

# 液相層析質譜於環境分析之應用

## Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Environmental Analysis

陳崇宇、李茂榮

Chung-Yu Chen, Maw-Rong Lee

液相層析質譜於環境分析新方法發展上扮演一個重要的角色，本文將回顧介紹液相層析質譜在環境分析上之應用，其中包括水樣中殺蟲劑與除草劑之分析，介面活性劑、磺胺類抗生素、多環芳香族碳氫化合物、染料及鹵醋酸類化合物之分析。

LC/MS plays an important role in the development of new analytical strategies for environmental analysis. This article reviews the applications of LC/MS in some of the field of environmental analysis including analysis of pesticides and herbicides in water, surfactants, sulfonamides, polycyclic aromatic hydrocarbons, dyes, as well as haloacetic acids analysis.

### 一、前言

環境中污染物之種類繁多，通常來自人類經濟活動之產物和人為的疏忽，例如工廠的廢棄物、一般住家的排放污染物、焚化爐的灰燼、汽機車等交通工具所排放之廢氣、農業上使用的農藥與環境衛生用藥等。也因這些環境污染物使得我們生活環境裡的空氣、土壤和水皆遭受到不同程度的污染，這些污染物也會經由食物鏈而進入人體中，導致我們的食物安全性也堪慮。而環境污染物的殘存量低，穩定性不高，又加上環境樣品具有複雜之基質，因此在環境分析上，環境樣品需經過適當的萃取與淨化，以除去樣品中之干擾物，再利用適當之分析儀器分析鑑定並定量。

一般常被用於分析環境污染物之分析儀器為氣

相層析儀 (gas chromatograph, GC)、氣相層析質譜儀 (gas chromatograph/mass spectrometer, GC/MS)、高效能液相層析儀 (high performance liquid chromatograph, HPLC) 與液相層析質譜儀 (liquid chromatograph/mass spectrometer, LC/MS) 等。其中氣相層析儀與氣相層析質譜儀對於複雜混合物的分析是應用最廣且最有效的儀器，但其所分析的化合物，先決條件是必須具有揮發性或熱穩定性。對於揮發性較差或熱不穩定的分析物，則需要經過衍生化反應 (derivatization) 後，才可以利用氣相層析儀與氣相層析質譜儀分析。而環境污染物通常多為揮發性較低或熱不穩定之化合物，因此通常在分析環境污染物時，為了避免經過繁雜的衍生化步驟，通常都是以液相層析儀做為分離的工具。

傳統之液相層析儀所使用之偵測器通常為紫外

光—可見光偵測器 (UV-VIS detector)、螢光偵測器 (fluorescence detector) 和光偶極列陣式偵測器 (photodiode array detector, PDA) 等，而上述偵測器通常是以滯留時間 (retention time) 作為判斷分析物的主要依據，最大的缺點為無法提供確認分析物或提供推測分析物結構的訊息。若以質譜儀作為偵測器則可以提供不同滯留時間的質譜圖，且質譜儀具有高靈敏度 (sensitivity) 和高選擇性 (selectivity)，故質譜儀成為環境微量污染物分析上不可或缺之偵測器。除此之外，質譜儀之選擇離子模式 (selected ion monitoring, SIM) 與選擇反應偵測模式 (selected reaction monitoring, SRM)，可以避免真實樣品中其他基質的干擾，進而增加選擇性與提高訊號雜訊比 (signal to noise ratio, S/N)，降低偵測極限。由於環境樣品大多屬於複雜基質，因此液相層析質譜儀為最適合作為分析環境樣品之偵測器。而本文將簡單介紹液相層析質譜儀 (LC/MS) 及液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 在環境分析上的應用。

## 二、LC/MS 於環境分析之應用

由於目前環境污染物的種類眾多，本文將針對利用 LC/MS 分析一般常見的環境污染物如：農藥、介面活性劑 (surfactants)、磺胺類化合物 (sulfonamides)、多環芳香族碳氫化合物 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)、染料與鹵醋酸類化合物 (haloacetic acids) 等做簡單的介紹。

### 1. 農藥之分析

農藥原為保護農作物的藥劑，用於土壤的消毒、種子的殺菌，從種子發芽到開花結果，其間病蟲害的防治，以及雜草的驅除等。目前農藥廣義的解釋是以化學方法控制農業上對人類有害的生物 (包括動、植物、原始生物) 的化合物，皆可稱為農藥 (pesticides 或 agrochemicals)。農藥依使用目的可以分為殺蟲劑、殺菌劑、殺草劑、植物生長調節劑等許多不同的種類。使用農藥雖然可以增加農作物的產量及疾病媒介動物之減少，但是農藥使用後，只有極少部分進入目標物，根據 Von Rumler 等人<sup>(1)</sup> 研究，估計葉部噴灑殺蟲劑僅有 1% 的量會進入昆

蟲體，而大部份則分佈於空氣、河水、土壤及農作物中。也因如此，農藥會藉由食物鏈或其他的管道進入人體而造成人們身體上之病變甚至死亡，因此分析自然環境中與食品中之農藥殘留變成一項重要課題。

對於微量殘存農藥的分析，液相層析質譜儀可作為一個高靈敏度與高選擇性的偵測工具。Galceran 等人<sup>(2)</sup>，曾以 SPE 結合 LC/MS 分析水中 diquat (DQ), difenzoquat (DF), mepiquat (MQ), chlormequat (CQ) 和 paraquat (PQ) 五種四級胺鹽類除草劑 (quaternary ammonium herbicides)。其前處理方法為將水樣 pH 調整至 pH 9 後，以每分鐘 2—3 毫升之流速通過矽填充材質 (silica cartridges) 吸附後，再用 2 毫升含有 8% 之 6 M 鹽酸沖提。沖提出之溶液蒸乾並以液相層析之動相溶解，再利用液相層析質譜儀分析，所使用的游離化方式為電灑游離法與大氣壓化學游離法兩種不同之游離化方式。分析結果對於這五種四級胺鹽類除草劑標準溶液之線性範圍為 10—700 ng/L，將標準品添加於飲用水中之偵測極限介於 0.1—4 µg/L。

Jeannot 等人<sup>(3)</sup> 以液相萃取與固相萃取等不同的萃取方式，結合液相層析質譜儀分析地表水中四十八種殺蟲劑。對於不同性質的殺蟲劑使用不同的游離化方式，對於酸性殺蟲劑如 phenoxyalkanoic 和 sulfonylurea 等使用電灑游離法負離子模式，而其餘的化合物是使用大氣壓化學游離法正離子模式。實驗的結果對於十一種目標分析物偵測線性範圍為 20—900 ng/L，以 LC/MS 分析之偵測極限為 20—100 ng/L，若以 LC/MS/MS 分析時則偵測極限更可達到 2—6 ng/L。

### 2. 界面活性劑

界面活性劑被廣泛的應用於工業用途或是家庭的使用。但由於界面活性劑部份的毒性可能會對於生態有影響，因此許多國家的法令規定必須使用可被生物分解之界面活性劑。雖然如此，界面活性劑與其降解產物 (degradation products) 仍然可以在地表水 (surface water) 中被發現。傳統界面活性劑之偵測方法為選擇性不佳且不靈敏的，這是因為界面活性劑的本性是高極性、高水溶性的物質。且其本

身的揮發性不高，因此利用 GC 或 GC/MS 分析界面活性劑時，需要經過繁雜之衍生化步驟，才可以利用氣相層析的方式將界面活性劑分離。若是以一般的 HPLC 分析時，由於受限於傳統偵測器選擇性不佳的缺點，使得分析界面活性劑時無法得到較佳的液相層析圖，使用質譜儀為 LC 分離後的偵測器可提供較高選擇性，對於樣品中微量的界面活性劑之分析有較佳的效果。

Hites 等人<sup>(4)</sup> 以 SPE 作為前處理方式，結合以連續流動式快速原子撞擊法作為介面之液相層析質譜儀，分析水中 linear alkylbenzensulfonate 陰離子界面活性劑 (anion surfactant)。實驗結果對於標準品可以得到定量線性範圍為 1–100 ng，偵測極限為 1 ng。Levine 等人<sup>(5)</sup> 以液相層析質譜儀分析水樣中之 cocamidopropylbetaine (CAPB) 兩性型界面活性劑 (amphoteric surfactant) 與 alcohol polyethoxylate (AE) 非離子型界面活性劑 (nonionic surfactant)。其前處理方式為以一注射針吸取水樣後，再將樣品通

過一 0.2  $\mu\text{m}$  nylon 材質的過濾膜後即可進行分析。而分析條件為利用 C18 的液相層析管柱，並以甲醇與 0.03 M 的醋酸胺溶液做梯度沖提分離後，再利用電灑游離法正離子模式將樣品離子化，最後以質譜儀分析，由此分析方法所得到的層析質譜圖如圖 1 所示。所得分析之結果為對於 CAPB 化合物之線性範圍為 0.5–250 ng ( $r^2 > 0.996$ )，對於 AE 化合物之線性範圍為 8–560 ng ( $r^2 > 0.998$ )，而對於 CAPB 之定量極限為 0.025 ng，對於 AE 之定量極限為 0.4 ng。

### 3. 磺胺類化合物

近數十年來，有關食品衛生、食物中毒及食品中藥物殘留等安全問題案例越來越多，可見食品安全問題是當前社會重要的課題之一。而在食品安全問題中，又以抗生素的使用最受到重視與探討。抗生素是用以對抗會使生物體生病的細菌、濾過性病毒、黴菌和原蟲等，是一種用來預防或治療生物性

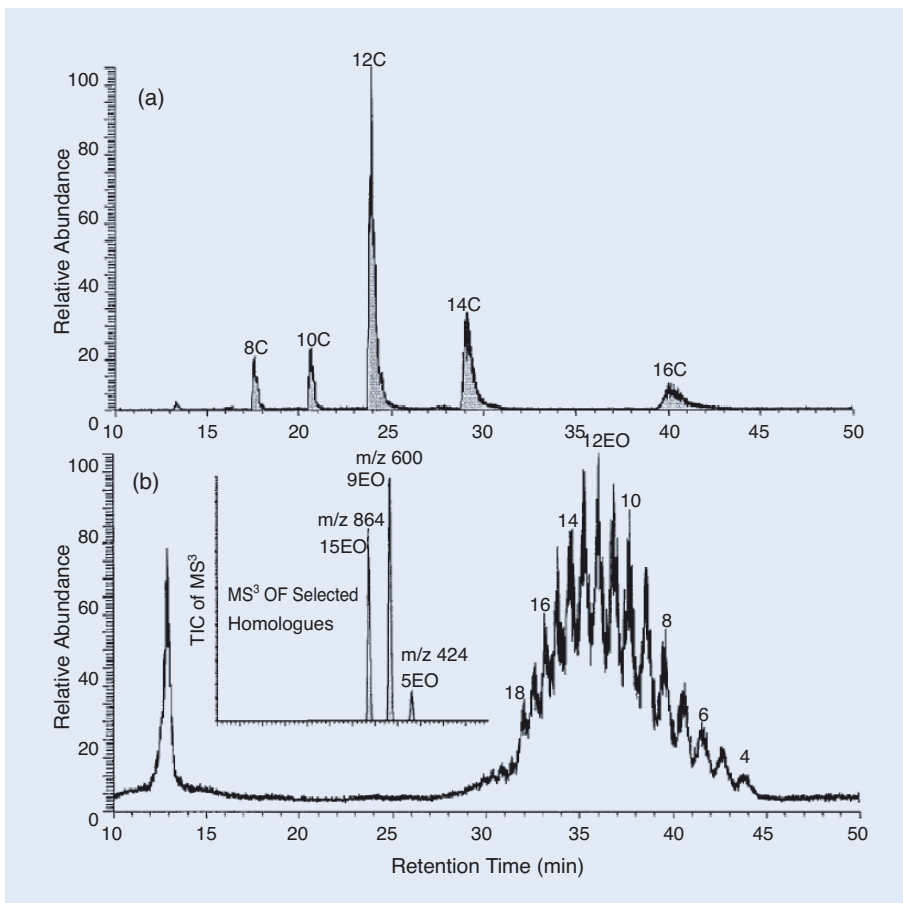
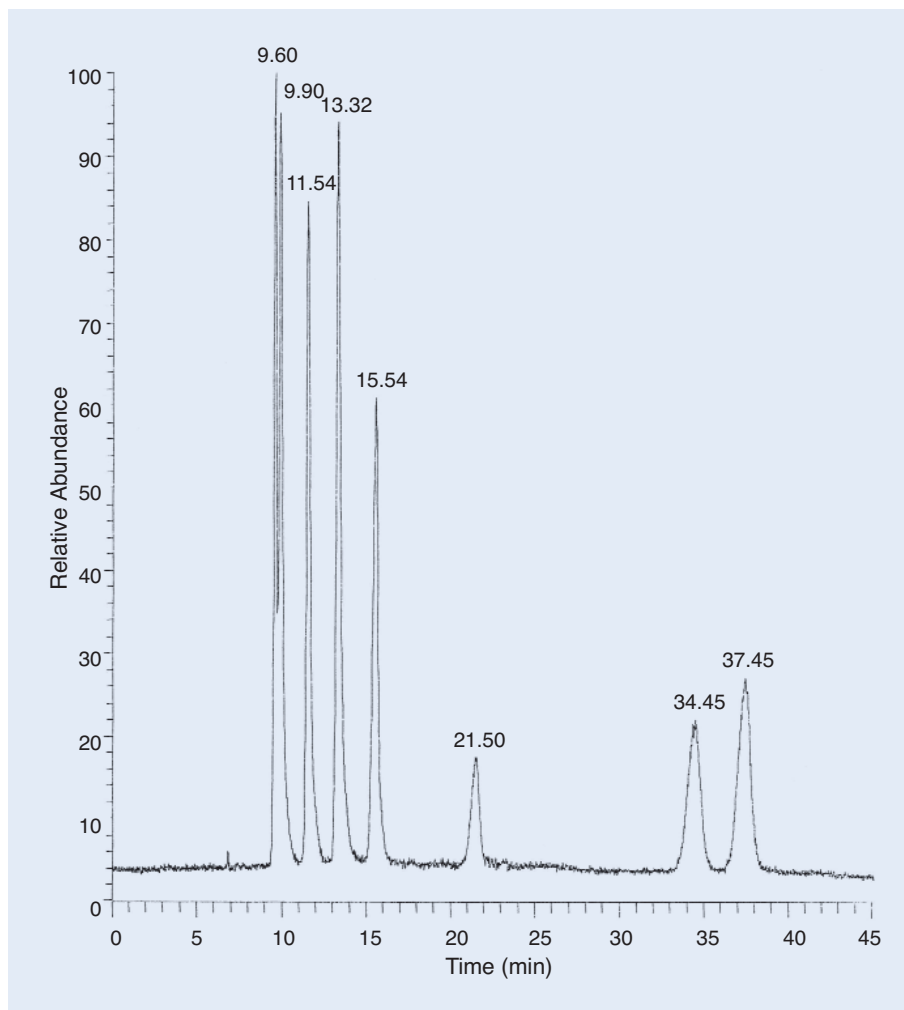


圖 1. 以 HPLC-ESI-MS 分析分析樣品中 (a) CAPB (b) AE 之質譜層析圖<sup>(5)</sup>。

圖 2.  
濃度 500  $\mu\text{g/L}$  之八種磺胺類  
藥物經 SPME-LC/ APCI/MS  
分析後所得之層析質譜圖<sup>(6)</sup>，  
訊號由左至右分別為 SDZ、  
STZ、SMR、SMT、SMMX、  
SMXZ、SQX 與 SDMX。



病菌的藥物，其主要的功能為抗菌及增進生物體的生長。在畜牧業方面，飼主為了預防治療各種家禽、家畜的疾病，或增進其成長速度，因此在飼料中添加抗生素。磺胺類劑是抗生素中最廣為人知的。磺胺類劑被廣泛的使用於動物上，尤其是家禽、家畜的飼料添加劑，做為預防治療細菌感染，或作為生長促進劑。但由於磺胺類劑在文獻中被報導可能引起人體的不適感，也可能引起過敏反應，因此磺胺劑已被各國法令限制使用。因此發展出一套有效分析磺胺類之方法來監控管制磺胺類劑的使用量是有其必要性的。

磺胺類是胺苯醯胺 (sulfanilamide) 的衍生物，磺胺類化合物 (sulfonamides) 都是由 sulfamide group 衍生取代產生。本實驗室曾利用固相微萃取 (solid phase microextraction, SPME) 結合液相層析質譜儀

來分析食品中之八種磺胺類。實驗結果顯示固相微萃取以 65  $\mu\text{m}$ -PDMS/DVB 的塗覆纖維，萃取溫度 30  $^{\circ}\text{C}$ 、萃取時間 40 分鐘，並以 25% 乙腈水溶液為脫附溶劑，靜態脫附時間為 15 分鐘，動態脫附 1 分鐘為固相微萃取之最佳化條件。以 C18 的液相層析管柱分離後，以大氣壓化學游離法將樣品離子化後進入質譜分析，圖 2 為利用此分析方法所得之層析質譜圖。以此方法偵測豬肉中八種磺胺類化合物所得的精密度在 8–15% 之間，回收率分布於 4–27% 之間，而線性範圍在 50–2000  $\text{ng/g}$  之間，偵測極限則介於 16 (SMT) 到 39  $\text{ng/g}$  (SMMX) 之間。將此技術應用於市售的豬肉樣品中磺胺類含量之偵測，分析結果在部份肉品中殘留的磺胺類劑 sulfadiazine (SDZ) 濃度為 66  $\text{ng/g}$ 、sulfamerazine (SMR) 為 72  $\text{ng/g}$ 、sulfamonomethoxine (SMMX) 濃

| PAHs 名稱                            | 線性範圍<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | 線性相關係數<br>( $r^2$ ) | 偵測極限<br>( $\mu\text{g/L}$ ) |
|------------------------------------|-----------------------------|---------------------|-----------------------------|
| Benzo (a) anthracene<br>+ Chrysene | 5–100                       | 0.9944              | 3                           |
| Benzo (k) fluoranthene             | 0.08–100                    | 0.9947              | 0.05                        |
| Benzo (a) pyrene                   | 0.08–100                    | 0.9954              | 0.03                        |
| Dibenzo (a,h) anthracene           | 0.08–100                    | 0.9901              | 0.06                        |
| Benzo (g,h,i) pyrene               | 0.08–100                    | 0.9970              | 0.03                        |
| Indeno (1,2,3-c,d) pyrene          | 0.08–100                    | 0.9928              | 0.04                        |

表 1.

以固相微萃取經液相層析質譜儀分析水中 PAHs 之線性範圍、線性相關係數與偵測極限<sup>(9)</sup>。

度為 57–87 ng/g 之間、sulfamethoxazole (SMXZ) 濃度為 101 ng/g、sulfaquinolaxin (SQX) 濃度在 57–157 ng/g 之間、sulfadimethoxine (SDMX) 濃度在 52–102 ng/g 之間。

#### 4. 多環芳香族碳氫化合物

由於環保意識的抬頭，多環芳香族碳氫化合物 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 備受國際間的重視，乃因 PAHs 具高致癌性及致突變性，對人體有潛在的危險。美國環境保護署 (US Environmental Protection Agency, EPA) 在 1996 年參考保護天然資源會議結果，列出一百二十九種優先污染物<sup>(7)</sup>，其中 PAHs 就佔了十六種。由於多環芳香族碳氫化合物之沸點皆相當高，因此利用 GC 或 GC/MS 分析多環芳香族碳氫化合物時，所需花費的層析時間較長，且訊號會有拖尾的現象發生。因此利用 HPLC 或 LC/MS 分析多環芳香族碳氫化合物為較佳的選擇。Marce 等人<sup>(8)</sup> 將水樣通過以 styrene-divinylbenzene copolymer (PLRP-s) 做為填充材質的 SPE 管柱進行萃取，以液相層析儀分離後以大氣壓化學游離法將樣品離子化，再以質譜儀分析水樣中十種 PAHs 與其他多環雜環化合物。利用此分析方法對於 PAHs 化合物之線性範圍為 0.006–100  $\mu\text{g/L}$ ，偵測極限介於 0.003–0.3  $\mu\text{g/L}$ ，相對標準偏差介於 6–13% 之間 ( $n = 3$ )。

本實驗室曾以固相微萃取法萃取 PAHs 化合物，再結合液相層析質譜儀進行分析。實驗結果顯示對於 PAHs 化合物，以 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB 的塗覆纖維萃取效果最佳，吸附溫度 60 °C、吸附時間 90 分鐘為最佳之吸附條件。以 100% 乙腈作為脫

附溶劑浸泡時間兩分鐘，動態脫附 2.2 分鐘之脫附效果最好。脫附後溶液以 C18 之液相層析管柱分離，以大氣壓化學游離法作為游離化方式，最後再以質譜儀進行分析。以此方式分析水中 PAHs 之線性範圍為 0.08–100  $\mu\text{g/L}$ ，線性相關係數為 0.9901–0.997，相對標準偏差為 9–21%，偵測極限為 0.03–3  $\mu\text{g/L}$ 。

#### 5. 染料

染料 (dyes) 被廣泛使用於許多方面之著色上，最常見的為應用於紡織品上之染色及做為食品染色用 (食用色素)，其他還有紙製品之染色，以及添加於汽油中之染料用於辨別不同種類汽油。由於染料不易從環境樣品中移除，且部份染料可能為造成有機體突變及導致癌症之化合物，因此染料之殘留已成為環境上的問題。Voyksner 等人<sup>(10)</sup> 以矽膠 (silica gel) 做為 SPE 之吸附劑萃取汽油中之染料，以 C18 做為 SPE 之吸附劑萃取廢水中之染料，至於土壤樣品的處理為加水後以超音波震盪十分鐘後，所得溶液再經以矽膠為填充劑的 SPE 管柱進行萃取。所得到的萃取液以 C18 之液相層析管柱分離後，分別以波長為 254 nm 之 UV 偵測器分析，以及使用熱灑法做為游離化方法之質譜分析，圖 3 為其層析圖。由此分析方法偵測環境樣品廢水中之染料濃度最低可達 10 ppt，土壤中可達 100 ppb，汽油中則為 1 ppm。

#### 6. 鹵醋酸類化合物

鹵醋酸類化合物 (haloacetic acids) 為淨水場為了改善原水水質惡化，而於淨水程序之初，在原木

中添加氯來消滅水中微生物病源體以及氧化水中氨氣及有機化合物，所產生之氯消毒副產物 (disinfection byproducts, DBPs)。鹵醋酸類化合物水溶性高，對於人體與植物為有毒性之物質。其中二氯醋酸 (dichloroacetic acid)、三氯醋酸 (trichloroacetic acid) 被認為會影響人體膽固醇的代謝，可能會產生突變 (mutagenicity)、畸形 (deformity) 等病變，甚至導致肝癌發生，因此，水中鹵醋酸類化合物之偵測成為目前國際間受矚目的焦點。

Magnuson 等人<sup>(11)</sup> 在水樣中加入硫酸酸化，再添加硫酸鈉與硫酸銅混合搖晃四分鐘後，最後以 MTBE 進行液液萃取。將所得到的萃取液利用流動注射 (flow injection) 的方式注入液相層析質譜儀分析水中九種鹵醋酸類化合物，而其所使用的離子化

方法為電灑游離法。實驗結果以此分析方法偵測鹵醋酸類化合物之偵測極限皆小於  $1 \mu\text{gL}^{-1}$ ，至於真實樣品則是以標準添加法來定水樣中鹵醋酸類化合物之含量。

Barceló 等人<sup>(12)</sup> 則是利用 LiChrolut EN 作為 SPE 管柱之吸附劑，使用甲醇與 pH 2.5 的水活化 SPE 管柱，再將待測水樣注入管柱中，以一毫升 pH 2.5 的水做清洗動作後以水-甲醇-丙酮之混合溶劑四毫升將鹵醋酸類化合物沖提出來。將沖提出的溶液以氮氣吹乾至剩下  $300 \mu\text{L}$ ，注入液相層析管柱進行分離。其液相層析管柱為 C18 之材質，動相組成是以含有 5 mM triethylamine 的水與乙腈做梯度沖提。分離後以電灑游離法負離子模式將樣品離子化，在進入質譜儀分析，層析質譜圖如圖 4

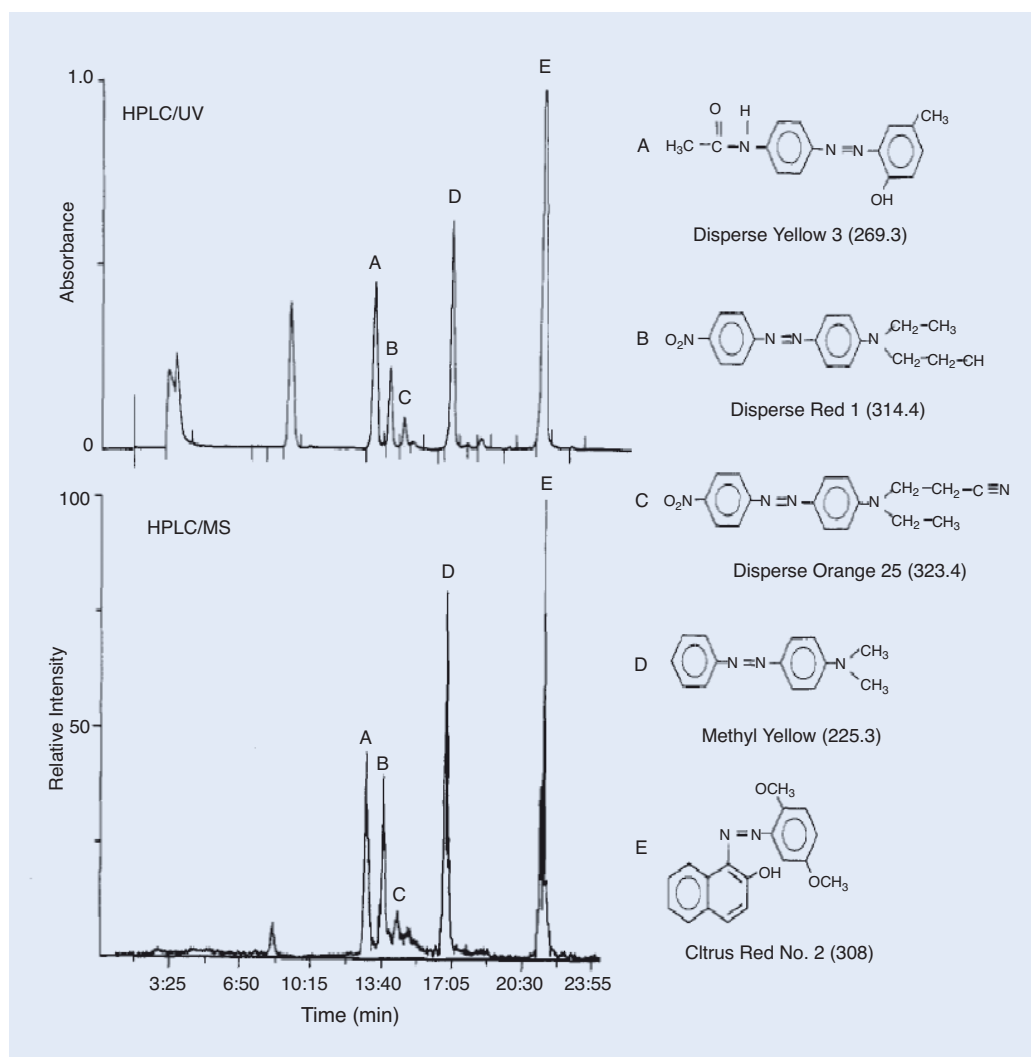


圖 3. 以 HPLC/UV 與 HPLC/MS 分析五種不同染料之層析圖及五種染料之化學結構<sup>(10)</sup>。

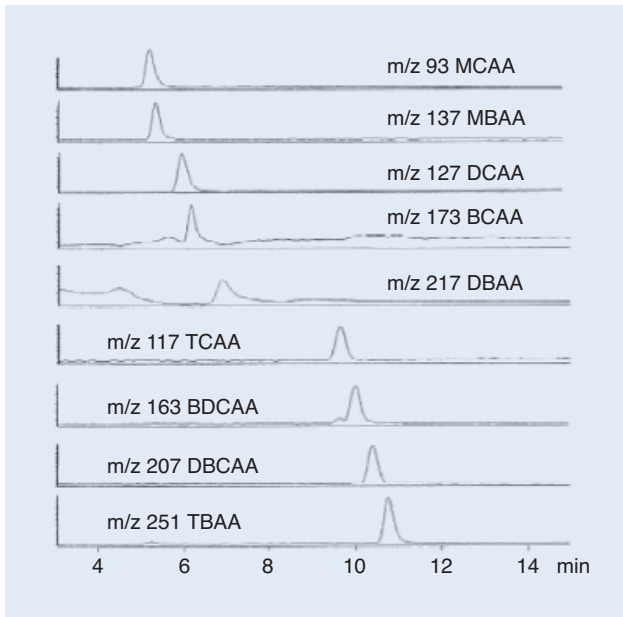


圖 4. 以 LC/MS 選擇離子模式偵測九種鹵醋酸類化合物之層析質譜圖<sup>(12)</sup>。

所示。實驗結果此分析方法偵測水中鹵醋酸類化合物之線性範圍介於 0.02–200 mg/L 之間，偵測極限介於 0.1–1.6  $\mu\text{g/L}$  之間。Barcelo 將此分析方法應用於真實樣品之分析，結果證明此方法可以成功偵測到水中所含之微量鹵醋酸類化合物，而分析真實樣品之層析質譜圖如圖 5 與圖 6 所示。

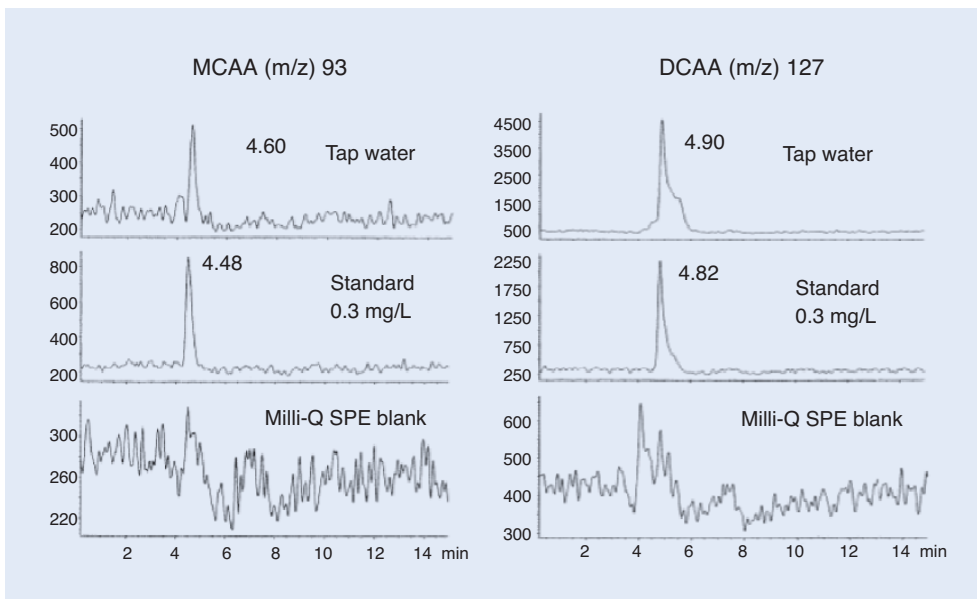


圖 5. 以 SPE-LC/MS 分析飲用水中 MCAA 與 DCAA 之層析質譜圖<sup>(12)</sup>。

### 三、結論

隨著人類文明的進步，環境污染的問題也越來越受到人們的重視。由於環境污染物的種類繁多且含量稀少，同時環境樣品基質十分複雜，因此不易分析。環境污染物性質大多為高極性或熱不穩定，使用氣相層析儀或氣相層析質譜儀分析時，通常需要經過衍生化步驟，因此造成分析步驟變得更繁雜且花費更高。以液相層析分析時，雖然可以解決氣相層析所遇到的問題，但是傳統偵測器有靈敏度差及選擇性不佳的缺點。若以液相層析儀結合質譜儀作為分析儀器時，不但可以擁有液相層析儀之高理論平板數與可分析不同性質之分析物的優點之外，還同時擁有質譜儀之高靈敏度和高選擇性，是非常適合於複雜環境基質中之微量污染物的分析。分析微量之環境污染物需要一具有高靈敏度和高選擇性之分析儀器，液相層析質譜儀即是符合此項優點的儀器。因此目前液相層析質譜儀已成為分析環境污染物不可缺的工具。

### 參考文獻

1. R. V. Rumler and G. L. Kelso, A Report for EPA, EPA-54019-251 (1991).
2. R. Castro, E. Moyano, and M. T. Galceran, *Journal of Chromatography A*, **830**, 145 (1999).

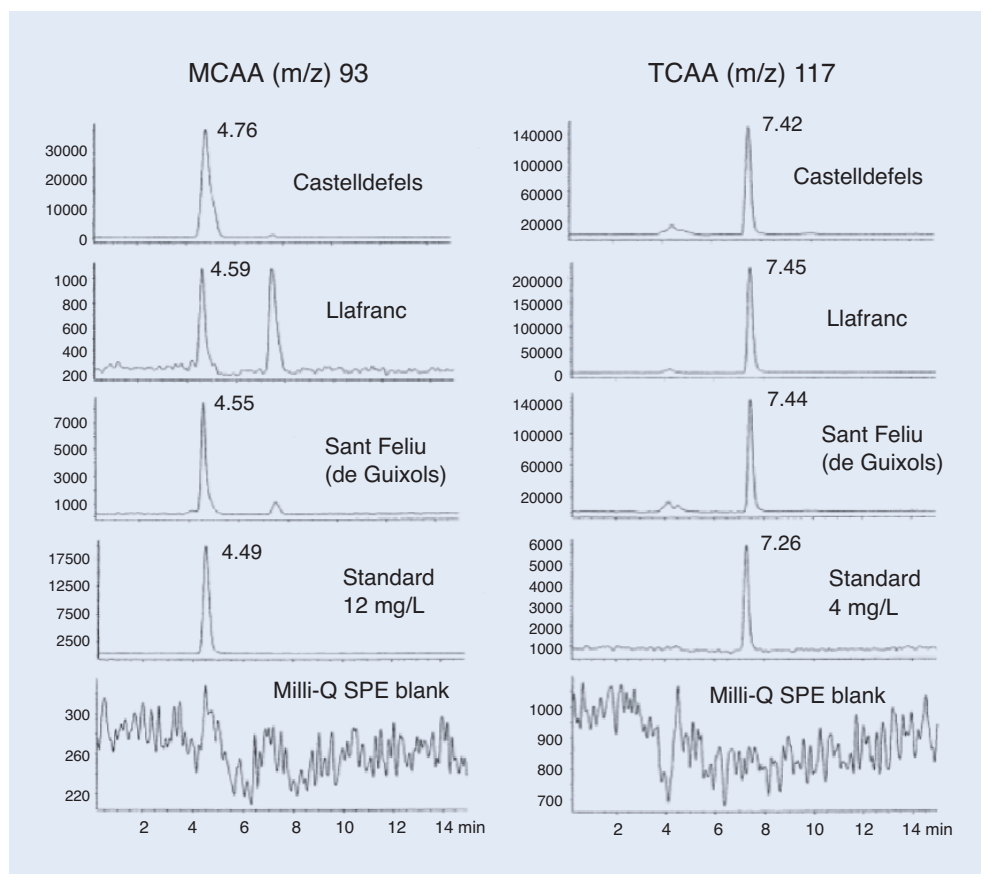


圖 6.  
以 SPE-LC/MS 分析不  
同游泳池中 MCAA 與  
TCAA 之層析質譜圖<sup>(12)</sup>。

3. R. Jeannot, H. Sabik, E. Sauvard, and E. Genin, *J. Chromatogr. A*, 879, 51 (2000).
4. A. J. Borgerding and R. A. Hites, *Anal. Chem.*, **64**, 1449 (1992).
5. L. H. Levine, J. L. Garland, and J. V. Johnson, *Anal. Chem.*, **74**, 2064 (2002).
6. 陸冠輝, 固相微萃取結合液相層析質譜儀於磺胺類劑之偵測, 國立中興大學化學研究所碩士論文 (2003).
7. L. H. Keith, *A.I. Ch. Symp. Series, Water*, **77**, 249 (1980).
8. R. A. Gimeno, A. F. M. Alteraar, R. M. Marcé, and F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 958, 141 (2002).
9. 莊筱雯, 固相微萃取結合液相層析質譜儀於多環芳香烴化合物之偵測, 國立中興大學化學研究所碩士論文 (2002).
10. R. D. Voyksnoer, *Anal. Chem.*, **57**, 2600 (1985)
11. M. L. Magunson and C. A. Kelty, *Anal. Chem.*, **72**, 2308 (2000).
12. R. Loos and D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, **938**, 45 (2001).

- 陳崇宇先生為國立中興大學化學研究所博士班學生。
- 李茂榮先生為美國佛羅里達大學分析化學碩士，現任國立中興大學化學研究所教授。
- Chung-Yu Chen is a Ph.D. student in the Department of Chemistry at National Chung Hsing University.
- Maw-Rong Lee received his M.S. in analytical chemistry from the University of Florida, USA. He is currently a professor in the Department of Chemistry at National Chung Hsing University.