

液相層析質譜儀中大氣壓力光游離法之原理與應用

The Principle and Applications of Liquid Chromatography / Atmospheric-Pressure Photoionization Mass Spectrometry

郭瀚文、丁望賢

Han-Wen Kuo, Wang-Hsien Ding

大氣壓力光游離法是最近新開發搭配在液相層析質譜儀的游離技術，它不但成功拓展了液相層析質譜儀的研究與應用領域，同時也因其特殊的游離機制可以降低基質干擾，而適用於檢測微量分析物在複雜基質中的定性與定量研究。本文針對此技術之發展歷史、原理、特性，以及應用到不同分析物的檢測結果作一介紹。

Atmospheric-pressure photoionization (APPI) is a newly developed ionization method for liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS). This method not only extends the applications of LC/MS, but also reduces the interference of matrix effect for trace analysis due to its specific ionization mechanism. This article is to introduce its development, ionization principle, and many applications for various compounds.

一、前言

Talroze 等人於 1972 年成功地將液態混合物由毛細管導入到高度真空系統後，正式開啟了液相層析質譜儀 (LC/MS) 的時代。短短數年之間，Horring、Scott 和 Arpino 等人就發表了數種不同游離源的研究成果，帶領許多科學家與工程師在這片領域中不停地開發與創新。在 90 年代以前，許多游離介面紛紛由構想變成了商業化的裝置，這些游離

介面如表 1 所示，進步的速度可說是相當迅速^(1,2)。

不過在 LC/MS 游離介面技術尚未純熟前，針對層析儀與質譜儀結合以分析混合物的研究與應用上，應屬氣相層析質譜儀 (GC/MS) 最常使用。它除了發展時間較早，且技術已經純熟外，分析物在 GC 中已被汽化形成氣態，不會影響到儀器真空度，這點是 GC/MS 結合成功與受到廣泛使用之主因。但當使用 GC/MS 時往往受限於某些分析物的揮發性較差、極性較高、具離子性與熱不穩定性，

而需要先經過衍生化過程後，才能進樣至儀器中進行分析，不僅費時費力，還必須承擔衍生化產率不佳的風險。

因此，當 LC/MS 利用大氣壓力游離法 (atmospheric-pressure ionization, API)，成功解決了由液相轉變成氣相時體積膨脹造成儀器真空度下降的困境後，使得目前在研究非揮發性、半揮發性、離子性化合物，甚至是揮發性 (volatile) 物質的方法，很多都是以 LC/MS 為主。而其中電噴灑游離法可以使分析物帶多重電荷，有效地將測定質量範圍提升到 10000 amu 以上，如圖 1 所示，對於現今從事生化分子，如胜肽與蛋白質等研究領域的工作時，無疑是一個相當有利的工具。

目前常見的 API 游離方式包括了電噴灑游離法 (electrospray ionization, ESI) 與大氣壓力化學游離法 (atmospheric-pressure chemical ionization, APCI)。於 2000 年時另一種大氣壓力游離法問世，即備受相關研究領域的學者們重視，這種以紫外光照射分析物使其帶電荷的游離方式稱為大氣壓力光游離法 (atmospheric-pressure photoionization, APPI)。其實光游離法 (photoionization, PI) 並不是一項新的技術，因為早在 1976 年時 Driscoll 等人就已經將此技術應用在 GC 的偵檢器上，到了 1982 年 Locke 等人也成功地將光游離偵檢器 (photoionization detector, PID) 應用於 LC 中。不過之後僅有少數的研究文章是利用此種偵檢器作為

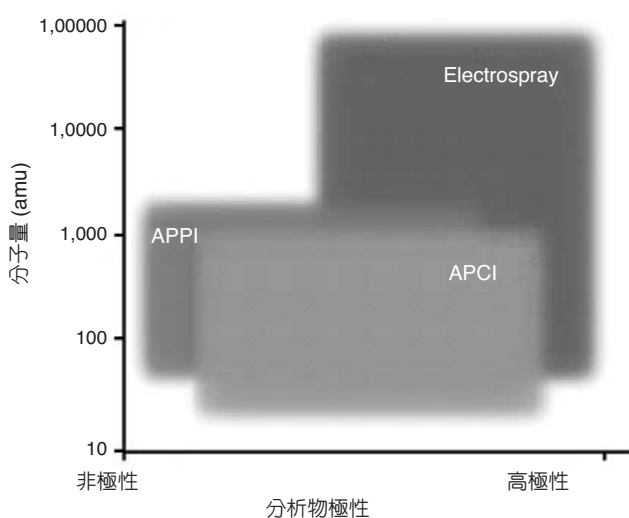


圖 1. 液相層析質譜技術之適用性。

表 1. 液相層析質譜儀游離介面演進歷史⁽¹⁾。

游離介面	發展年代
Moving-belt interface	1977
Direct-liquid-introduction interface	1980
Thermospray interface	1983
Monodisperse aerosol generating interface	1984
Frit FAB/continuous-flow FAB interface	1985/1986
Atmospheric-pressure chemical ionization	1986
Particle-beam interface	1988
Electrospray interface	1988

LC 的偵測方式。直至 1985 年俄國科學家 Revel'skii 等人利用氦氣作為載流氣體，將含有各種碳氫化合物的混合物以氣態方式送入游離源當中 (沒有經過層析分離)，才算正式將 APPI 與質譜儀結合^(3,4)。表 2 列出此三種游離源介面之特性比較。

由於 APPI 為一新穎的游離方式，目前國內沒有太多文章對此方法作簡介與討論，因此本文將針對 LC/MS 中關於 APPI 這方面的研究作整理介紹，其中包括游離方式、游離源之構造、摻雜劑 (dopants) 與動相 (mobile phase) 對於游離效果之影響，以及應用在分析疏水性胜肽分子 (hydrophobic peptides)、藥物通透性 (permeability)、除草劑 (herbicides) 與除蟲劑 (pesticides)、抗生素 (antibiotics) 及類固醇荷爾蒙 (steroid hormones) 等方面之實際案例作一簡介。

二、分析物的游離化

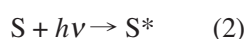
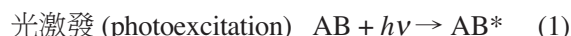
通常在說明 APPI 的游離過程時，大概會簡單分為四個步驟，如圖 2 所示。

- (1) 霧化：將液相層析管柱中沖提出來之溶液霧化 (nebulization)。
- (2) 蒸發：溶劑蒸發 (evaporation)。
- (3) 游離：經過燈源產生的光子 (photon) 照射後，將分析物直接游離，或是先將摻雜劑游離後再透過電荷交換 (charge exchange) 由質子轉移 (proton transfer) 的方式，使分析物帶電荷。
- (4) 檢測：施加與分析物相反電性之電位，使帶電荷之分析物進入質量分析器與偵檢器中偵測。

表 2. 應用於 LC/MS 三種游離源介面之特性比較。

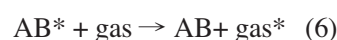
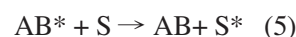
游離源	離子化過程	特點	分析物性質
電灑游離法 (ESI)	液體流經高電壓之毛細管後受到電場影響，形成帶電荷之液滴後噴灑而出。液滴達到雷利安極限 (Rayleigh limit) 庫侖爆炸 (Coulomb explosion) 後，進而氣化逐步形成待測離子。	1. 可形成單一電荷或多重電荷之離子。 2. 正離子模式形成之離子除 $[M+H]^+$ 外，亦會與陽離子生成加成離子，如 $[M+Na]^+$ 或 $[M+K]^+$ 等。 3. 容易受基質干擾而產生離子抑制現象。	1. 中、高極性或離子性分子。 2. 熱不穩定之分析物。 3. 大分子，如蛋白質等。
大氣壓力化學游離法 (APCI)	液體經由霧化並加熱氣化後，電量放電使大量之溶劑分子游離，再利用溶劑離子經由質子傳遞或電荷轉移使分析物形成待測離子	1. 基質抑制影響不如 ESI 嚴重。 2. 正離子模式形成之離子主要為 $[M+H]^+$ 。	1. 中、低極性之分子。 2. 熱穩定性之化合物。 3. 較易揮發之分析物。
大氣壓力光游離法 (APPI)	1. 光子直接游離方式—分析物可直接被光子游離，產生 M^+ 之離子。 2. 摻雜物輔助之光子游離方式—此方式類似於 APCI，以光子取代電量放電。	1. 不易受基質抑制離子訊號影響。 2. 靈敏度與流速成反比。 3. 適用於低流速 $< 200 \mu\text{L}/\text{min}$ 。	1. APCI 所不易離子化之物質 2. 非極性化合物。 3. 疏水性胜肽。

事實上在照光游離的過程當中，並不像前述的過程那麼單純，通常會產生相當多的反應。當紫外光照射到分析物與溶劑時，能量會使這些分子達到激發的狀態^(1,4)：

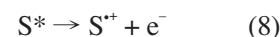


其中 AB 為分析物，S 為動相的溶劑分子。這些受

激發的分子並不會一直停留在激發態，必須以其他反應將這些能量轉移或釋放出來，而這些反應包括了：



上述這些反應，同樣也會發生在受激發的溶劑分子上。此外當光子能量大於物質的游離能 (ionization energy, IE) 時，游離反應也會伴隨而生：



基本上，我們希望照光後所產生的離子是以分析物的分子離子為主，也就是以反應式 (7) 為主，希望只有少量反應式 (8) 產生。因此為了避免溶劑分子或是其他非分析物之分子消耗光子，而降低分析物離子的形成及產生複雜的背景干擾

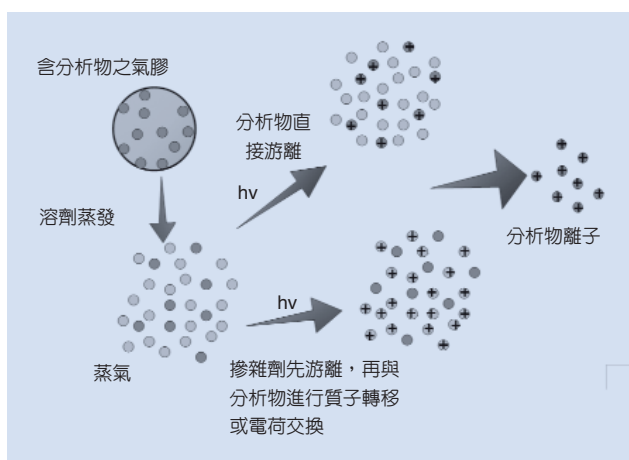


圖 2. 大氣壓力光游離法之游離過程。

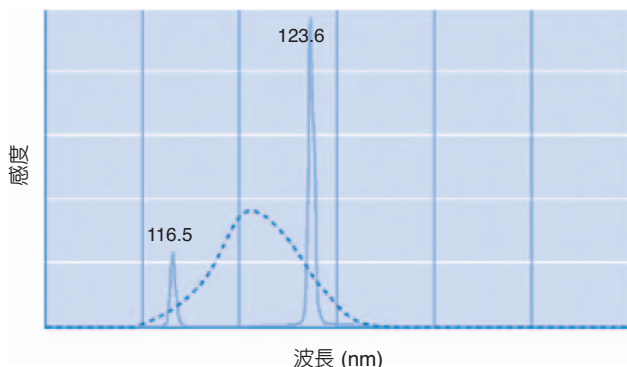


圖 3. 氬元素燈紫外光譜放射譜線⁽³⁾。

(background interference), 選取適當的紫外光源是相當重要的。在目前市售的 APPI 游離源中, 以氬元素 (Kr) 燈最為普遍, 氬元素燈在施加電壓後會產生兩個不同波長的紫外光, 如圖 3 所示, 其中 123.6 nm 能量為 10.0 eV 而 116.5 nm 能量為 10.6 eV, 比大多數分析物的游離能來得高, 而比一般常用的溶劑以及氣體分子的游離能低, 如表 3 所示, 所以僅會發生反應式 (7), 大大降低動相中溶劑與非分析物的干擾。

但是我們將上述理論應用在實際的分析時, 往往會發現分析物的游離效果並不一定很好, 訊號可能相當微弱, 這是因為我們忽略溶劑分子經過紫外光照射後, 雖然不會直接被游離但還是會發生如反應式 (2) 至反應式 (6) 的反應, 而消耗燈源所釋放出來的光子, 因此分析物直接照光而被游離的機率可說是相當的小。

那麼做此研究時該從哪方面著手, 才能有效地提升分析物的游離化效率呢? 經實驗證實, 若添加適當的摻雜劑與選擇不同的動相組成將有助於使 APPI 得到最佳的游離效果。這是因為添加的摻雜劑與選擇的動相組成, 若為游離能較低的溶劑, 由於在霧化過程中佔有的量比分析物高, 會比分析物容易被光子游離而形成陽離子自由基, 進而藉由電荷交換或是質子轉移的方式使分析物帶電荷, 而減少光子消耗於激發與游離非分析物分子上, 如同化學游離法對分析物的游離機制。

以下將針對添加摻雜劑的游離機制與動相組成不同所產生的影響, 分別作介紹。

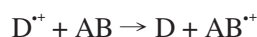
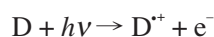
表 3. 一般常見溶劑與氣體之質子親合力與游離能⁽¹⁾。

化合物	質子親合力 (Proton Affinity, PA) (kJ/mol)	游離能 (Ionization Energy) (eV)
Nitrogen	493.8	15.58
Water	691.0	12.62
Acetonitrile	779.2	12.20
Oxygen	421.0	12.07
Methylene chloride		11.33
Formic acid	742.0	11.33
Methanol	754.3	10.84
Acetic acid	783.7	10.65
Isopropanol	793.0	10.17
Hexane		10.13
Ammonia	853.6	10.07
Ethyl acetate	835.7	10.01
Kr		10.00
Heptane		9.93
Isooctane		9.80
Acetone	812.0	9.70
Pyridine	930.0	9.26
Benzene	750.4	9.24
Furan	803.4	8.88
Toluene	784.0	8.83
Naphthalene	802.9	8.14
Triethylamine	981.8	7.53

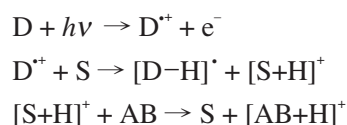
1. 添加摻雜劑的游離機制⁽⁴⁾

摻雜劑是在分析物進入 APPI 時需要同時加入的物質, 它對於分析物來說必須是相對多量的。同時其游離能必須低於光子的能量, 而在形成摻雜劑陽離子自由基 (dopant radical cation, 簡寫為 D^+) 之後必須具有較低的質子親合力 (proton affinity, PA), 才能很容易的進行反應。光源照射摻雜劑後將其游離成為 D^+ , 隨後直接進行電荷交換或是先與動相溶劑分子反應後再進行質子轉移, 而使分析物帶電荷, 其可能的反應機制如以下三項。

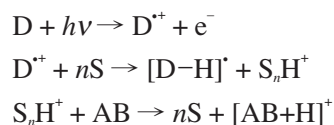
- (1) 摻雜劑形成 D^+ 後, 直接與分析物進行電荷交換。



(2) 溶劑與 D^+ 先行質子轉移反應，再與分析物進行質子轉移。



(3) 溶劑與 D^+ 先行溶劑群聚 (cluster) 與質子轉移反應，再與分析物進行質子轉移。



若溶劑分子的 PA 小於 D^+ 時，溶劑和 D^+ 間不會發生質子轉移反應，因此溶液中易保留大量的 D^+ ，當分析物的游離能較低時，傾向於發生電荷轉移而使分析物帶正電荷 (即發生第一類的反應機制)。然而在使用甲醇 (PA = 754.3 kJ/mol)、乙腈 (PA = 779.2 kJ/mol) 等溶劑時，雖然其 PA 小於 D^+ (如以甲苯為摻雜劑時 PA = 784 kJ/mol)，但是分析物卻不如先前預期的形成帶正電荷之離子，反而是形成質子化之產物，這是因為此類溶劑會先與 D^+ 反應形成質子化之群聚物，當分析物的 PA 大於這些群聚物時，群聚物就能將質子轉移到分析物上而形成質子化產物 (即第三類的反應機制)⁽⁹⁾。而第二類的反應機制，有可能在兩種情況下發生，其一是溶劑的 PA 大於 D^+ 而分析物的 PA 大於質子化之溶劑分子；另一個情況則是溶劑的 PA 小於 D^+ 且分析物游離能大於溶劑中其他物質。上述第一個情況我們比較容易理解，因為 PA 大者就比較容易得到質子而帶正電荷，因此形成質子化之分析物是相當容易的；但若是處於後者的情況時，溶劑中大量的 D^+ 理應與分析物發生電荷交換的反應，但由於分析物的游離能很高，以熱力學 (thermodynamics) 的觀點來看，進行質子轉移的路徑反而會比電荷交換來得更為容易。

Kauppila 等人於 2002 年詳盡研究添加甲苯 (toluene) 為摻雜劑的 APPI 游離機制⁽⁶⁾，他們將七種具有不同取代基的萘 (naphthalene) 化合物作為分

表 4. Kauppila 等人研究之七種萘化合物⁽⁶⁾。

(A) 1-naphthalenemethylamine	
(B) 2-acetonaphthone	
(C) 2-naphthol	
(D) 2-ethylnaphthalene	
(E) 2-naphthaleneethanol	
(F) 2-naphthylacetic acid	
(G) 1,4-naphthoquinone	

析物，如表 4 所示，觀察在十三種不同動相組成中所形成的離子。首先他們發現到 $C_8H_8^+$ 在水、己烷 (hexane)、氯仿 (chloroform) 等溶劑當中，會大量的存在，但是在含有甲醇或是乙腈的動相中，卻是觀察到質子化的雙聚物 (dimer, S_2H^+)、三聚物 (trimer, S_3H^+) 以及溶劑與水之群聚物，如表 5 所示，這和先前提到使用質子親合力較低的溶劑時， D^+ 較不易與溶劑反應，但甲醇與乙腈則可以群聚物的型態反應形成質子化產物的推論吻合；而六種萘化合物在不同溶劑中形成 $[M+H]^+$ 與 D^+ 之比例，如圖 4 所示，可以發現幾乎所有分析物在 solvent 1-3 中形成 M^+ 較多，而分析物 B 因為游離能較高，所以傾向進行質子轉移反應而形成 $[M+H]^+$ ，也與之前歸納出來的反應類型相符。

就游離能與質子親合力這兩個觀點來看，基本上有很多溶劑都可以作為 APPI 之摻雜劑，但是真正有用在實驗上的溶劑僅佔少數。目前所看到的研究文章大都以丙酮 (acetone) 和甲苯為主。Robb、Covey、Bruins 等人在 2000 年發表於 Analytical Chemistry 的文章，為第一篇提出以丙酮與甲苯作

表 5. 在大氣壓力光游離法正離子模式下溶劑中的主要離子⁽⁶⁾。

溶劑	<i>m/z</i> (rel abund)		
	C ₇ H ₈ ⁺⁺	S _n H ⁺	觀察到之離子
toluene	92 (100)*		95 (74), 96 (39), 101 (34), 107 (30), 108 (47), 109 (98), 111 (97), 112 (34)
1 (hexane)	92 (52)		84 (88), 94 (62), 95 (31), 99 (100), 101 (34), 108 (17), 109 (40), 111 (35), 115 (23)
2 (chloroform)	92 (87)		108 (100), 91 (72), 107 (57), 93 (56), 109 (38), 105 (34), 74 (29), 106 (18), 111 (14)
3 (water)	92 (100)		83 (15), 95 (21), 96 (21), 101 (22), 107 (23), 108 (42), 109 (26), 111 (59), 112 (18)
4 (methanol)		51 (7.9) [MeOH+H ₂ O+H] ⁺ , 65 (100) [2×MeOH+H] ⁺ , 97 (6.5) [2×MeOH+H] ⁺	59 (9.5), 60 (9.4), 73 (14), 74 (60), 87 (36), 101 (10), 105 (7.7)
5 (acetonitrile)		42 (5.1) [ACN+H] ⁺ , 83 (100) [2×ACN+H] ⁺	59 (21), 60 (8.3), 84 (17), 100 (5.9), 101 (22), 105 (4.8), 142 (3.8), 148 (10)
6 (water/methanol)		65 (100) [2×MeOH+H] ⁺ , 97 (27) [3×MeOH+H] ⁺	60 (15), 73 (12), 74 (83), 87 (33), 101 (9.6), 106 (26), 115 (9.7), 127 (4.2)
7 (water/acetonitrile)		83 (100) [2×ACN+H] ⁺	59 (51), 60 (7.4), 100 (15), 101 (15), 102 (3.5), 105 (5.6), 108 (3.7), 109 (4.3), 148 (4.3)
8 (water/methanol/HAc)		65 (100) [2×MeOH+H] ⁺ , 97 (27) [3×MeOH+H] ⁺	59 (6.6), 60 (15), 74 (53), 106 (16), 109 (6.7), 11 (5.9), 115 (7.6), 127 (6.9)
9 (water/methanol/NH ₄ Ac)	92 (5.7)		50 (3.4), 59 (100), 60 (42), 77 (41), 82 (6.), 87 (6.8), 110 (3.7), 118 (8.4), 119 (21))
10 (water/methanol/NH ₄ OH)		51 (8.4) [MeOH+NH ₄ +H] ⁺ , 65 (100) [2×MeOH+H] ⁺ , 97 (27) [3×MeOH+H] ⁺	59 (17), 60 (21), 74 (41), 106 (9.5), 108 (6.0), 109 (8.2), 115 (6.4)
11 (water/acetonitrile/HAc)		59 (100) [ACN+NH ₄] ⁺ , 83 (5.1) [2×ACN+H] ⁺	64 (5.3), 80 (5.3), 100 (33), 105 (76), 106 (5.2), 109 (5.3), 146 (5.9), 148 (5.3)
12 (water/acetonitrile/NH ₄ Ac)		59 (100) [ACN+NH ₄] ⁺	64 (2.3), 77 (1.5), 80 (2.2), 100 (35), 101 (5.2), 105 (32), 106 (2.1), 144 (1.4), 146 (2.1)
13 (water/acetonitrile/NH ₄ OH)		59 (100) [ACN+NH ₄] ⁺	100 (14), 144 (3.1), 136 (1.9), 145 (1.7), 133 (1.3), 115 (1.3), 74 (1.2), 112 (1.2), 148 (1.2)

* 與主要 *m/z* 之相對百分比

為摻雜劑並且比較摻雜劑對於分析物感度影響之研究文獻⁽⁷⁾。由這些學者的研究結果中發現，不論是以甲醇／水或是乙腈／水作為動相沖提溶劑時，如果在游離過程中未添加任何摻雜劑，則會得到較差的感度，層析峰的形狀也較不理想，如圖 5 所示。相反的，若是添加適量的丙酮或是甲苯（一般來說，摻雜劑添加之流速約為動相流速的十分之一，在此作者是使用 25 μL/min）則能有相當程度上的改善，如圖 6 所示。

2. 動相溶劑組成

在 LC/ESI-MS 的相關文獻中，均是採取逆相層析法 (reverse phase chromatography) 作為分離方式，而在使用 LC/APPI-MS 時，除了逆相層析法外亦可使用正相層析法 (normal phase chromatography)，所以動相溶劑從極性的甲醇、乙腈、水等到非極性的異辛烷 (isooctane)、正己烷 (*n*-hexane) 均可使用。因此在這麼多可供選擇的溶劑當中，選擇一種能夠產生較佳感度的動相組成就變得相當重要。

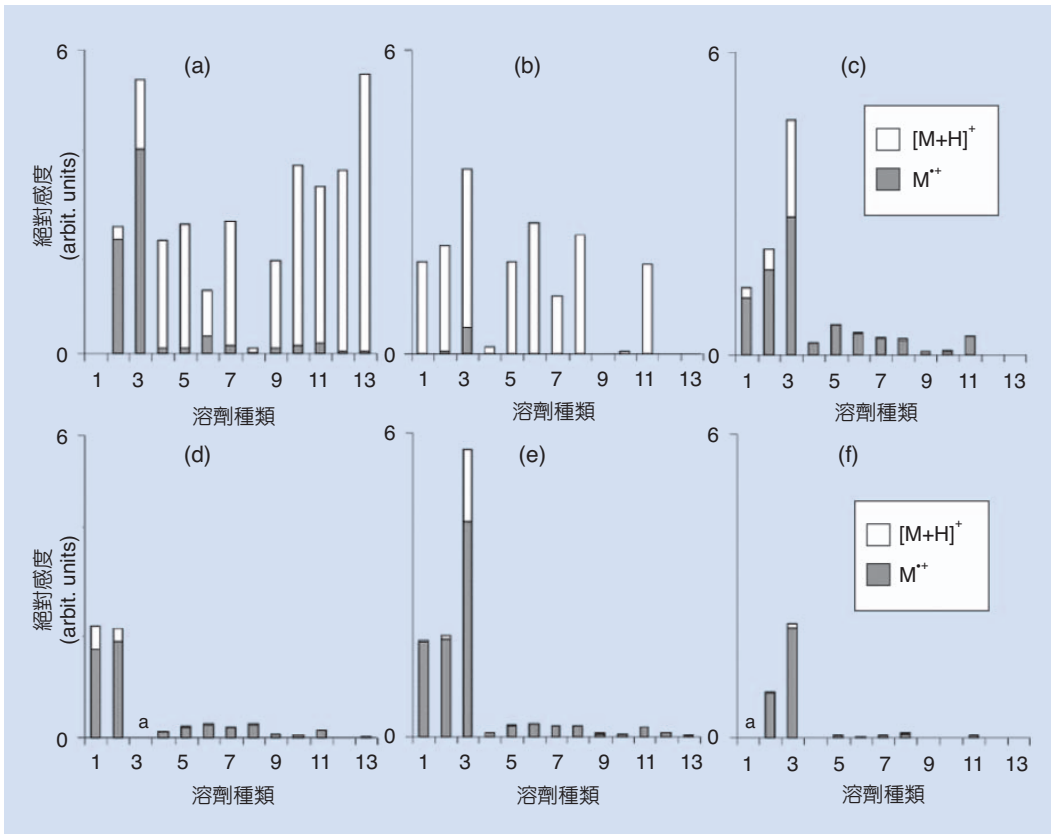


圖 4. 六種茶化合物在不同溶劑中 $[M+H]^+$ 與 M^{++} 之比例⁽⁶⁾。

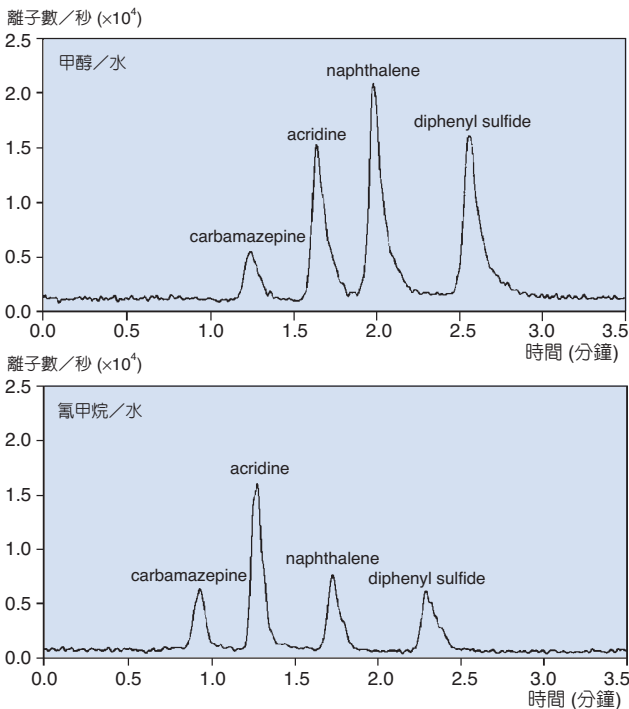


圖 5. 四種分析物在不添加摻雜劑情況下於不同動相中之選擇離子層析圖⁽⁷⁾。

Yang 和 Henion 在以大氣壓力光游離介面分析雌性激素替代藥物 idoxifene 及其代謝物之研究⁽⁸⁾，分別以 85% 甲醇 (1% 甲酸)、99% 甲醇 (1% 甲酸) 及 100% 甲醇作為動相，實驗結果如圖 7 所示。當水在動相中所佔比例越低，則儀器之靈敏度越高，特別是其中一種代謝物 SB245420 (peak 2)，其感度

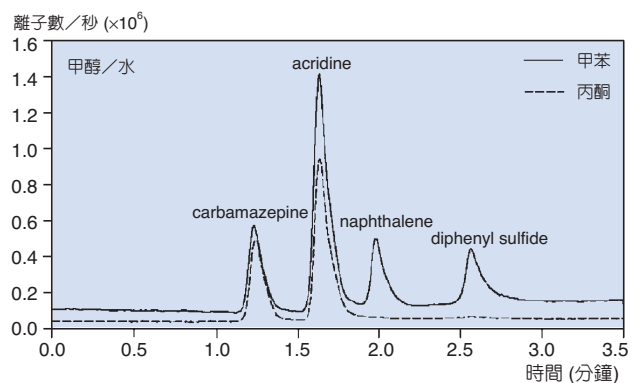


圖 6. 添加不同摻雜劑後，四種分析物在甲醇/水動相中之選擇離子層析圖⁽⁷⁾。

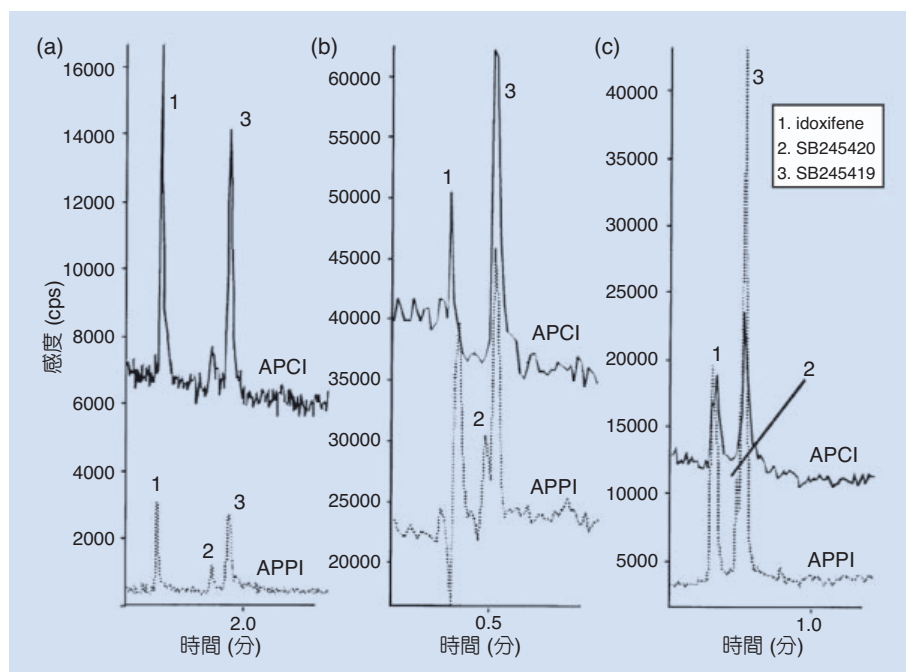


圖 7.

Idoxifene 與其代謝物在 (a) 甲醇/水 (85:15, v/v) (1% 甲酸)、(b) 甲醇 99% (1% 甲酸)、(c) 100% 甲醇中之選擇離子層析圖⁽⁸⁾。

相較於 APCI 可增加約十倍以上。

另外 Alary 等人也曾以 testosterone 與 progesterone 作為分析物，比較在異辛烷 (isooctane)、二氯甲烷 (methylene chloride)、2-丙醇 (2-propanol)、乙酸乙酯 (ethyl acetate) 與乙腈等五種不同動相溶劑中感度之差異⁽⁹⁾，結果如圖 8 所示，如果使用乙酸乙酯或是乙腈作為動相，感度會大大降低，但是使用異辛烷或是二氯甲烷時，感度則比其他三種溶劑佳。由此可知選擇適當的動相不僅可以幫助分析物之分離，對於分析物感度之影響也是相當重要。

三、大氣壓力光游離源基本結構

目前商業化的 APPI 游離源，可分為同軸向游離源 (in-line geometry source) 與垂直向游離源 (orthogonal geometry source) 兩種不同型式，基本上這兩種游離源都是由 APCI 轉變而來。

1. 同軸向游離源

同軸向游離源的構造如圖 9 所示，最早是由 Robb 等人在 2000 年所發展出來的。這個游離源開發之初是希望能和 PE/Sciex 300-3000 型 triple-

quadrupole 質量分析器連結，再加上其游離模式同樣也需經過溶劑蒸發的過程，因此 Robb 等人便利用 PE/Sciex HN-APCI 這個大氣壓力化學游離介面為模型，將原本的 corona needle 置換成氬元素燈管，並在內部稍做改良以提供高壓電供燈源使用。

此類型的游離介面有兩個優點。一個是離子所行經的導管 (ion-guide tube)，其出口端和進入質量分析器前的隔板 (curtain plate) 相當近，同時離子飛行的方向是和質量分析器入口端同向，所以可以

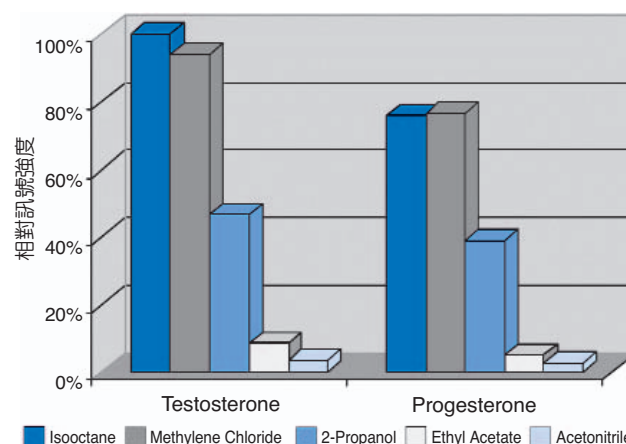


圖 8. Testosterone 與 progesterone 在五種溶劑中使用 APPI 產生之訊號強度⁽⁹⁾。

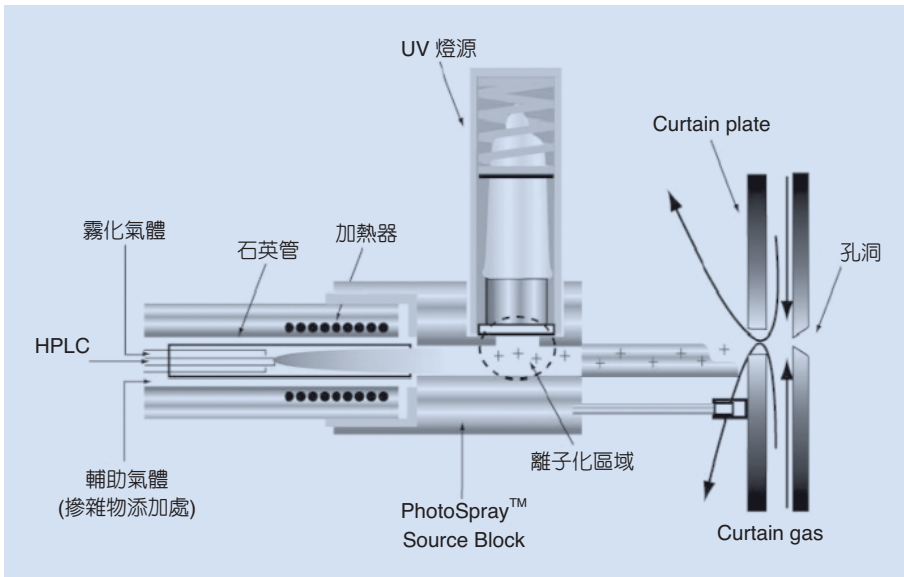


圖 9. 同軸向游離源之基本結構。

減少離子的損失，大幅提升了儀器的靈敏度。另外一項優點就是在設計之初有考量到實驗可能需要添加摻雜劑，因此在霧化器 (nebulizer) 上也預留了輔助氣體 (auxiliary gas) 的管路，方便使用者利用注射器幫浦 (syringe pump) 將摻雜劑由管路添加到游離介面中。現在同軸向的游離源已由美商應用生命系統公司販售，並註冊為 PhotoSpray™ 商標。

2. 垂直向游離源

垂直向游離源如圖 10 所示，最早是 Syagen 科技公司以 Agilent 公司的大氣壓力化學游離介面為藍本，加以改良後所發展出來的。它和同軸向游離源最大的不同是霧化器與質量分析器的入口端是呈垂直的方向，因此當分析物形成離子要進入質量分析器時，需要轉一個垂直的方向，這種離子的飛行路徑雖然有可能會造成離子的損失，但卻可以減少質量分析器受到未被游離的雜質所污染；而在離子形成到進入質量分析器的過程中，並不會經過離子導管，飛行的路徑完全是由毛細管前端所施加的反相電壓控制，引導離子進入毛細管當中。

然而儀器設計時並沒有在霧化器上預留摻雜劑注入的地方。若在實驗條件中必須添加摻雜劑才能幫助感度提升時，使用者必須在進入霧化器前的管柱上加裝 T 型接頭，再利用注射器幫浦將摻雜劑加入游離介面中。目前垂直向游離介面也已經商業

化量產 (商業化名稱為 PhotoMate®，由 Agilent 科技與 ThermoFinnigan 兩家公司販售)。

四、大氣壓力光游離源的應用實例

1. 應用於疏水性胜肽分子之分析⁽¹⁰⁾

在膜蛋白 (membrane protein) 的研究中，常會利用酵素將蛋白消化成較小的胜肽分子後再分析，以降低樣品前處理與分析過程中的困難度，但由於

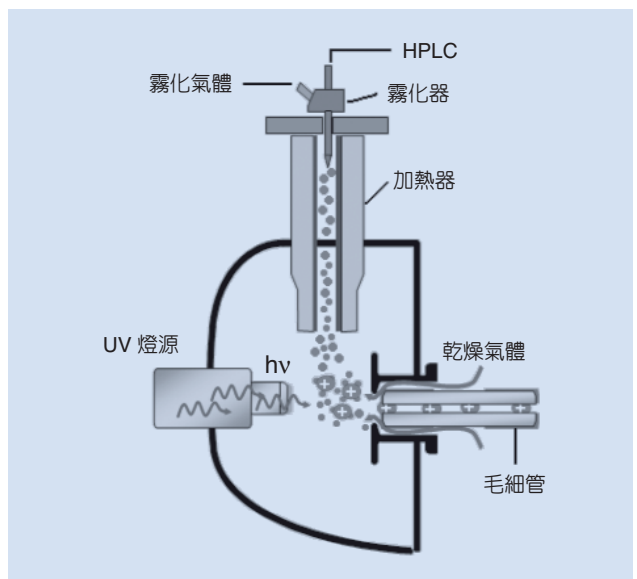


圖 10. 垂直向游離源之基本結構。

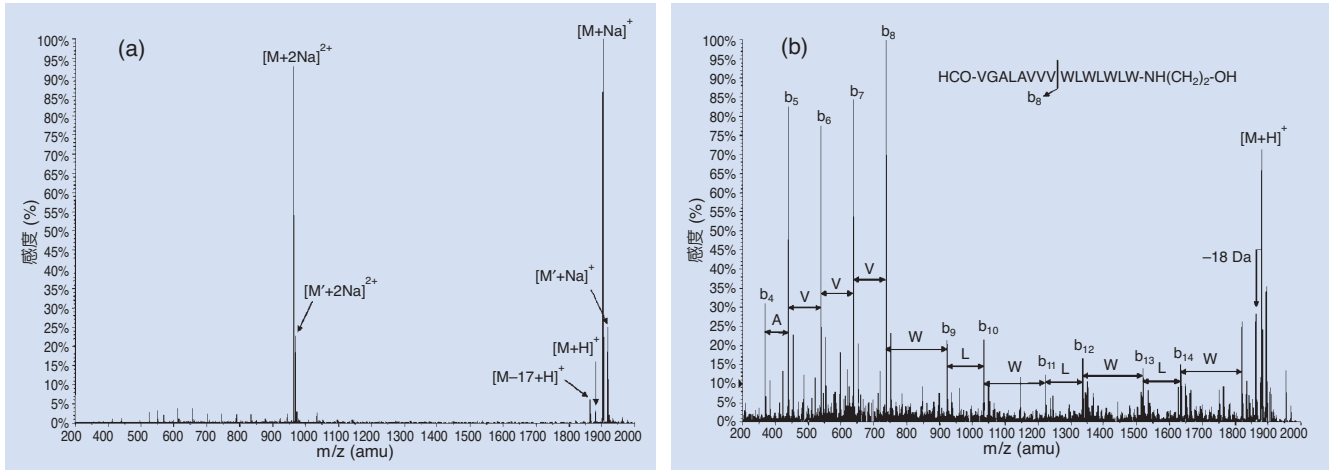


圖 11. Gramicidin A 在 UV 燈關閉 (a) 與開啟 (b) 時之質譜圖⁽¹⁰⁾。

這些胜肽分子多屬於疏水性，常需添加界面活性劑以增進水溶液中之溶解度並穩定其構形。但當使用 ESI 分析時，可能會有基質效應之影響，而抑制分析物的訊號；若改用基質輔助雷射脫附游離源 (MALDI)，雖然可以在具有界面活性劑之情形下分析，但是得到的圖譜通常也不佳。

因此利用 APPI 來處理這類疏水性胜肽分子，則可以使用正相層析法，選擇非極性的溶劑來分析胜肽混合物，得到較佳的層析結果，同時不用顧慮界面活性劑之干擾。圖 11 為 gramicidin A 胜肽分子以注射器幫浦連續注射 (infusion) 所得到的質譜圖，其中圖 11(a) 為 UV 燈源關閉時所收集到的圖譜，而圖 11(b) 則為開啟時所得之圖譜。燈源開啟時，UV 光照射分析物而形成質子化之分子離子，同時也會產生一系列的 B-type 斷裂碎片；當燈源關閉時，失去了以光子游離分析物之效果，僅有前段類似熱灑的過程，因此得以保存較完整的胜肽分子序列而形成 $[M+Na]^+$ 這類的鈉離子加成物。利用燈源開啟與關閉兩種模式，加上二次質譜所得到的訊息，可以協助研究者取得胜肽分子之分子量、碎裂片段等資訊，藉此鑑定胜肽分子之序列。

圖 12 為利用 LC/ESI-MS 與 LC/APPI-MS 分離六種胜肽分子混合物所得到的全離子層析圖 (total ion chromatogram) 及 peak 3 相對應的質譜圖。由圖 12(a) 及圖 12(b) 中可以觀察到，使用 APPI 時層析峰之訊雜比 (S/N ratio) 會比使用 ESI 時為佳，同時

感度也明顯的提升。而在圖 12(c) 及圖 12(d) 中可以發現，使用 ESI 比較不容易破壞胜肽分子，主要是得到分子量之相關訊息；若是使用 APPI 分析，則比較容易打斷分析物，而形成各種斷裂後之離子碎片。

2. 應用於藥物開發之評估工作⁽¹¹⁾

藥物動力學最適化技術的研發目標，主要在找尋身體內自然的傳輸機制，設計藥物合乎這些機制的要求，讓藥物能順利穿透腸胃道的細胞膜，進入血液循環，發揮治病的功效。現階段藥物動力學最適化之前驅藥物技術開發主要包括三個部分，分別是前驅藥物之設計、合成與篩選，其中在篩選方面針對評估藥物通透性，最常用的體外評估模型為 Caco-2 cell line。

圖 13 為十種常用於 Caco-2 cell line 研究中之藥物，經由 LC 分離後分別進入 ESI 與 APPI 所得到之選擇離子層析圖 (selected ion chromatograms)。這些物質因為具有不同的通透性，所以可以有效地模擬口服藥物在腸胃道細胞膜間穿透之情形，此結果經由濃度之計算可以作為新藥合成後通透性之參考標準。在研究中不論使用何種游離源，十種物質均可在 2.8 分鐘內分離開來，而整個分析過程也都在 7 分鐘內完成，對於現今以組合式合成法 (combinatorial synthesis) 大量合成前驅藥物的工作來說，可謂是相當快速且有效率的分析方法。

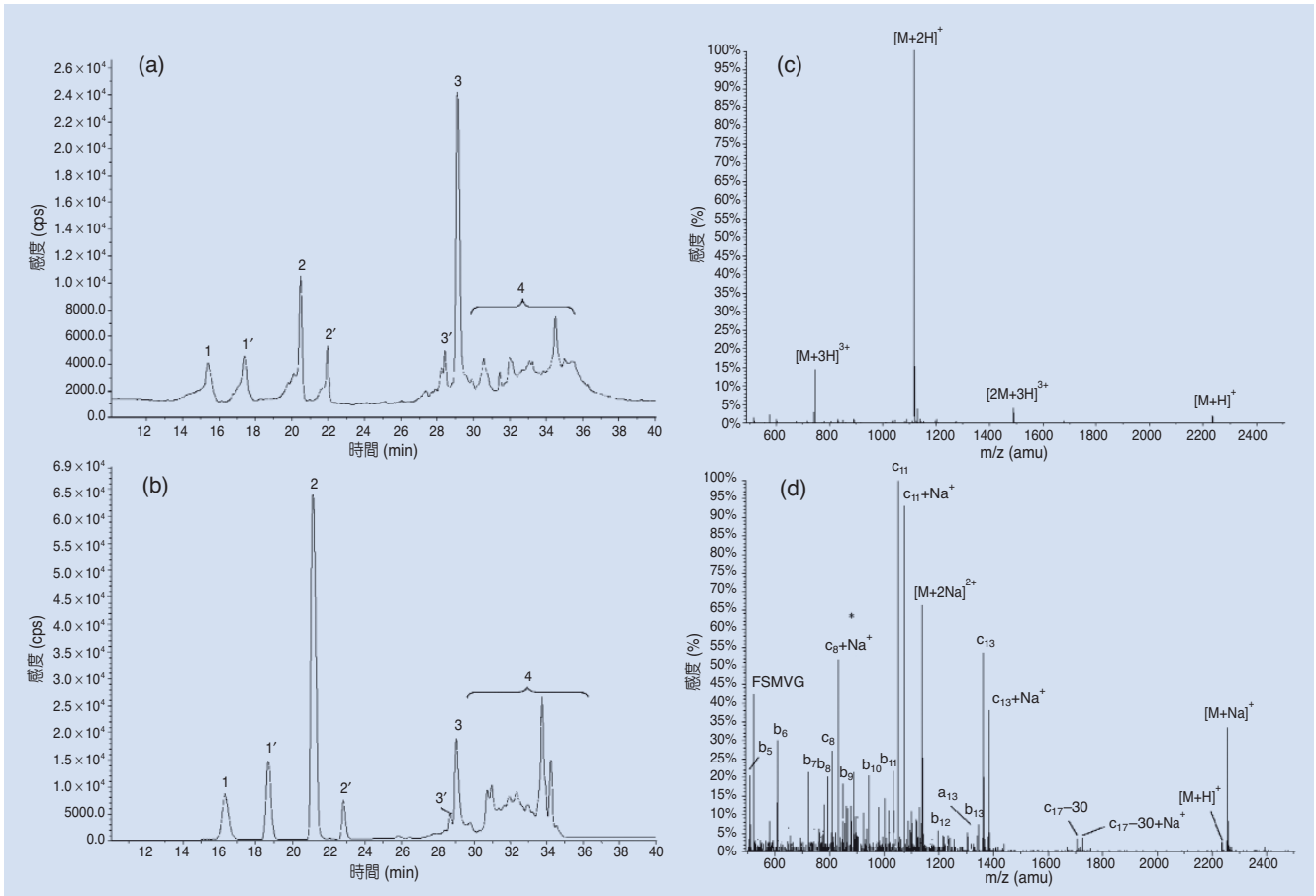


圖 12. (a) 與 (b) 分別以 ESI 與 APPI 分析 (1) bradykinin、(2) angiotensin II、(3) E1-Nter、(4) E1-Nter lacking F13、(1') methylated form of bradykinin、(2') methylated form of angiotensin II 所得到之全離子層析圖。(c) 與 (d) 為 peak 3 在兩種介面中得到之質譜圖⁽¹⁰⁾。

表 6 為十種參考物質在兩種不同游離介面中，偵測極限、線性範圍以及精確度與準確度等數據之比較，雖然兩種方法最低的定量極限大約都在 5 nM，然而使用 APPI 分析時，物質濃度的線性範圍可以有 3-4 個數量級 ($r^2 \geq 0.998$)，而 ESI 則僅有 2-3 個數量級 ($r^2 \geq 0.990$)，對於應用在穿透度未知的前驅藥物研究方面，可以省去稀釋分析物的步驟，應用上會比 ESI 來得方便。

3. 苯基尿素與氨基甲酸鹽類之分析⁽¹²⁾

苯基尿素 (phenyl ureas) 與氨基甲酸鹽類 (carbamate) 分別為大量使用於除草劑和除蟲劑成分中的化學物質，由於效果相當不錯，而被大量使用，因而造成這一類化合物殘留在農作物、土壤、

水中。其中氨基甲酸鹽類是乙醯膽鹼酵素 (acetylcholinesterase) 的抑制劑，易使乙醯膽鹼無法分解而累積，造成神經失調、肌肉異常收縮、痙攣等症狀發生。因此在歐、美、日本等地均有極嚴格的規範，以日本為例，最大殘留劑量限制在 0.02-7 $\mu\text{g/g}$ 。

以往檢測此類物質常使用 GC/MS 或 HPLC 搭配 post-column reaction，然而受制於物質之熱不穩定性及複雜度高，因此目前許多研究已改採 LC/MS，作為開發分析方法所使用之儀器。圖 14 是使用 ESI、APPI 與 APCI，分析 19 種苯基尿素與氨基甲酸鹽類之全離子層析圖，其中以 ESI 所得到的分析物感度最佳，而其他兩種游離法所得到之訊號強度則比較弱。

表 6. 十種參考藥物於兩種介面中分析之結果⁽¹¹⁾。

電灑游離介面分析之結果												
分析物	日與日間的精確度 ^a			一日中的精確度 ^a			準確度 (%) ^b			偵測極限 ^c (nM)	線性範圍 ^d (nM)	相關係數 ^d (r ²)
	RSD% (濃度, nM)			RSD% (濃度, nM)								
antipyrine	12.2 (50)	7.5 (250)	7.2 (1000)	6.4 (10)	3.1 (250)	5.4 (1000)	89.1	107.8	103.0	10	50–1000	0.9964
fluorescein	11.4 (5)	6.5 (250)	2.9 (1000)	17.5 (5)	5.3 (250)	4.7 (1000)	111.7	113.5	104.5	2	5–1500	0.9990
ketoprofen	10.9 (10)	2.8 (250)	5.4 (1000)	1.9 (10)	3.9 (250)	3.0 (1000)	92.1	104.4	101.8	8.5	10–1500	0.9940
metoprolol	19.0 (10)	10.2 (100)	7.6 (500)	12.3 (5)	3.1 (250)	2.7 (1000)	104.9	106.6	96.7	1.2	5–500	0.9958
midazolam	16.1 (5)	7.3 (100)	7.0 (500)	8.0 (5)	4.4 (250)	2.6 (1000)	118.0	101.4	95.9	0.2	5–1000	0.9906
propranolol	13.1 (5)	2.8 (100)	4.2 (500)	10.8 (5)	2.1 (250)	2.1 (1000)	85.8	113.3	98.0	0.8	5–500	0.9962
verapamil	7.2 (5)	9.7 (100)	7.0 (500)	3.1 (5)	2.0 (250)	3.0 (1000)	80.0	97.3	98.8	0.4	5–1000	0.9984
ranitidine	9.3 (10)	11.3 (100)	8.7 (500)	9.3 (5)	4.4 (250)	4.1 (1000)	90.1	89.9	102.5	0.2	50–1000	0.9900
cephalexin	9.0 (10)	6.3 (250)	6.6 (1000)	5.2 (50)	5.4 (250)	6.0 (1000)	119.0	111.1	107.6	10	50–3000	0.9932

^a 日與日間的精確度 ($n=5$)；一日中之精確度 ($n=7$)。 ^b 準確度的研究中，antipyrine 與 ketoprofen 為 10、250、1000 nM；cephalexin 為 50、250、1000 nM；其餘為 5、250、1000 nM。 ^c 偵測極限為 S/N = 5 時之濃度。 ^d 線性範圍與相關係數是取六個不同濃度的點作圖。其中濃度最低的點為定量極限。

大氣壓力光游離介面分析之結果												
分析物	日與日間的精確度 ^a			一日中的精確度 ^a			準確度 (%) ^b			偵測極限 ^c (nM)	線性範圍 ^d (nM)	相關係數 ^d (r ²)
	RSD% (濃度, nM)			RSD% (濃度, nM)								
antipyrine	8.3 (10)	7.8 (250)	6.5 (1000)	10.7 (10)	6.8 (250)	2.1 (1000)	102.6	96.9	104.1	10	10–5000	0.9996
fluorescein	11.2 (50)	12.2 (250)	5.7 (1000)	28.6 (100)	15.9 (250)	26.5 (1000)	107.1	112.8	134.2	50	50–50000	0.9970
ketoprofen	8.3 (100)	9.0 (250)	5.1 (1000)	18.2 (100)	17.6 (250)	17.0 (1000)	84.4	87.1	81.8	100	100–7500	0.9990
metoprolol	8.2 (5)	4.5 (100)	2.6 (1000)	18.4 (50)	3.7 (250)	2.3 (1000)	85.9	99.2	101.9	2.2	50–10000	0.9980
midazolam	9.3 (5)	2.9 (250)	3.3 (1000)	7.1 (5)	4.6 (250)	2.6 (1000)	103.1	107.0	102.2	1.4	5–5000	0.9940
propranolol	7.0 (5)	2.4 (100)	2.7 (1000)	13.5 (5)	4.3 (250)	4.3 (1000)	118.3	103.4	99.5	1.4	7.5–7500	0.9982
verapamil	10.4 (5)	4.2 (100)	2.0 (1000)	7.4 (5)	3.4 (250)	2.9 (1000)	88.2	103.0	93.6	0.8	5–2500	0.9984
ranitidine	14.1 (5)	4.9 (100)	6.7 (1000)	7.4 (5)	5.4 (250)	3.9 (1000)	98.3	100.8	99.8	1.2	5–5000	0.9978
hydrochlorothiazide	17.3 (5)	8.8 (250)	6.3 (1000)	8.2 (5)	7.5 (250)	5.1 (1000)	118.4	115.9	111.8	4	5–25000	0.9980

^a 日與日間的精確度 ($n=6$)；一日中之精確度 ($n=7$)。 ^b 準確度的研究中，antipyrine 為 10、250、1000 nM；fluorescein 與 ketoprofen 為 100、250、1000 nM；metoprolol 為 50、250、1000 nM；其餘為 5、250、1000 nM。 ^d 線性範圍與相關係數是取六個不同濃度的點作圖。其中濃度最低的點為定量極限。

實際觀察各分析物之訊雜比，可以發現屬於氨基甲酸鹽類之物質，使用 ESI 的訊雜比會比較好，若是屬於苯基尿素類之物質，則需使用 APCI 或 APPI 才會有較佳的靈敏度。然而使用 ESI 最大的限制在於易受到複雜基質的干擾，不僅造成圖譜背景過於複雜，在定量時也會有一定的影響。因此，ESI 之感度雖高，但是應用於真實樣品分析上之效果，卻未必會比 APPI 來得好，而目前也因為前述的這些特性，所以漸漸地有人將 APPI 應用於蔬菜、水果等樣品基質較複雜的檢測上。

圖 15 與圖 16 便是使用固相基質分散 (matrix solid-phase dispersion, MSPD) 前處理法搭配 LC/APPI-MS，檢測葡萄及洋蔥上微量殘留的氨基甲酸鹽類除蟲劑之選擇離子層析圖。雖然在這些基質複雜的食物樣品中，僅添加了 5 ng/g 的分析物標準品，然而經過選擇離子後，層析峰依然相當明顯，定量時不會受到雜訊之影響。計算所有分析物

的回收率後，我們可以發現不論是葡萄或是洋蔥樣品，其回收率均可達到 81.7% 以上，而 22 個分析物在這兩種基質當中，偵測極限最低可達到 0.33 ng/g，較差的 carbaryl 也僅有 3.33 ng/g，如表 7 所示。不論是一天內重複性的實驗或是五日內再現性的測試，所有分析物的相對標準偏差均小於 5.4%。由上述實驗數據，顯示 LC/APPI-MS 方法非常適合應用於蔬果中氨基甲酸鹽類除蟲劑殘存量之檢測，不僅偵測極限與回收率佳，同時也具有極佳的再現性。

4. 肉品中抗生素之檢測⁽¹³⁾

氯黴素 (chloramphenicol, CAP) 是一種廣效型的抗生素，因為其價格便宜且療效佳，所以常被用於畜禽類或是水產養殖動物疾病之治療。然而，氯黴素會抑制血液系統中骨髓造血的功能，導致顆粒細胞缺乏症、再生障礙型貧血等，嚴重者更可能導

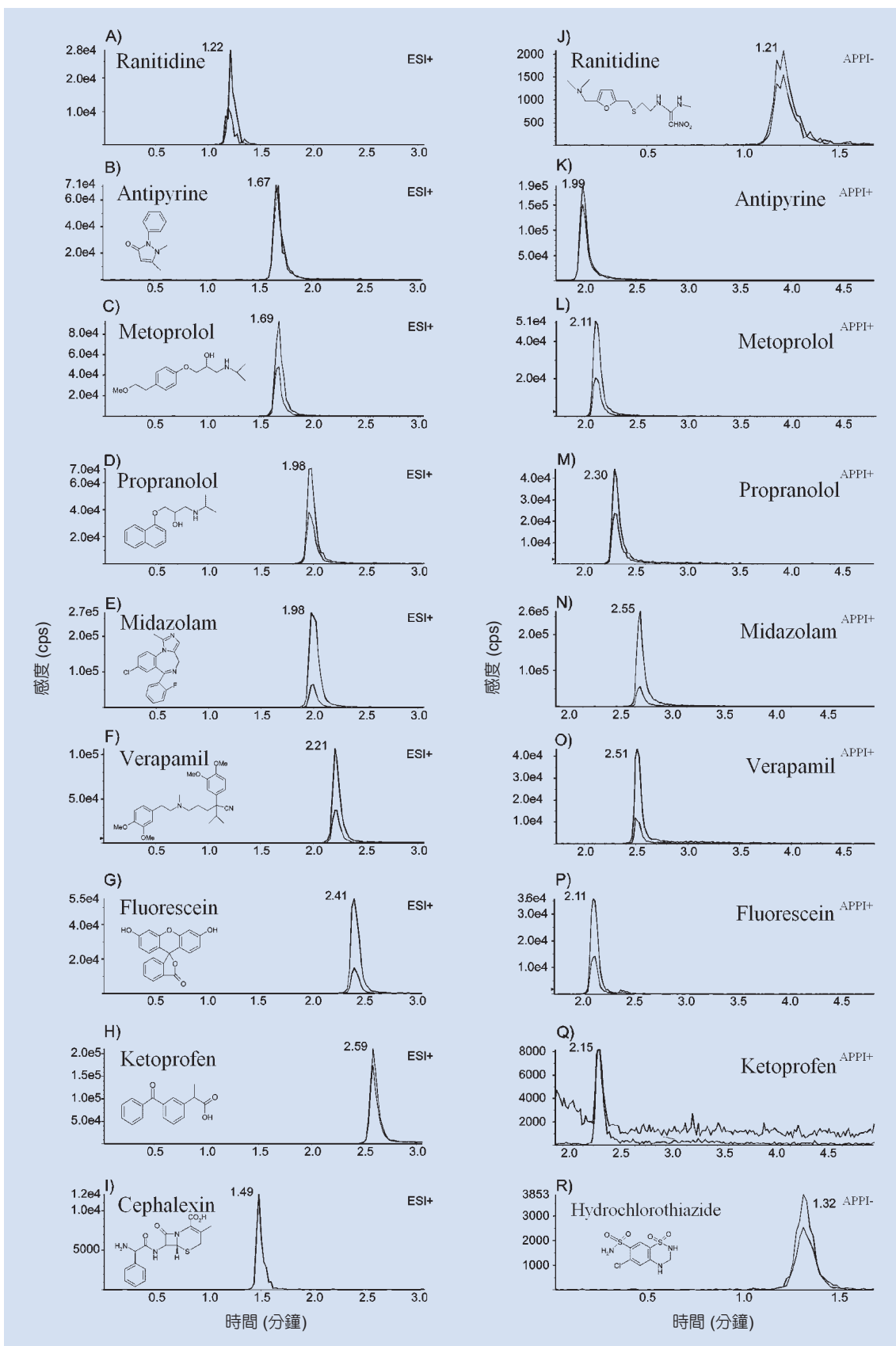


圖 13. 以 ESI 及 APPI 分析十種參考藥物之選擇離子層析圖，其中 (A)–(I) 為 ESI，(J)–(R) 為 APPI⁽¹¹⁾。

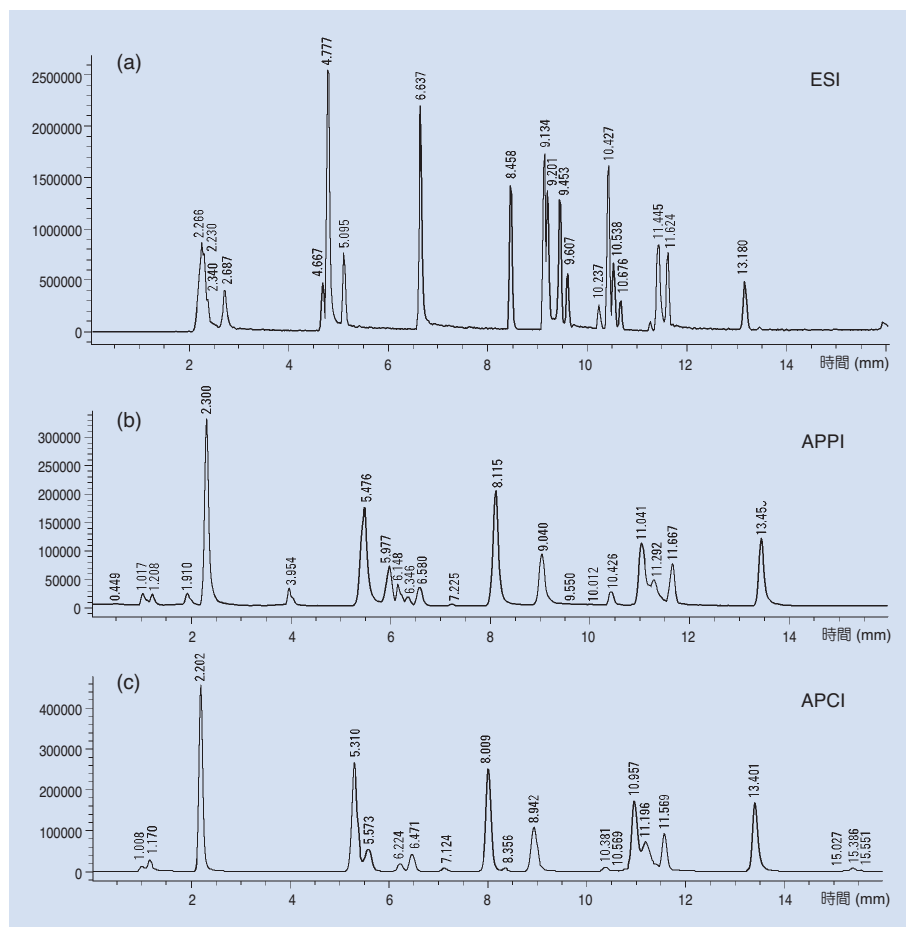


圖 14. 以 ESI、APPI、APCI 分析 19 種苯基尿素與氨基甲酸鹽類之全離子層析圖⁽¹²⁾。

致心臟衰竭。因此像美國與歐盟各國已經禁止使用，並且明文規定農產品或是水產品中的殘留量。不過因為價格便宜且取得相當容易，所以現在仍有第三世界國家繼續使用。此外，近兩年來也陸續傳出許多進口至歐美等國之水產品（魚、蝦）、雞肉、蜂蜜等被檢測出殘留過量氯黴素而導致全數被銷毀。因此如何有效的檢測食品中有無氯黴素殘留，已是全世界農產與水產進出口國家相當重要的課題。

氣相層析儀搭配電子捕捉偵檢器 (electron capture detector, ECD) 或搭配質譜儀，曾經被用來檢測各種生物體中氯黴素的含量，然而在 CAP 的層析峰旁之干擾現象，往往造成靈敏度不佳，使得定性及定量工作上備受爭議。後來 LC/ESI-MS 也曾廣泛應用於氯黴素之分析方法中，可是使用 ESI 易形成各種離子的加成物，同時也很容易受到其他物質的影響而抑制訊號產生，對於分析工作也不甚

便利。因此，Takino 於 2003 年發表以 APPI 來分析魚肉中之氯黴素含量，有效地克服基質干擾的影響，而成為具有靈敏度、選擇性、再現性佳與偵測極限低等優點之分析方法。

圖 17 為使用 APCI 與 APPI，分別分析標準品及魚肉樣本經萃取後之選擇離子層析圖。圖 17(a) 及圖 17(b) 為標準品之分析結果，經比較可以發現使用 APPI 時，層析圖之基線較低，背景值也比較單純。而圖 17(c) 及圖 17(d) 為青魴魚 (yellowtail) 魚肉樣本經萃取後之分析結果，若是使用 APCI，不僅基線較高，而且會有較多非分析物的訊號干擾，會造成定量上的困難；相反的，若使用 APPI，會減少很多干擾情形的發生，因此比較適合使用在真實樣品的分析上。

圖 18 之 (a)、(c) 為直接分析青魴魚與比目魚樣本經萃取後之選擇離子層析圖，而圖 18 之 (b)、(d) 為添加標準品於兩種魚肉樣本，經過萃取後的

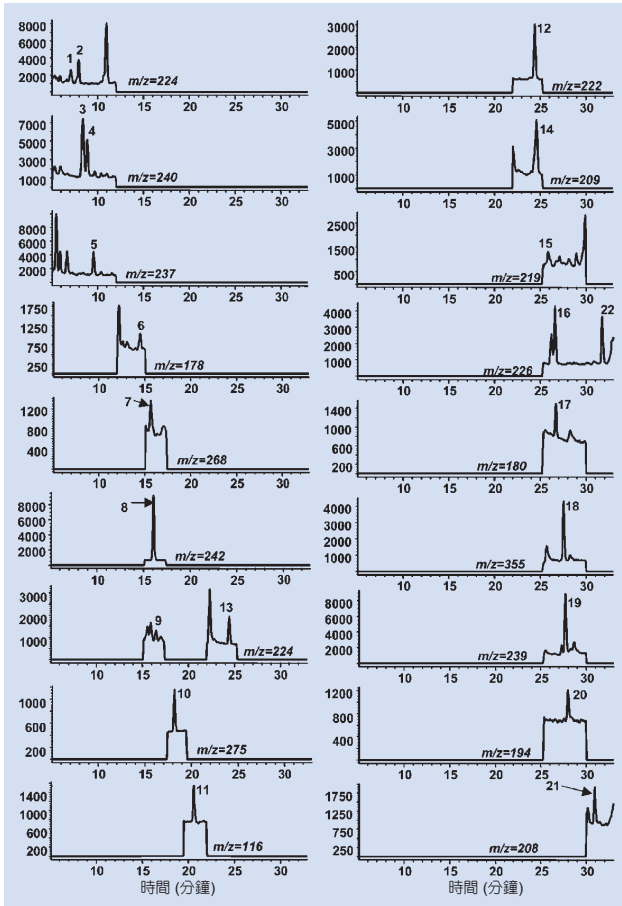


圖 15. 以 LC/APPI-MS 分析葡萄中 22 種氨基酸鹽類之選擇離子層析圖 (分析物編號見表 7)⁽¹²⁾。

選擇離子層析圖。在兩種魚肉中，並沒有檢測到殘留的氯黴素，因此添加標準品於樣本中來測試分析方法是具有良好的回收率與再現性。實驗結果顯示，添加三種不同濃度 (0.1 ng/g、0.5 ng/g、2.0 ng/g) 的標準品於兩種魚肉中，其回收率均大於 87.4%。而分析方法的重複性與再現性，其相對標準偏差均小於 7.9%，可見方法十分穩定，不會因為時間不同而產生很大的差異。至於偵測極限，因為以 APPI 分析，基質干擾的情形較小，因此在青魷魚與比目魚樣品中分別可以達到 0.27 ng/g 與 0.1 ng/g。由以上的數據顯示，APPI 應該可以取代其他的游離源，用來分析肉品中氯黴素之殘存量。

5. 類固醇荷爾蒙之分析

一些天然或是人工合成的雌性激素 (estrogens)、

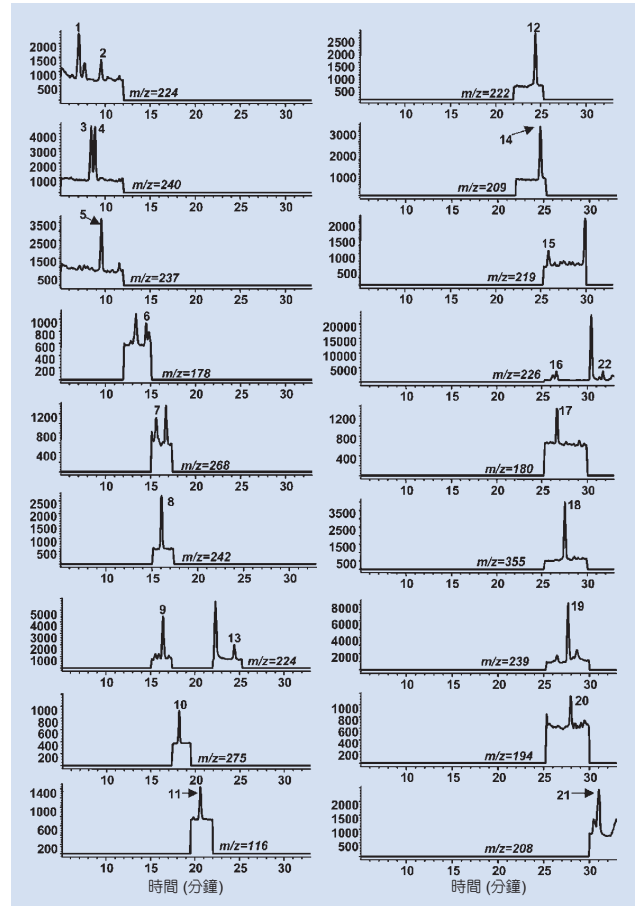


圖 16. 以 LC/APPI-MS 分析洋蔥中 22 種氨基酸鹽類之選擇離子層析圖 (分析物編號見表 7)⁽¹²⁾。

雄性激素 (androgens) 與黃體素 (progesterones)，經由動物體代謝之後，會隨著尿液而排出體外。當這些物質存在於環境中，經食物鏈的累積效應，最終有可能會干擾到動物體正常的荷爾蒙分泌，誘發一些疾病的發生。

最初，其分析方法大多是使用 GC/MS 作為檢測儀器，然而有些化合物的沸點高於 250 °C，導致在氣相層析管柱中滯留時間過長，甚至是無法分析，因此常常需要先進衍生化步驟後，才能進入儀器中分離檢測，除了增加分析所需的時間之外，若是衍生化效果不佳，可能會導致無法降低偵測極限的情形產生。因此，當 LC/MS 普及後，很多研究都改採此儀器進行，以省去衍生化步驟所耗費的時間。不過在這些研究當中，大部分是以 ESI 與 APCI 為主，僅有少數幾篇將 APPI 納入研究當中探討。

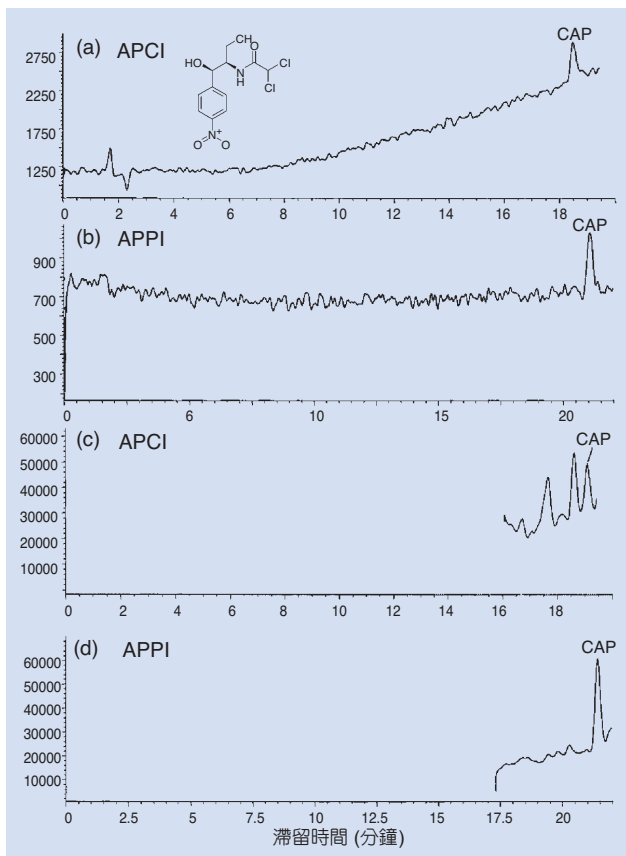


圖 17. (a) 與 (b) 為 0.1 ng/mL 氯黴素標準品之選擇離子層析圖；(c) 與 (d) 為添加 1 ng/g 氯黴素於青鮎魚中，經萃取後之選擇離子層析圖⁽¹³⁾。

如 Alary 等人以 APPI 游離源，針對五種睪丸固酮 (testosterone) 代謝物進行分析方法之開發，這項研究以正相層析法來分離五種化合物，取代逆相層析法的使用，不但展現了較佳的分離情形，同時，使用異辛烷與異丙醇作為動相溶劑，可以有效地提升靈敏度⁽¹⁴⁾。然而，另一篇針對 3'-hydroxystanozolol (HS)、6'-hydroxy-4-chlorodehy-dromethyltestosteron (HC) 與 oxandrolone (OX) 等三種具有代表性之人造合成雄性類固醇 (anabolic androgenic steroid, AAS) 的研究，卻顯示了不同的實驗結果，以多重反應監測 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式檢測上述三種類固醇荷爾蒙在人類尿液中含量，發現 APPI 的偵測極限範圍為 0.4–0.9 mM，但若使用 ESI (0.06–0.5 mM) 或是 APCI (0.08–0.9 mM) 時，卻能達到更低的偵測極限⁽¹⁵⁾。

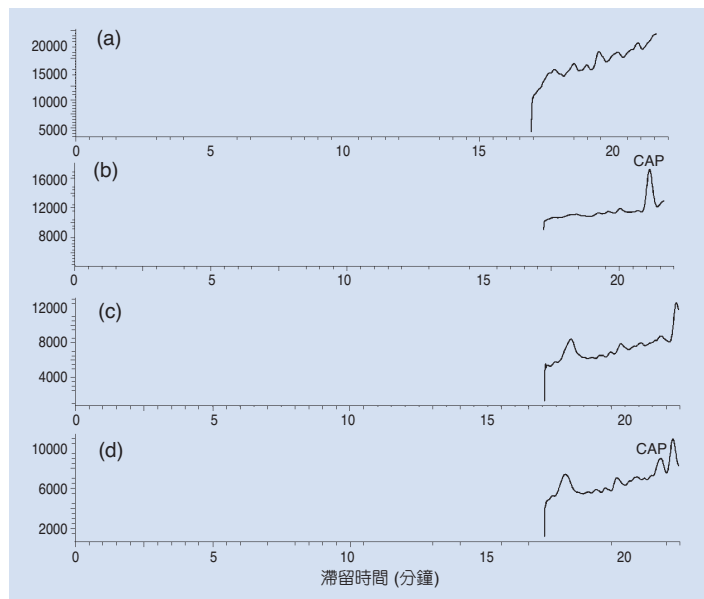


圖 18. (a) 青鮎魚樣本，(b) 添加 1 ng/g 氯黴素於青鮎魚肉中，(c) 比目魚樣本，(d) 添加 0.1 ng/g 氯黴素於比目魚肉中，經萃取後之選擇離子層析圖⁽¹³⁾。

事實上，對於類固醇荷爾蒙的研究工作，還是以逆向層析法分析居多，因此使用 APPI 時仍然沒有辦法很有效的提升分析物感度，達到使用 ESI 時之靈敏度與偵測極限。然而 APPI 具有不易被基質干擾的優點，因此若能夠尋求最佳動相組成，或是找尋適合的摻雜劑來提升分析物感度，相信在處理尿液、血液、底泥或是污水處理廠的放流水等基質複雜的樣本時，可以避免基質效應的影響，提升定性與定量的精密度與精確度。

五、結論

自從 2000 年 Robb 發表 APPI 之後，大幅度拓展了 LC/MS 可以分析的應用領域，不僅克服了以往 ESI 與 APCI 所無法分析之物質，同時也可以取代 GC/MS，以分析具揮發性、極性低與熱穩定性之分子。此外，由於具備不易被溶液中其他非分析物離子干擾之特性，因此比 ESI 更適合處理基質複雜之樣品，可以有效應用於食品、環境、藥物及生化等方面之微量分析檢測。

不過目前尚未有簡單的判斷方法，來決定 ESI、APCI 或是 APPI 適用於何種物質，因此唯有將三種介面所做出來的結果同時比較，才能決定在分析方法中應該使用何種游離介面。所以未來若能將三種不同的游離方式做在同一個游離介面上，利用軟體控制來作切換，可以讓研究者在同一個分析過程中改變游離方式，以獲得最佳的感度，如此 LC/MS 之應用領域將會更加的寬廣，逐漸成為分析儀器之主流。

參考文獻

1. R. E. Ardrey, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction*, John Wiley & Sons, Ltd. (2003).
2. D. Barceló, *Application of LC-MS in Environmental Chemistry*, Elsevier Science B.V. (1996).
3. *Agilent Technologies 1100 LC/MSD Techniques and Software Operation*, Agilent Technologies, Inc. (2001).
4. A. Raffaelli and A. Saba, *Mass Spectrometry Reviews*, **22**, 318 (2003).
5. M. Tubaro, E. Marotta, R. Seraglia, and P. Traldi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **17**, 2423 (2003).
6. T. J. Kauppila, T. Kuuranne, E. C. Meurer, M. N. Eberlin, T. Kotiaho, and R. Kostianen, *Anal. Chem.*, **74**, 5470 (2002).
7. D. B. Robb, T. R. Covey, and A. P. Bruins, *Anal. Chem.*, **72**, 3653 (2000).
8. C. M. Yang and J. Henion, *J. Chromatogr. A*, **970**, 155 (2002).
9. J. F. Alary, *et al.*, *Proceedings of the 50th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Orlando, FL, June 2-6, WPL 333 (2002).
10. A. Delobel, F. Halgand, B. Laffranchise-Gosse, H. Snijders, and O. Lapprevote, *Anal. Chem.*, **75**, 5961 (2003).
11. K. S. Hakala, L. Laitinen, A. M. Kaukonen, J. Hirvonen, R. Kostianen, and T. Kotiaho, *Anal. Chem.*, **75**, 5969 (2003).
12. C. K. Meng, *Agilent Technologies publication 5988-6635EN*, Agilent Technologies, Inc. (2002).
13. M. Takino, S. Daishima, and T. Nakahara, *J. Chromatogr. A*, **1011**, 67 (2003).
14. J. F. Alary, *et al.*, *Proceedings of the 49th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Chicago, IL, May 27-31, A010942, (2001).
15. A. Leinonen, T. Kuuranne, and R. Kostianen, *J. Mass Spectrom.*, **37**, 693 (2002).

表 7. 使用 LC/APPI-MS 分析葡萄與洋蔥樣品中 22 種氨基甲酸鹽類之回收率與偵測極限⁽¹²⁾。

氨基甲酸鹽類 ^a	回收率 (RSD, %) ^b		偵測極限 (ng/g) ^c	
	葡萄	洋蔥	葡萄	洋蔥
1. butocarboximsulfoxide	92.1 (4.2)	85.7 (3.7)	1.83	1.69
2. aldicarboxsulfoxide	89.4 (3.8)	91.3 (4.5)	1.43	1.81
3. butocarboximsulfone	88.2 (3.9)	87.5 (3.8)	1.39	1.24
4. aldicarboxsulfone	93.4 (4.1)	95.7 (4.9)	1.76	1.36
5. oxamyl	82.1 (5.4)	86.3 (4.6)	1.65	1.74
6. thiofanoxsulfoxide	87.2 (3.9)	81.7 (5.3)	1.90	1.88
7. thiofanoxsulfone	96.7 (4.1)	91.4 (3.7)	2.21	2.42
8. methiocarboxsulfoxide	102.1 (4.5)	97.6 (3.4)	0.33	0.36
9. dithiocarb	86.2 (5.1)	88.9 (4.7)	2.88	1.97
10. methiocarboxsulfone	98.7 (5.7)	92.4 (3.5)	0.71	0.83
11. aldicarb	91.4 (3.7)	88.1 (3.2)	0.99	1.53
12. carbofuran	86.6 (4.2)	89.8 (5.3)	1.22	1.44
13. bendiocarb	90.8 (3.3)	96.2 (4.5)	1.15	1.40
14. aminocarb	86.2 (4.5)	87.4 (3.8)	1.53	0.80
15. carbaryl	95.4 (3.6)	92.1 (5.7)	3.33	1.69
16. ethiofencarb	103.4 (4.1)	105.7 (4.9)	1.18	1.47
17. XMC	88.1 (4.2)	85.7 (4.8)	1.29	1.36
18. thiodicarb	90.4 (5.2)	86.6 (5.4)	1.12	1.61
19. pirimicarb	84.1 (5.3)	88.1 (5.6)	1.38	1.42
20. isoprocarb	93.7 (5.7)	89.6 (4.4)	1.69	1.72
21. fenobucarb	93.9 (5.4)	90.9 (5.9)	1.47	1.76
22. methiocarb	88.0 (5.0)	83.7 (4.5)	0.98	0.56

a : 各分析物濃度均為 5 ng/g , b : n = 5 , c : 偵測極限定義為 S/N ≥ 3 。

- 郭瀚文先生為國立中央大學化學系碩士班學生。
- 丁望賢先生為美國紐約州立大學化學博士，現任國立中央大學化學系教授。
- Han-Wen Kuo is a master graduate student in the Department of Chemistry at National Central University.
- Wang-Hsien Ding received his Ph.D. in chemistry from New York State University at Albany, USA. He is currently a professor in the Department of Chemistry at National Central University.