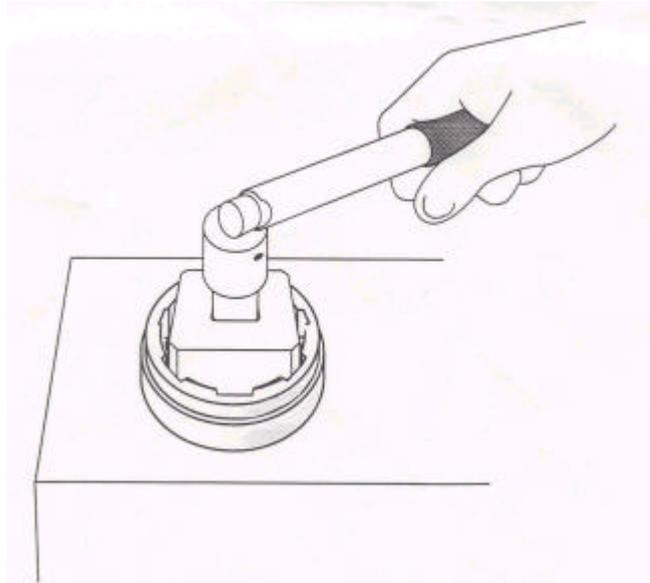


圖 3-2 鎖瓶工具圖

當微波消化完畢且 7-mL 鐵氟龍瓶冷卻至室溫後，將消化液倒入燒杯（200 mL）中，用純水沖洗鐵氟龍瓶數次，使殘留在鐵氟龍瓶上的消化液能完全被收集於燒杯中，再以 $\text{NH}_{3(\text{aq})}$ 調整消化液之 pH 值至 5.0 - 6.0，之後，加入適量（7.5 mmol）之醋酸銨緩衝溶液（配製於純水中，pH=6.0）和適量（50 μL ）的 acac，在室溫混合反應約 1 h，使 acac 與溶液中的銻形成穩定的螯合物 $[\text{Be}(\text{acac})_2]$ 後，流經兩個自製串聯的 Oasis cartridge（各填裝有 100 mg Oasis particle, Waters Co.）經預濃縮步驟後，用甲醇將 $[\text{Be}(\text{acac})_2]$ 之螯合物洗出，並定量至 1.00 mL（用 2.00 mL 附有刻度的玻璃管，每一刻度為 0.1 mL）混合均勻後，用微量注射針筒（microsyringe）取出 20 μL 注入石墨管，依加溫程式（表 3-1）將銻原子化，測定其吸收峰高度，換算為吸光度（absorbance），由標準添加法的檢量線，可求得食米中銻的含量。

表 3-1 使用石墨式原子吸光儀測定食米中 Be^{2+} (濃縮於甲醇後) 的加溫程式

Step	Start Temp. ()	End Temp. ()	Duration Time (sec)	Flow Rate of Argon (mL/min)
Drying	55	70	40	200
Drying	70	120	20	200
Ashing	650	650	30	200
Atomization	2600	2600	2	10
Cleaning	2700	2700	4	200

4. 直接將鈹配製在甲醇中之檢量線

取適量 (如 0 - 12 μL 100 $\mu\text{g/L}$) 配製於甲醇中的 Be^{2+} 標準溶液分別放入五個小試管 (2.0 mL) 中, 加入 700 μL 配製於甲醇中之醋酸銨緩衝溶液 (2.0 M, pH=6.0), 再加入 50 μL acac, 用甲醇定量至 1.00 mL, 在室溫混合反應, 約 1 小時後, 取出 20 μL 注入 GFAAS, 依表 3-1 之加溫程式測定 Be^{2+} 的吸光度, 以吸光度為 y 軸, 鈹的含量為 X 軸, 繪製一檢量線。

5. 食米中鈹經 Oasis cartridge 之固相濃縮步驟

固相濃縮主要分為四個步驟: Condition, Load, Rinse, 和 Elute, 詳述如下:

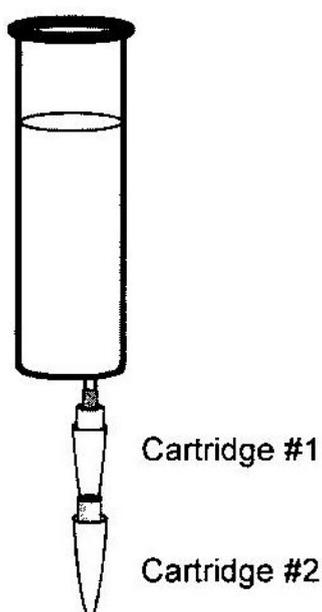
(1) Condition

是提供一個合適的吸附環境, 並且移除 cartridge 中的不純物。本實驗先使用 2 mL 甲醇流經每個自製的 Oasis cartridge (填裝有 100 mg Oasis particle, Waters Co.), 再用 20 mL 純水清洗,

將殘餘的甲醇移走。因若有甲醇殘留於 Oasis cartridge 時，當樣品之消化液通過時，會帶走一部份 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 螯合物，造成待測物的流失。所以在 condition 的過程中，當甲醇通過 Oasis cartridge 後，需以注射針筒對 cartridge 施一正向推壓並推送數次，使甲醇盡量被移走，再用適量（如 20 mL）的純水清洗並使純水充滿整個 Oasis cartridge。

(2) Load

將消化後，加入 NH_4OAc buffer 和 acac 之水溶液樣品流經兩個串聯的 Oasis cartridges，使待測物 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 能滯留於 cartridge 上。等水溶液全部流經 Oasis cartridge 後，再借助馬達抽氣的方式，將殘留在注射針筒內的水樣，盡量全部流經 Oasis cartridge，如圖 3-3 所示。



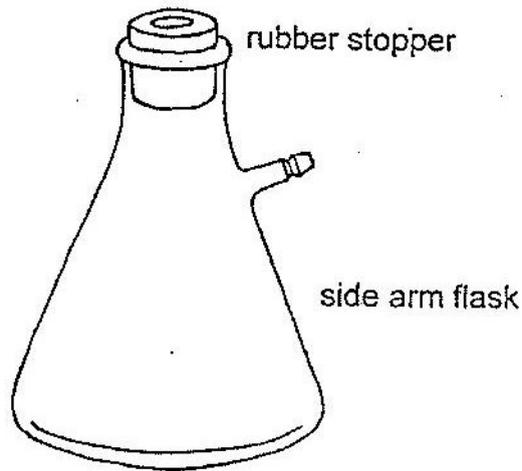


圖 3-3 固相萃取濃縮步驟裝置圖

(3) Rinse

原則上是以純水作為溶劑，將不需要的物質（或鹽類）洗出，但保留待測物於 cartridge 上。在本實驗中，若使用純水沖洗時，因部分 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 螯合物會被沖走，因此省略此步驟。

(4) Elute

以適當的溶劑將待測物從 cartridge 中沖洗出。本研究使用甲醇將 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 螯合物從 Oasis cartridge 洗出，每個的 Oasis cartridge 大約使用 1 mL 的甲醇沖洗，並定量至 1.00 mL。

6. 石墨式原子吸光儀之設定條件

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鈹之設定條件

設定項目	設定值
------	-----

GFAAS	Hitachi Company , Z-2700
Light Source	Hitachi Be Hollow Cathode Lamp
Lamp Current	10.0 mA
Wavelength	234.9 nm
Slit Width	1.3 nm
Carrier Gas	200 mL Ar/min
Interrupted Gas at Atomization	10 mL/min
Sample Volume Introduced	20 μ L
Tube Type	Uncoated Tube Cuvette
Signal Mode	Peak Height
Background Correction	Zeeman Mode

7. 以添加回收率作為本方法可行性之評估

由於食米參考樣品中尚未有含鈹的確認值，因此添加已知量的鈹於食米中，求其回收率，作為本方法可行性之評估。添加回收率的計算是將測得之吸光度代入標準添加法之檢量線，求得 x 值作為分子，所添加鈹的量為分母，乘以 100，即為回收率。

第四章 結果與討論

一、 實驗各項參數之探討

由於目前在食米參考樣品中，尚未有鈹的含量或濃度之確認值。因此先選用中國大陸食米參考樣品（GBW 08508）作為測試的樣品。又因 GBW 08508 其本身含鈹的量很少，在 10 mg 樣品中約含 0.24 ng Be，因此在探討以下各項參數時，在每 10 mg 的食米樣品中，都添加 0.40 ng 鈹〔即添加 4 μL 100 ($\mu\text{g/L}$)配製在甲醇中的 Be^{2+} ，靜置隔夜，讓甲醇揮發，而讓鈹停留在樣品上〕，使原子吸光儀所測得的吸光度較容易比較。在改變參數時，GFAAS 的吸光度均為兩次實驗的平均值。

1. 微波消化條件之建立

利用強酸溶解樣品基質的能力和微波快速加溫的方式，期能將食米樣品基質分解完全，使食米中的鈹能溶於酸中。

(1) 濃 HNO_3 用量的選擇

暫時固定 H_2O_2 的用量為 75 μL ，先改變濃 HNO_3 的用量，由 300 至 600 μL 。由圖 4-1 得知，當濃 HNO_3 用量小於 500 μL 時，可能是酸的用量太少不足以將食米中的基質消化完全，導致吸光度偏低；而酸的用量大於 500 μL 時，可能是多餘的酸被加熱分解成 NO_2 氣體，

造成鐵氟龍瓶（7 mL）內壓力太大，當使用 pH 試紙測試大鐵氟龍瓶（120 mL）中之純水時，呈現酸性反應，表示有漏酸的現象，導致吸光度偏低，因此，濃 HNO_3 的用量選用 500 μL 。

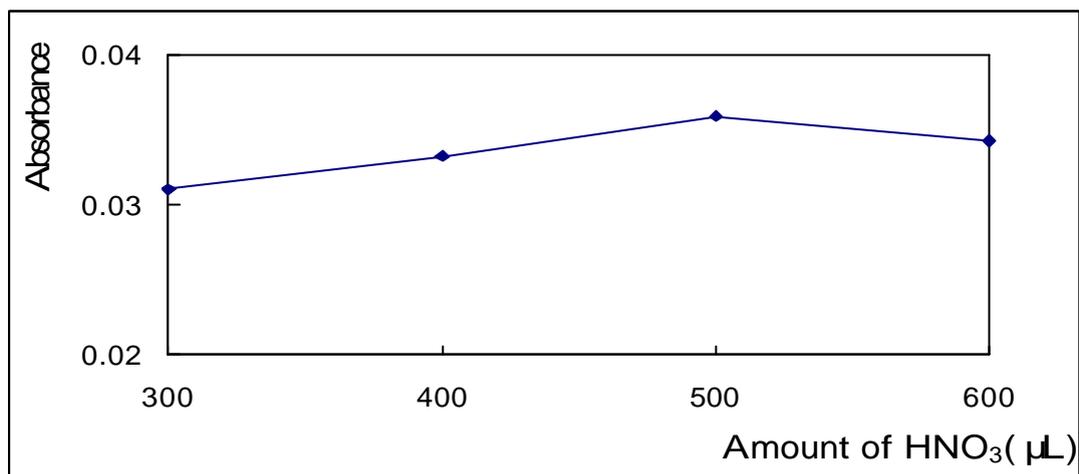


圖 4-1 濃 HNO_3 用量對鈹吸光度之影響

(2) H_2O_2 用量的選擇

將濃 HNO_3 用量固定在 500 μL 後，改變 H_2O_2 的用量，選用 50、75 和 100 μL 。結果如圖 4-2 所示，當 H_2O_2 用量小於 75 μL 時，可能是 H_2O_2 的量未能將樣品基質分解完全，導致吸光度偏低；當用量大於 75 μL 時，則可能是多餘的 H_2O_2 因加熱分解，造成瓶內壓力太大，導致鈹漏失，因此 H_2O_2 的用量選用 75 μL 。

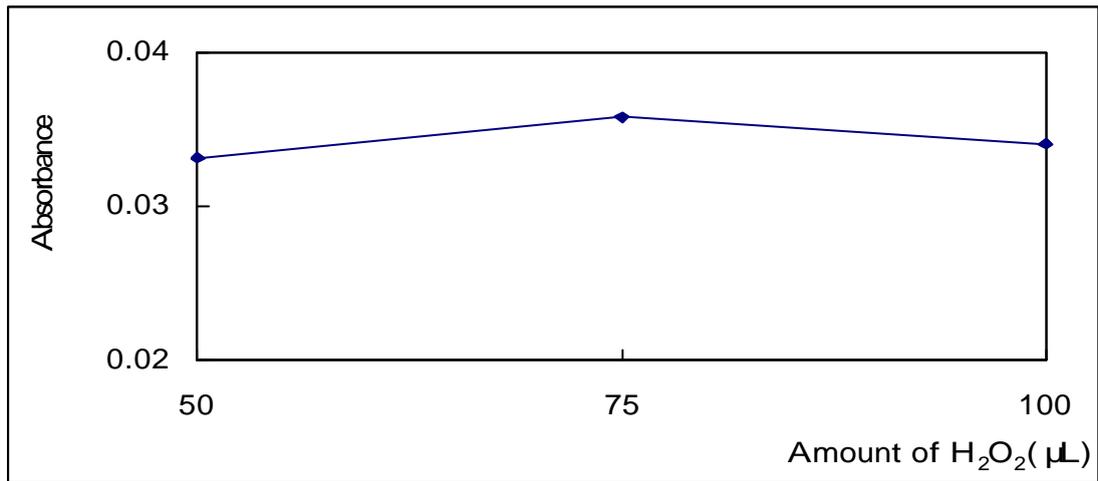


圖 4-2 H₂O₂用量對鉍吸光度之影響

(3) 微波消化溫度及時間的選擇

當濃 HNO₃ (500 µL) 和 H₂O₂ (75 µL) 的用量固定後，開始改變微波加溫的溫度，條件設定如下：ramping time – 7 min 30 sec；holding time – 7 min；temperature – 80、85 和 90。結果顯示微波消化溫度設在 85 時，有相對較高的吸光度，如圖 4-3 所示。當微波消化的溫度在 80 時，可能消化溫度不夠高，以致食米基質未能被消化完全；當消化溫度高在 90 時，可能因消化溫度太高，反應過於劇烈，造成瓶內壓力太大，可能導致鉍的漏失，而使吸光度偏低，所以選用 85 作為微波消化的溫度。

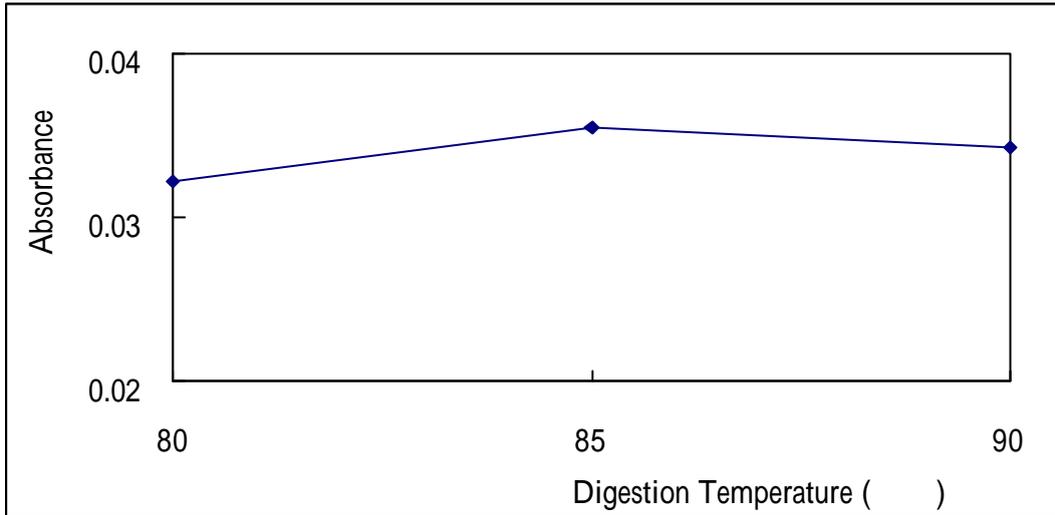


圖 4-3 微波消化的溫度對鉍吸光度之影響

接著將微波溫度固定在 85 °C，依序改變微波消化之 holding time，由 5 至 10 min。由圖 4-4 得知，當微波加熱由 5 至 7min 時，所得的吸光度漸增，表示食米中的鉍被消化萃取較完全；當微波加熱由 7 至 10 min 時，可能瓶內壓力漸大，有些漏酸，導致鉍的漏失，所以吸光度降低。因此，holding time 選用 7 min。

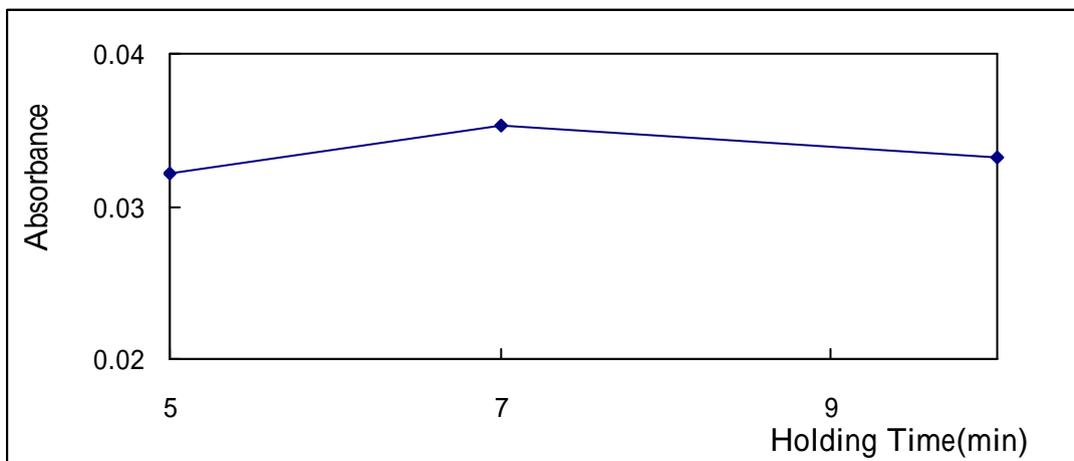


圖 4-4 微波加熱時間對鉍吸光度之影響

(4) 一次微波和二階段微波效果之比較

本研究嘗試先加入 HNO_3 靜置反應 1 小時後，再加入 H_2O_2 繼續反應 1 小時，然後做一次微波；另一個實驗則加入 HNO_3 靜置反應 1 小時後，進行第一階段微波，微波完後，再加入 H_2O_2 反應 1 小時，進行第二階段微波，比較兩種微波消化的效果。由實驗結果得知，使用兩階段的微波消化可將食米中的基質分解較完全且消化液呈無色澄清透明；而使用一次微波消化時其消化液呈淡黃色且基質分解較不完全，導致鈹的吸光度偏低（約 10 %），因此本研究選用兩階段的微波消化。

2. 固相濃縮材質、沖提體積和填充量之比較

首先使用 Oasis 和 C_{18} (Waters Co.) particles 作為固相濃縮材質之比較。每隻 cartridge 各填充 100 mg 的 particle，兩隻串聯，經本實驗操作步驟，最後，分別用甲醇沖提至 1.00 mL，結果顯示由 C_{18} cartridge 沖提出來的溶液常帶有一些白色混濁物，疑似 C_{18} particles 脫落而使吸光度值不穩，影響測值；而由 Oasis cartridge 沖提出來的溶液呈澄清，且可所得的吸光度較高（約 10%），所以本實驗選用 Oasis 的材質。

接著探討使用不同量的甲醇將 Oasis cartridge 的 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 沖提出來，即最後體積分別定量至 0.50 mL 和 1.00 mL。由實驗結果得知，

當定量至 0.50 mL 時，滯留於 cartridge 上的 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 尚未完全被沖提出來，因其吸光度小於 1.00 mL 時的 2 倍。因此，本研究最終的甲醇沖提體積選用 1.00 mL。

最後改變 Oasis cartridge 之填充量，分別填充 80 至 160 mg Oasis particles。由圖 4-5 得知，當填充量為 80 mg 時，可能是容納量不足，未能完全捕捉住 $\text{Be}(\text{acac})_2$ ，導致吸光度偏低；當填充量為 120 至 160 mg 時，可能是 1.00 mL 的甲醇無法將停留於 cartridge 內之 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 完全沖洗出來，致使吸光度偏低。因此，Oasis cartridge 之填充量選用 100 mg。

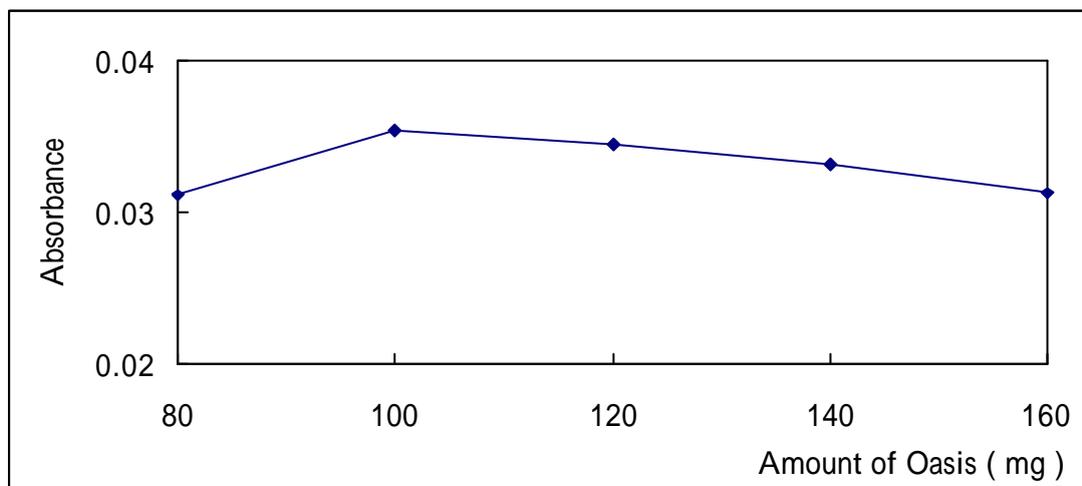


圖 4-5 Oasis particle 的填充量對鉍吸光度之影響

3. 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鉍時，原則上包含四個步驟：即乾燥、灰化、原子化和清除。

(1) 乾燥步驟的探討

由於本研究使用甲醇作為沖提的溶劑（沸點 64 °C）將 Be(acac)₂ 的螯合物沖洗出，內可能含有很微量的水份（沸點 100 °C）和銨鹽（NH₄Cl, 沸點約 350 – 380 °C），為了使溶劑慢慢蒸發，防止突沸的現象，因此乾燥的步驟使用 55 – 70 °C, 40 sec 及 70 – 120 °C, 20 sec。

(2) 灰化步驟的探討

為了移除 NH₄Cl 及樣品基質的干擾，因此在灰化階段，先改變灰化溫度（600 °C、650 °C、700 °C、800 °C 和 900 °C），將灰化時間暫定為 30 sec，原子化暫定為 2600 °C, 2 sec。由圖 4-6 得知，當灰化溫度在 650 – 650 °C 時，有相對最高的吸光度。接著再依序改變灰化時間，由 10 至 60 sec，結果由圖 4-7 得知，當灰化時間為 20 或 30 sec 時，所得的吸光度相對較大，為了使樣品基質儘量被移除，本研究選用 650 – 650 °C, 30 sec。

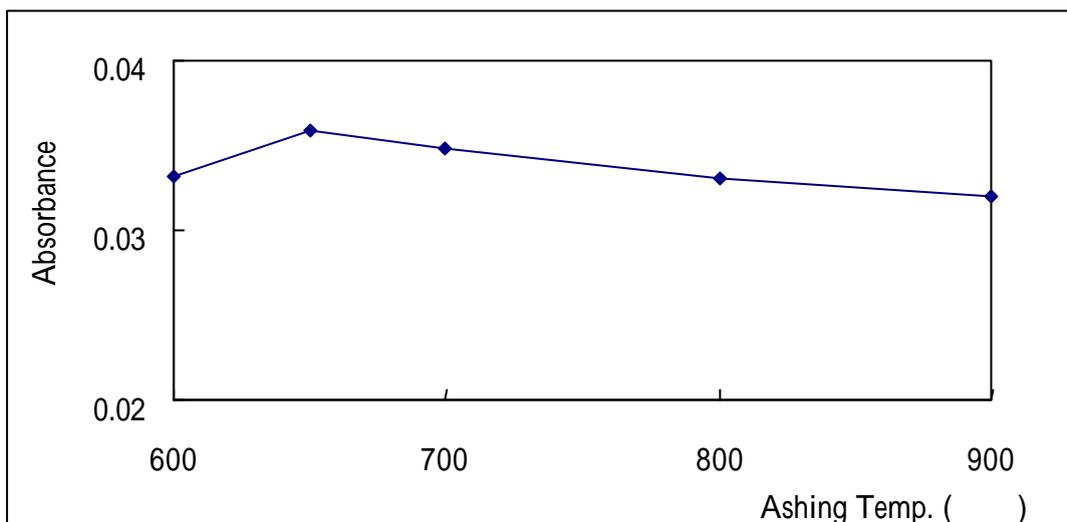


圖 4-6 灰化溫度對鉍吸光度之影響

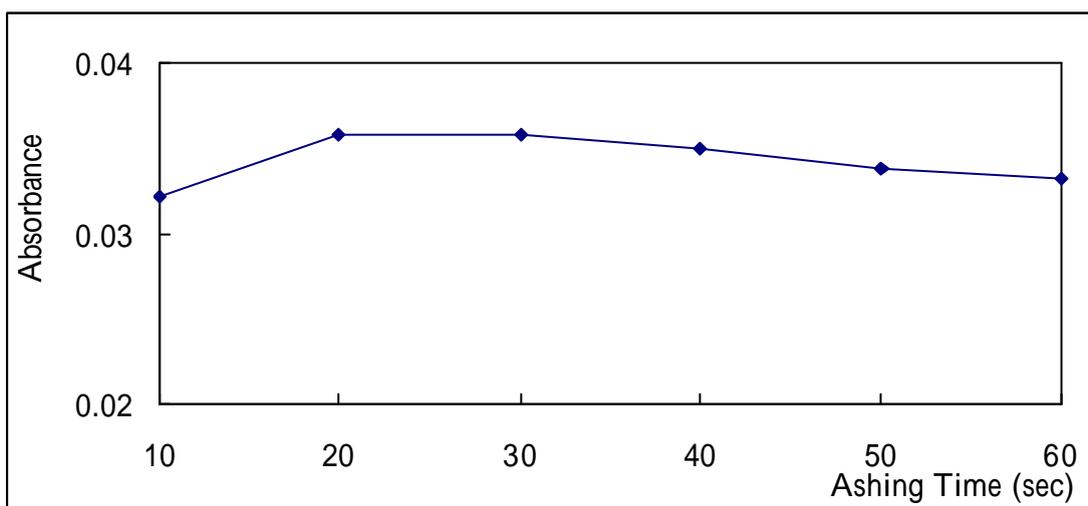


圖 4-7 灰化時間對鉍吸光度之影響

(3) 原子化步驟的探討

將乾燥、灰化的溫度和時間固定，原子化時間暫定為 2 sec，依序改變原子化溫度由 2100 至 2700，此時段氫氣的流量設為 10 mL/min。由圖 4-8 得知，原子化溫度由 2100 升高至 2700 時，鉍

的吸光度逐漸增加；由於原子吸光儀的最高溫度為 2800 ，若溫度太高時，可能會造成石墨管使用次數減少且線性範圍會較窄小些，因此原子化的溫度選用 2600 。

接著依序改變原子化時間，由 2 至 5 sec（此儀器最低設限為 2 sec），由圖 4-9 得知，原子化時間設為 2 sec 已足夠。

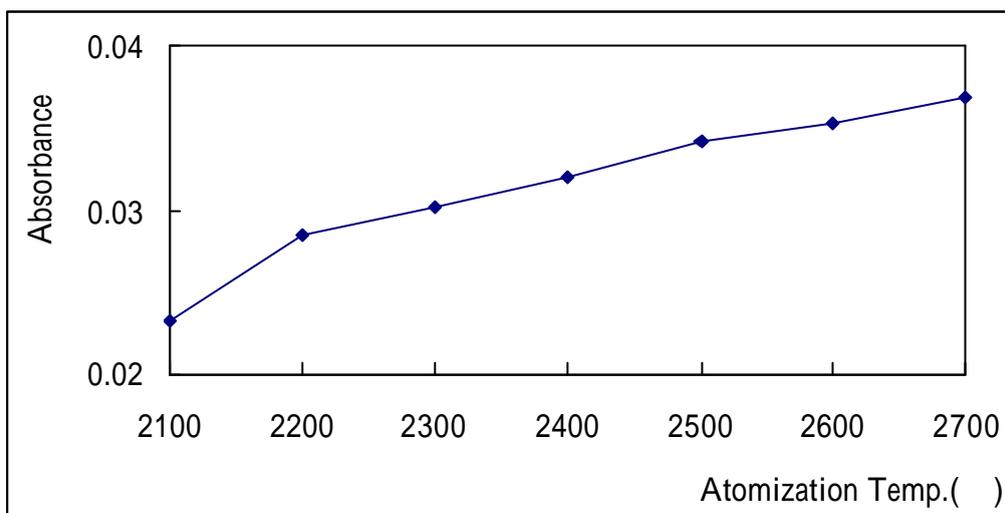


圖 4-8 原子化溫度對鉍吸光度之影響

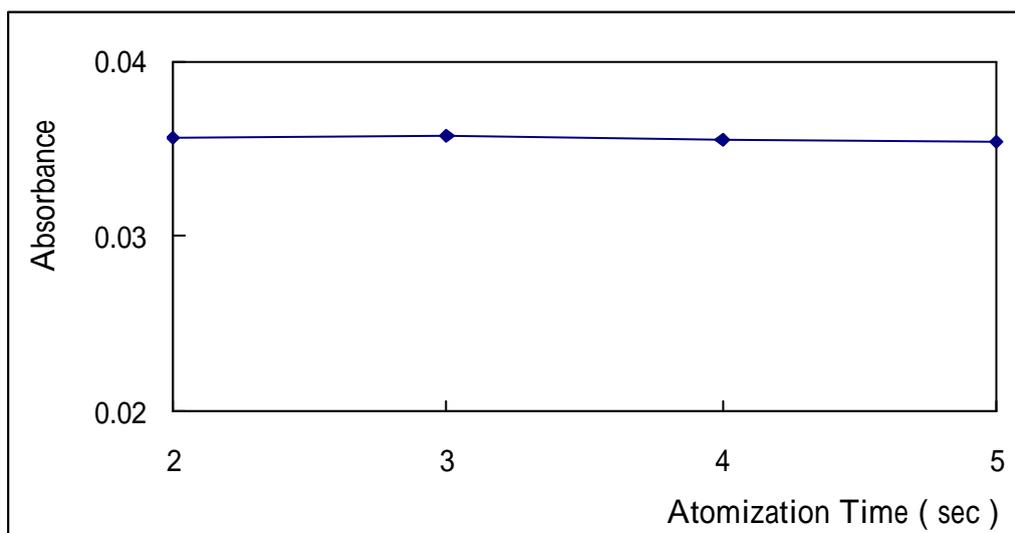


圖 4-9 原子化時間對鉍吸光度之影響

4. 乙醯丙酮和醋酸銨緩衝溶液用量之探討

(1) 乙醯丙酮 (acac) 用量之選擇

當微波消化完後，使用氨水（約 1.0 M）調整各消化液之 pH 值至 5.0 – 6.0，暫定加入 7.5 mmol 醋酸銨緩衝溶液（pH = 6.0），然後分別加入不同量（0 – 90 μL ）的 acac。由圖 4-10 得知，當 acac 用量少於 50 μL 時，可能無法將消化液中的鈹螯合完全，導致吸光度偏低；當 acac 用量大於 50 μL 時，則可能是剩餘的 acac 和溶液中其他離子形成複合物造成干擾，或是在灰化步驟時，無法將剩餘的 acac 移走，使得原子化時鈹的吸光度偏低，故 acac 的用量選用 50 μL 。

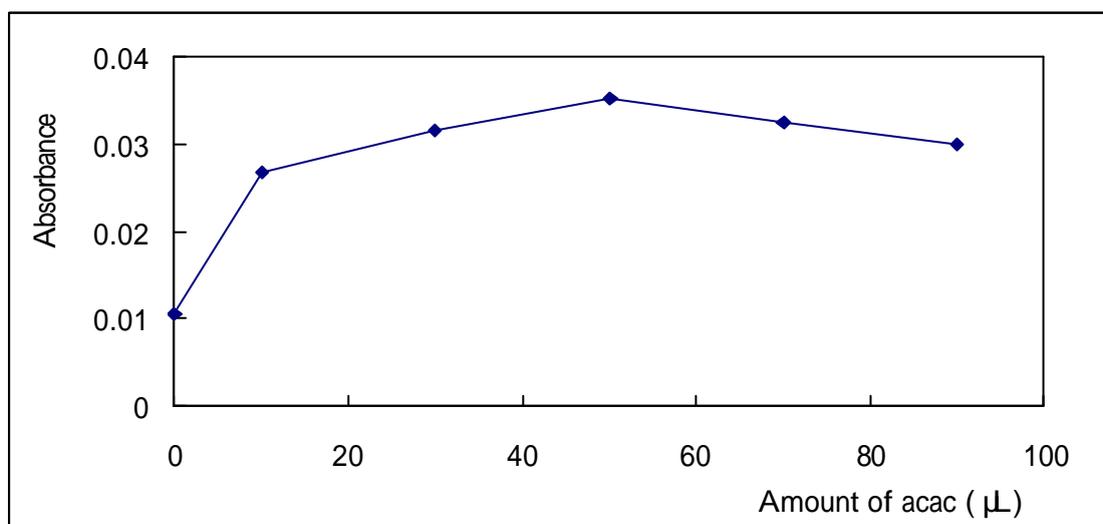


圖 4-10 acac 用量對鈹吸光度的影響

(2) 醋酸銨緩衝溶液用量之選擇

當微波消化完後，用氨水調整各消化液之 pH 值至 5.0 – 6.0，分

別加入不同量 (0 – 20 mmol) 醋酸銨緩衝溶液 (pH = 6.0), 再加入 50 μL 的 acac。由圖 4-11 得知, 當醋酸銨緩衝溶液的用量少於 7.5 mmol 時, 可能是緩衝容量不足, 未能使食米中溶出的 Be^{2+} 和 acac 形成穩定的螯合物 $\text{Be}(\text{acac})_2$, 因此吸光度較低; 當用量大於 7.5 mmol 時, 可能是鹽類較多, 在灰化時未能盡量將它移除, 致使原子化的吸光度偏低。因此, 醋酸銨緩衝溶液的用量選用 7.5 mmol。

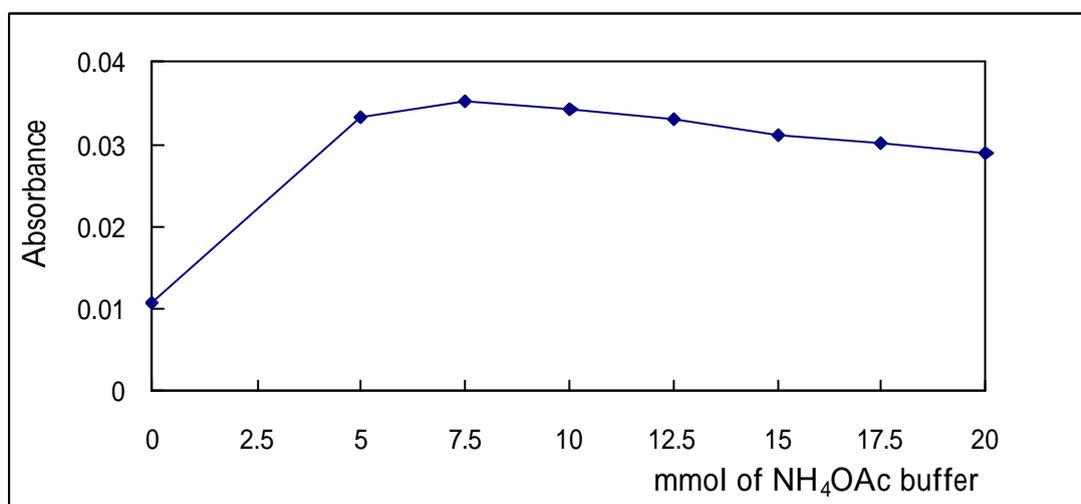


圖 4-11 醋酸銨緩衝溶液用量對鉍吸光度之影響

(3) 醋酸銨緩衝溶液 pH 值之探討

配製五瓶 5.0 M 不同 pH 值 (5.0 – 7.0) 之醋酸銨緩衝溶液, 經微波消化及濃縮等步驟後測鉍, 由圖 4-12 得知, 當 pH 值由 5.0 至 6.0 時, 所得的吸光度逐漸增高, 可能是鉍的物種 $^{52}\text{Be}^{2+}$ 約由 20% 降至 0%, 而 $\text{Be}(\text{OH})_2$ 約由 75% 漸增至 100%, 其中 Be^{2+} 較易以圖 2-4(a) 的方式和 acac 螯合, 而 $\text{Be}(\text{OH})_2$ 則較易以圖 2-4(b) 和 acac 的 enol

form 螯合。當 pH 值 6 時，鈹的物種都以 100% 的 $\text{Be}(\text{OH})_2$ 的形式出現。但當 pH 值為 6.5 至 7.0 時可能有部份的鈹生成 $\text{Be}(\text{OH})_2$ 的沉澱，致使原子化時的吸光度偏低。因此，本研究選用 pH = 6.0 之醋酸銨緩衝溶液。

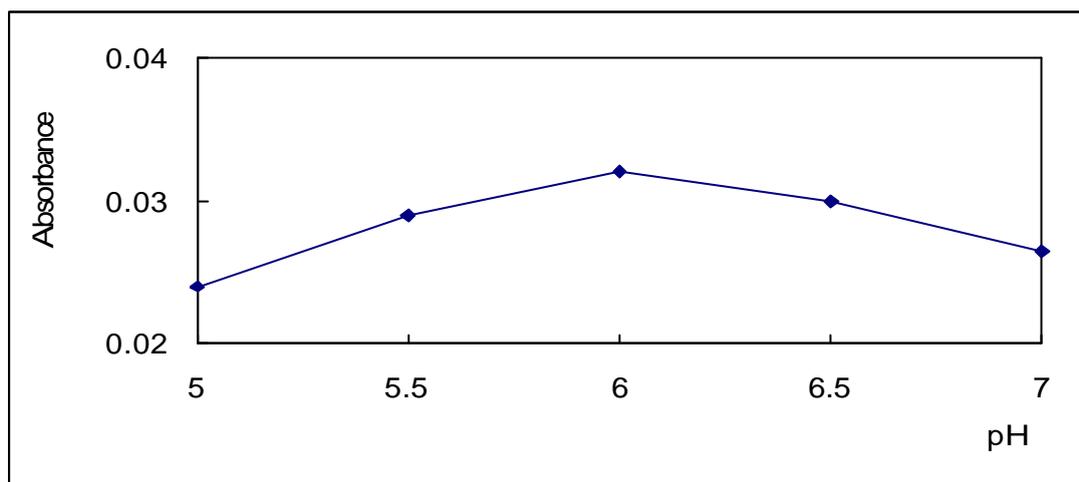


圖 4-12 醋酸銨緩衝溶液之 pH 值對鈹吸光度之影響

二、 檢量線、方法偵測極限和回收率

1. 檢量線

在各項參數探討後，本實驗使用兩種方式配製檢量線，以檢驗樣品的基質經微波消化處理後，對鈹的測定是否有嚴重的干擾，第一種方式是直接將鈹配製在甲醇中之檢量線，即將不同量的鈹（0 至 0.90 ng Be^{2+} in methanol）直接配製在 1.00 mL 甲醇中，內含有 550 μL 之醋酸銨緩衝溶液（pH = 6.0, 2.5 M in methanol）及 50 μL acac，所得 Be^{2+} 之檢量線和線性範圍，如表 4-1 所列。其中，檢量線的代表為 y

$= 5.56 \times 10^{-2}x + 5.0 \times 10^{-4}$ ，線性範圍可達 0.90 ng，線性相關係數 (linear correlation coefficient) 為 0.9997，如圖 4-13(a)所示，數據範例如附錄一所列。

第二種方式是使用標準添加法 (standard addition method) 所得之檢量線，即在 10 ± 0.1 mg 食米樣品 (GBW 08508) 中，添加不同含量 (0 至 0.40 ng) 配製於甲醇中之 Be^{2+} ，靜置隔夜後，經 HNO_3 和 H_2O_2 微波消化等操作步驟，所得 Be^{2+} 之檢量線和線性範圍，如表 4-2 所列；其中，檢量線的代表為 $y = 5.68 \times 10^{-2}x + 1.31 \times 10^{-2}$ ，線性相關係數為 0.9993，如圖 4-13(b)所示。比較表 4-1、表 4-2 和表 4-3 七條檢量線之斜率，其斜率的相對誤差 (relative error) 約在 3.1 % 以內 (relative error of 7 calibration graphs = $5.68 - 5.51 / 5.51 \times 100 = 3.1\%$)，表示食米樣品經微波消化後，樣品基質對鉍的測定沒有大的干擾，所以可以使用直接將鉍配製在甲醇中之檢量線作為食米中鉍之定量之用。食米中鉍的含量可由標準添加法之檢量線外插至 X 軸上求得，由三次所得的平均值為 0.24 ± 0.01 ng Be (或濃度為 24 ± 1 ng/g)，如表 4-2 所列，數據範例如附錄二所列。此外，在標準添加法中，也添加 (0.20-1.20 ng) 配製於甲醇中之 Be^{2+} ，由表 4-3 得知線性可達 1.44 ng。

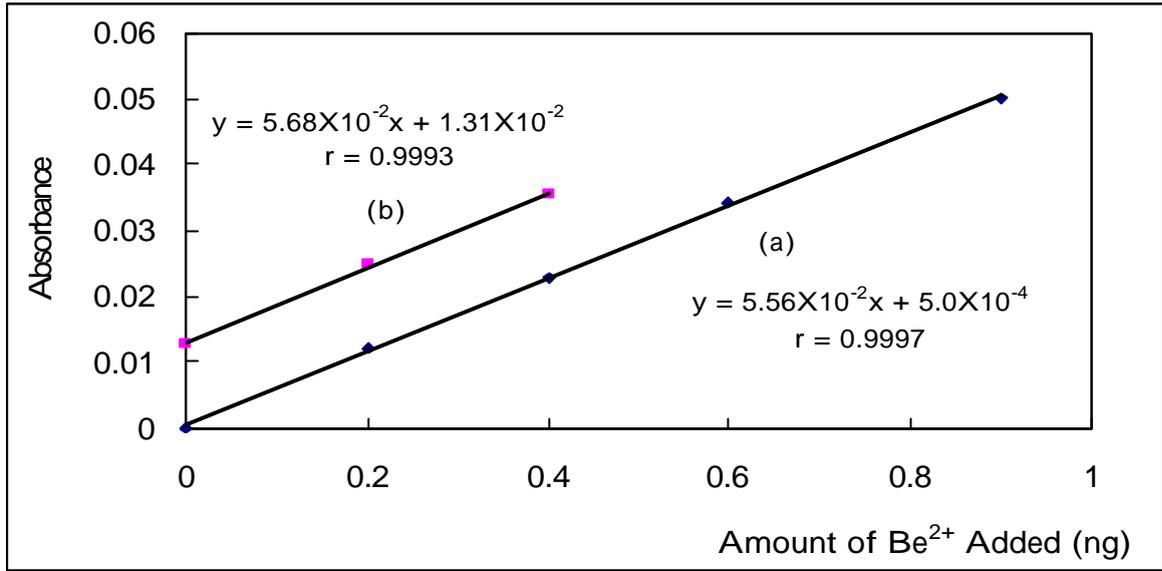


圖 4-13 (a)使用直接將鉍配製於甲醇中之檢量線與(b)標準添加法之檢量線的比較

表 4-1 直接將鉍配製於甲醇中所得之檢量線

Trial #	Calibration graph	Correlation coefficient	Linear range of Be ²⁺ (ng)
1	$y = 5.56 \times 10^{-2}x + 5.0 \times 10^{-4}$	0.9997	0.014 to 0.90
2	$y = 5.51 \times 10^{-2}x - 4.0 \times 10^{-5}$	0.9999	0.014 to 0.60

表 4-2 標準添加法檢量線及食米中 (GBW 08508) 鉍之含量

Trial #	Calibration graph	Correlation coefficient	Amount of Be ²⁺ (ng) ^a
1	$y = 5.65 \times 10^{-2}x + 1.30 \times 10^{-2}$	0.9992	0.23
2	$y = 5.68 \times 10^{-2}x + 1.31 \times 10^{-2}$	0.9993	0.23
3	$y = 5.63 \times 10^{-2}x + 1.43 \times 10^{-2}$	0.9993	0.25

a 添加 0 - 0.40 ng 於 10 mg 食米樣品 (GBW 08508) 由標準添加法之檢量線外插至 X 軸上求得參考樣品中鉍的含量

表 4-3 添加 (0.20-1.20 ng) Be²⁺於食米樣品(GBW 08508)中所得之

檢量線

Trial #	Calibration graph	Correlation coefficient	Linear range of Be ²⁺ (ng)
1	$y = 5.52 \times 10^{-2}x + 1.28 \times 10^{-2}$	0.9998	0.014 ^a to 1.44
2	$y = 5.51 \times 10^{-2}x + 1.33 \times 10^{-2}$	0.9998	0.014 ^a to 1.44

a MDL : 約為 0.014 ng Be²⁺或濃度為 1.4 (ng/g) Be²⁺ for a 10.0 mg

sample.

2. 方法偵測極限 (method detection limit, MDL)

MDL 是取 10 ± 0.1 mg 食米 (GBW 08508) 本身樣品，依照本實驗的操作步驟，將 $\text{Be}(\text{acac})_2$ 濃縮至 1.00 mL 甲醇中，由 cartridge # 1 取出 20 μL 注入 GFAAS 連續 12 次，測得鈹的平均吸光度 (\bar{x}) 和標準偏差 (standard deviation, s)，將 s 乘以三倍，除以直接配製在甲醇中之檢量線斜率，求得方法偵測極限之絕對量。若除以樣品的用量，可以濃度單位表示之。由三次實驗所得 MDL 之平均值為 0.014 ± 0.001 ng (或濃度為 1.4 ± 0.1 ng/g)，如表 4-4 所列，範例如附錄三所列。

表 4-4 使用本方法測得食米中鈹的方法偵測極限 (MDL) 值

Trial #	Sample weight (mg)	MDL (ng)	MDL (ng/g)
1	10.0	0.013	1.3
2	10.0	0.014	1.4
3	10.0	0.015	1.5
Mean		0.014 ± 0.001	1.4 ± 0.1

3. 回收率測試

在作標準添加法時，取六份 10 ± 0.1 mg 食米，其中有三份分別添加 0.20 ng Be^{2+} ，另外三份添加 0.40 ng Be^{2+} ，經 HNO_3 和 H_2O_2 微波消化及濃縮的操作步驟，求得平均回收率落在 99 – 102 % 之間，% RSD ($n=3$) 約在 6.0% 以內，如表 4-5 所列。

表 4-5 添加 Be²⁺於食米參考樣品^a之回收率

Amount of Be ²⁺ (ng)		Recovery (%)	Mean ± S.D.(%) ^b	%RSD
Added	Found			
0.20	0.21	105		
	0.21	105	102 ± 6	6
	0.19	95		
0.40	0.39	98		
	0.39	98	99 ± 1	1
	0.40	100		

a. 取 10 mg 食米參考樣品(GBW 08508) , 含鉍量約為 0.24 ng

b. 由三次實驗所測得的平均值和標準差

第五章 結論與建議

1. 結論：

由於目前在食米參考樣品中尚未有鉍的確認值，因此，本實驗使用標準添加法及 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 作兩階段微波消化測得 10 mg 食米乾燥粉末樣品 (GBW CRM 08508) 中鉍的含量為 0.24 ± 0.01 ng [或濃度為 $24 \pm$ (ng/g)]。方法偵測極限 (MDL) 的絕對量為 0.014 ± 0.001 ng [或濃度為 1.4 ± 0.1 (ng/g)]，線性可達 1.44 ng [或濃度為 144 (ng/g)]。在 10 mg 的食米樣品中 (GBW 08508) 添加 0.20 和 0.40 ng 的 Be^{2+} 時，測得添加回收率為 99 – 102 %，都能落在 100 ± 5 % 內，%RSD (n = 3) 6%，故本方法原則上應可應用於食米中鉍含量 (或濃度) 之測定。

2. 建議：

到目前為止，只做一種食米參考樣品 (GBW 08508) 中鉍的含量，建議繼續做食米參考樣品 (NIST SRM 1568a) 和六種台灣實際食米樣品，以確定本方法的可行性。

由於本實驗屬於微量分析，建議在秤食米樣品時、填充 Oasis cartridge 時、定量至 1.00 mL 時和取 20 μL 樣品注入 GFAAS 時，都需小心操作，使能得到良好的準確度和精密度。

參考文獻

1. Merck Index, 10 th ed., p.166, 1983, Rahway, New Jersey.
2. E. Merian (editor), 1991, “ Metals and Their Compounds in the Environment Occurrence, Analysis and Biological Relevance” , pp. 775-787, VCH Publishers, New York.
3. F. A. Cotton and G. Wilkinson (editor), 1972, “ Advanced Inorganic Chemistry” , 3rd ed., pp.207-208, John Wiley and Sons, New York.
4. “ Beryllium” , World Health Organization (WHO) 網站 :
http://www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Chemical/s/berylliumfull.htm, 1996, World Health Organization, Geneva.
5. B. E. Douglas, D. H. M. Daniel and J. J. Alexander (editor), 1994, “ Concepts and Models of Inorganic Chemistry” , 3rd ed., pp.225, 718-724, John Wiley and Sons, New York.
6. J. T. Kretchik, 2000, “ Beryllium” , *Chemical Health and Safety*, 7, 40.
7. “特定化學物質作業主管安全衛生教育訓練教材” , 民國 88 年修正 , 第四版 , pp. 25-26 , 中華民國工業安全衛生協會編印 , 台北。
8. M. Sitting, 1985, “ Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens” , 2nd ed., pp.125-129, Noyes

Publications, New Jersey.

9. J. L. Burguera, M. Burguera, C. Rondón, P. Carrero, M. R. Brunetto and Y. Petit de Peña, 2000, "Determination of beryllium in natural and waste waters using on-line flow-injection preconcentration by precipitation/dissolution for electrothermal atomic absorption spectrometry", *Talanta*, **52**, 27.
10. I. Nukatsuka, K. Sakai, R. Kudo and K. Ohzeki, 1995, "Studies on the adsorption of trace amounts of beryllium(II) on the surface of silica fibres from an aqueous phase for the development of a novel enrichment technique for electrothermal atomic absorption spectrometry", *Analyst*, **120**, 2819-2822.
11. J. R. Merrill, M. Honda and J. R. Arnold, 1960, "Methods for separation and determination of beryllium in sediments and natural waters", *Anal. Chem.*, **32**, 1420-1426.
12. B. J. Alloway and D. C. Ayres (editor), 1997, 2nd ed., "Chemical Principles of Environmental Pollution", pp. 49, **208**, Blackie Academic and Professional, London.
13. I. A. Saleh and I. A. Doush, 1998, "Survey of trace elements in household and bottled drinking water samples collected in Riyadh, Saudi Arabia", *Sci. Total Environ.*, **216**, 181-192.
14. T. Okutani, Y. Tsuruta and A. Sakuragawa, 1993

- “Determination of a trace amount of beryllium in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after preconcentration and separation as a beryllium-acetylacetonate complex on activated carbon” *Anal. Chem.*, 65, 1273-1276.
15. M. C. Valencia, S. Boudra and J. M. Bosque-Sendra, 1993, “Determination of trace amounts of beryllium in water by solid-phase spectrophotometry”, *Analyst*, 118, 1333-1336.
16. “Beryllium and compounds”, USEPA 網站：
<http://www.epa.gov/ttn/uatw/hlthef/berylliu.html>
17. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1992, “Toxicological Profile for Beryllium (draft)”, U. S. Public Health Service, U. S. Department of Health and Human Service, Atlanta, Georgia.
18. “Current drinking water standards”, USEPA 網站：
<http://www.epa.gov/safewater/mcl.html>
19. J. Kubová, V. Nevoral and V. Streško, 1994, “Determination of beryllium trace contents in mineral waters after preconcentration on a chelating ion-exchanger”, *Fresenius' J. Anal. Chem*, 348, 287-290.
20. B. Frengstad, A. K. M. Skrede, D. Banks, J. R. Krog and U. Siewers, 2000, “The chemistry of Norwegian groundwaters: III. The distribution of trace elements in 476 crystalline

- bedrock groundwaters, as analysed by ICP-MS techniques”,
Sci. Total Environ., 246, 21-40.
21. H. Vanhoe, C. Vandecasteele, B. Desmet and R. Dams, 1988,
“Determination of beryllium in environmental samples by
electrothermal atomic absorption spectrometry”, *J. Anal. At.
Spectrom.*, 3, 703-707.
 22. National Institute for Occupational Safety and Health, 1972,
Recommendations for an occupational exposure standard for
beryllium, NIOSH Criteria Document TR-003-72, PB-210-806
NTIS, U. S. Department of Commerce, Washington, D. C.
 23. A. W. Stange, D. E. Hilmas and F. J. Furman, 1996, “Possible
health risks from low level exposure to beryllium”, *Toxicology*,
111, 213.
 24. I. Chamberlain , K. Adams , and S. Le , 2000 , “ICP-MS
determination of trace elements in fish” , *At. Spectrosc.* , 21 ,
118-122.
 25. 李嘉真 , 2001 , “以石墨式原子吸光法測定頭髮中鈹之研究” ,
私立東海大學環境科學系碩士論文 , 台中.
 26. M. T. Hsu, M. H. Chen, S. R. Yang, and M. S. Kuo, 2004,
“Application of Acetylacetone Chelation Solid-Phase
Extraction to GFAAS Measurements of Trace Amounts of
Beryllium in Marine Organisms”, *Anal. Sci.*, 20, 1697-1700.
 27. T. Stiefgl, K. Schulze, G. Toelg and H. Zorn, 1976,

- “Determination of beryllium in biological materials by flameless atomic-absorption spectrometry”, *Anal. Chim. Acta*, 87, 67-78.
28. J. L. Burguera, M. Burguera, C. Rondon and P. Carrero, 1999, “Semi-permanent lutetium modifier for determination of beryllium in urine by electrothermal atomic absorption spectrometry”, *Spectrochim. Acta, Part B*, 54, 1743-1753.
29. H. C. Wang, H. W. Peng and M. S. Kuo, 2001, “Determination of beryllium and selenium in urine and of selenium in human serum by graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry”, *Anal. Sci.*, 17, 527-532.
30. C. B. Rhoades, 1996, “Clean laboratory chemistry for the microwave-assisted digestion of botanical samples”, *J. Anal. At. Spectrom.*, 11, 751-757.
31. M. Meneses, J. M. Llobet, S. Granero, M. schuhmacher and J. L. Domingo, 1999, “Monitoring metals in the vicinity of a municipal waste incinerator : temporal variation in soil and vegetation”, *Sci. Total Environ.*, 226, 157-164.
32. W. R. Wolf, M. L. Taylor, B. M. Hughes, T. O. Tiernan and R. E. Sievers, 1972, “Determination of chromium and beryllium at the picogram level (in biological and in environment samples) by gas chromatography-mass spectrometry”, *Anal. Chem.*, 44, 616-618.

33. W. Bashir and B. Paull, 2001, "Sensitive and selective ion chromatographic method for the determination of trace beryllium in water samples", *J. Chromatogr. A*, 910, 301-309.
34. H. B. Singh, N. K. Agnihotri and V. K. Singh, 1998, "Determination of trace amounts of beryllium using derivative spectrophotometry in non-ionic micellar medium", *Talanta*, 47, 1287-1296.
35. D. A. Skoog, F. J. Holler, and T. A. Nieman, 1998, "Principles of instrumental analysis", 5th ed., Thomson Learning, Inc., U.S.A., pp. 210-220.
36. D. A. Skoog, D. M. West and F. J. Holler, 1996, "Fundamentals of analytical chemistry", 7th ed., pp. 611-629, Philadelphia, Saunders College Publishing.
37. 紀柏享, 楊末雄, 孫毓璋, 1998, "微波消化之方法與應用", *Chemistry (R.O.C)*, 56, 269-284.
38. 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.
39. F. E. Smith and E. A. Aresenault, 1996, "Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry", Review, *Talanta*, 43, 1207-1268.
40. K. J. Lamble and S. J. Hill, 1998, "Microwave digestion

- procedures for environmental matrices”, Critical Review, *Analyst*, 123, 103R-133R.
41. R. N. Sah and R. O. Miller, 1992, “Spontaneous reaction for acid dissolution of biological tissues in closed vessels”, *Anal. Chem.*, 64, 230-233.
 42. 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.
 43. Water Co., 1999, “固相萃取(SPE)之應用及最新技術發展”, *connections*, 1, p.3.
 44. D. Rood, 1995, “The use of solid phase extraction for environmental samples”, In Quality Assurance in Environmental Monitoring : Instrumental Methods, eds. Smbramanian, G., VCH Publishers, New York.
 45. J. A. Adam , E. Booth , and J. D. H. Strickland , 1952, “The determination of microgram amount of beryllium using acetylacetone”, *Anal. Chim. Acta*, 6, 462-471.
 46. M. Takaya, 1999, “Development of an analytical method for beryllium in airborne dust by micellar electrokinetic chromatography”, *J. Chromatogr. A*, , 850, 363-368.
 47. A. Ringbom, 1963, “Complexation in Analytical Chemistry”, Interscience Publishers, John Wiley and Sons, New York, p.321.

48. C. C. Li and M. S. Kuo , 2002 , “ Application of the acetylacetone chelation solid-phase extraction method to measurement of trace amounts of beryllium in human hair by GFAAS” , *Anal. Sci.*, 18, 607-609.
49. H. W. Peng and M. S. Kuo , 2000, “ Determination of trace amounts of beryllium in drinking water and of beryllium vapor in air by GFAAS using acetylacetone as a chelating agent” , *Anal. Sci.* , 16, 157-161.
50. Y. Hayashibe, F. Watai, Y. Enoki, K. Oguma and R. Kuroda, 1989,“ Determination of trace beryllium in biological materials by a combined ion-exchange –graphite furnace atomic absorption spectrometry” , *Anal. Sci.*, 5, 531-533.
51. L. Shoupu, Z. Mingoiao and D. Chuanyue, 1994, “ Separation and determination of trace amounts of beryllium, aluminium and chromium with chromotrope 2C chelates by RP-HPLC ” , *Talanta*, 41, 279-282.
52. M. Ochs and S. Ivy-Ochs, 1997, “The chemical behavior of Be, Al, Fe, Ca and Mg during AMS target preparation from terrestrial silicates modeled with chemical speciation calculation” , *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res., B*, 123, 235-240.

附錄一 直接將鉍配製在甲醇中之檢量線〔數據範例〕

Amount of Be () (ng)	Absorbance
0	0
0.20	0.0120
0.40	0.0229
0.60	0.0343
0.90	0.0501

Calibration graph	$y = 5.56 \times 10^{-2}x + 5.0 \times 10^{-4}$
Correlation coefficient	$r = 0.9997$

附錄二 使用標準添加法所得之檢量線〔數據範例〕

數據範例 (1)

Amount of Be () added (ng)	Absorbance		
	Cart. # 2	Cart. # 1	Sum
0	0.0048	0.0080	0.0128
0.20	0.0045	0.0204	0.0249
0.40	0.0056	0.0299	0.0355
Calibration graph	$y = 5.68 \times 10^{-2}x + 1.31 \times 10^{-2}$		
Correlation coefficient	$r = 0.9993$		
Amount of Be in the sample	Let $y = 0$ $x = 0.23$ (ng) Be		

數據範例 (2)

Amount of Be () added (ng)	Absorbance		
	Cart. # 2	Cart. # 1	Sum
0	0.0035	0.0092	0.0127
0.20	0.0040	0.0208	0.0248
0.40	0.0045	0.0308	0.0353
Calibration graph	$y = 5.65 \times 10^{-2}x + 1.30 \times 10^{-2}$		
Correlation coefficient	$r = 0.9992$		
Amount of Be in the sample	Let $y = 0$ $x = 0.23$ (ng) Be		

附錄三 如何求得 MDL 之範例

樣品重 (GBW 08508) = 10.0 mg

依本實驗操作步驟，最後濃縮至 1.00 mL 甲醇中，由 cartridge # 1 中的甲醇溶液取出 20 μ L 注入 GFAAS，重複 12 次，得到吸光度如下：

0.0092	0.0092	0.0093	0.0098	0.0098	0.0097
0.0093	0.0095	0.0097	0.0093	0.0093	0.0096

$n = 12$

平均值 (\bar{x}) = 0.0095

標準偏差 (s) = 0.00023

$MDL = 3s/m = 6.9 \times 10^{-4} / 5.56 \times 10^{-2} = 0.013 \text{ (ng)}$

或 MDL 濃度值 = $0.013 \text{ (ng)} / 0.0100 \text{ (g)} = 1.3 \text{ (ng/g)}$

m 為直接將鉍配製在甲醇中之檢量線 (如 $y = 5.56 \times 10^{-2}x + 5.0 \times 10^{-4}$)

之斜率

附錄四 添加 (0.20-1.20 ng) Be²⁺於食米樣品所得之檢量線

Amount of Be () added (ng)	Absorbance		
	Cart. # 2	Cart. # 1	Sum
0	0.0046	0.0080	0.0126
0.20	0.0034	0.0204	0.0238
0.40	0.0038	0.0331.	0.0349
0.90	0.0039	0.0594	0.0633
1.20	0.0040	0.0745	0.0785

Calibration graph $y = 5.52 \times 10^{-2}x + 1.25 \times 10^{-2}$

Correlation coefficient $r = 0.9998$

附錄五 實驗流程圖

