

計畫期末報告基本資料表

計畫期末報告基本摘要

預定進度及查核重點

計畫成果中英文摘要(簡要版)

目錄

計畫成果報告摘要(詳細版)	1
第一章.....	1
第一章 前言.....	3
1-1 背景.....	3
1-2 研究目的.....	4
1-3 本期研究目標.....	5
第二章 計畫背景說明.....	9
2-1 環境奈米粒子的分離、量測及組成鑑定.....	9
2-1-1 環境奈米粒子分離技術選用.....	9
2-1-2 環境奈米粒子粒徑量測技術選用.....	12
2-1-3 環境奈米粒子化學組成辨識可能.....	12
2-2 分離、量測及組成鑑定使用儀器.....	13
2-2-1 環境奈米粒子初步篩選：動態光散射儀.....	13
2-2-2 環境奈米粒子分離：不對稱流場場流分離系統.....	14
2-2-3 環境奈米粒子粒徑量測：多角度靜態光散射偵測器.....	19
2-2-4 環境奈米粒子組成鑑定：.....	21
2-3 前期研究計畫成果摘要.....	24
2-3-1 系統建置及效能確認.....	24
2-3-2 分離及偵測系統方法.....	27

2-3-3 偵測系統.....	30
2-3-4 結果.....	32
2-3-5 結論.....	35
2-4 本期研究計畫背景.....	38
第三章 執行方法.....	43
3-1 樣品前處理	43
3-2 利用動態光散射儀進行水樣之初步篩選.....	43
3-3 不對稱流場場流分離系統.....	44
3-3-1 移動相選擇.....	44
3-3-2 分析匣道過濾膜之選擇.....	44
3-3-3 不對稱流場場流分離匣道參數設定.....	45
3-4 分析偵測器	47
3-4-1 紫外光 UV 偵測器	47
3-4-2 多角度靜態光散射儀 (Wyatt DAWN HELEOS II).....	47
3-4-3 分液收集器.....	47
3-4-4 熱裂解-氣相層析質譜儀分析.....	49
3-4-5 感應耦合電漿質譜儀.....	50
3-4-6 總有機碳 Total Organic Carbon (TOC)分析.....	51
3-4-7 吹氣捕捉-氣相層析質譜儀.....	52
3-5 數據及資料整合	53
3-6 撰寫水中奈米粒子分離技術方法草案.....	54
第四章 結果與討論.....	57
4-1 動態光散射儀(Dynamic Light Scattering, DLS)初篩標準建立及檢測分析	57

4-1-1 利用動態光散射(Dynamic Light Scattering, DLS)儀建立奈米粒子初篩標準	57
4-1-2 本年度目標水樣於動態光散射儀(DLS)之偵測值	59
4-2 於不對稱流場場流系統下之分析數據，前處理 0.1 μm 濾膜條件	62
(一) A 廠進流水.....	62
(二) A 廠放流水.....	63
(三) A 廠進流水/放流水.....	64
(四) B 廠進流水	65
(五) B 廠放流水	66
(六) B 廠進流水/放流水	67
(七) C 園區污水處理廠進流水	68
(八) C 園區污水處理廠放流水	69
(九) C 園區污水處理廠進流水/放流水	70
(十) D 園區污水處理廠進流水	71
(十一) E 廠放流水	72
(十二) K 湖.....	73
(十三) L 溪	74
(十四) K 湖水樣於不對稱流場場流系統分離效率之探討	75
4-3 於不對稱流場場流系統下之分析數據，前處理 0.22 μm 濾膜條件	77
(一) A 廠進流水.....	77
(二) A 廠放流水.....	78
(三) A 廠進流水/放流水.....	79
(四) B 廠進流水	80
(五) B 廠放流水	81

(六) B 廠進流水/放流水	82
(七) C 園區污水處理廠進流水	83
(八) C 園區污水處理廠放流水	84
(九) C 園區污水處理廠進流水/放流水	85
(十) D 園區污水處理廠進流水	86
(十一) E 廠放流水	87
(十二) F 廠進流水	88
(十三) K 湖	89
(十四) L 溪	90
(十五) M 水庫水樣	91
4-4 動態光散射儀(DLS)與不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀(AF4-MALS)兩系統分析 之奈米物質粒徑尺寸	92
4-5 無機組成分析-重金屬含量	94
4-6 總有機碳 Total Organic Carbon (TOC)分析 - 自行補充分析	99
4-7 水中揮發性有機化合物(Volatile Organic Compound, VOC)檢測 - 自行補充分析	101
4-8 有機組成分析-熱裂解氣相層析質譜儀	105
4-9 分析數據總結與生物毒性試驗相關性初步探討	118
4-9-1 各水樣分析數據總結	118
4-9-2 生物毒性試驗數據	121
第五章 結論及建議事項	129
第六章 水中奈米粒子分離技術方法草案	137
第七章 參考文獻	147
附錄一	151

附錄二.....	171
附錄三.....	185
附錄四.....	193

圖目錄

圖 1 不對稱流場場流分離運作圖	18
圖 2 熱脫附/熱裂解溫度與分子關係圖	23
圖 3 不對稱流場場流分離分析系統整合	29
圖 4 40 kDa Dextran 於水相/1mM NH ₄ NO ₃ /10mM NH ₄ NO ₃ /SDS 移動相釋出 時間疊圖	32
圖 5 樣品分析流程圖	53
圖 6 動態光散射儀(Dynamic Light Scattering, DLS)初篩標準，經前處理 0.1 μm 濾膜	58
圖 7 上年度八個自然水體水樣及空白試樣(水)之不對稱流場場流分離系 統暨多角度靜態光散射圖譜，前處理 0.45 μm 濾膜條件下	59
圖 8 十八件水樣於動態光散射儀 (Dynamic Light Scattering, DLS)之偵測 值，經前處理 0.1 μm 濾膜	60
圖 9 十八件水樣於動態光散射儀 (Dynamic Light Scattering, DLS)之偵測 值，經前處理 0.22 μm 濾膜	61
圖 10 A 廠進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	62
圖 11 A 廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	63
圖 12 A 廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	64
圖 13 B 廠進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	65
圖 14 B 廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	66
圖 15 B 廠放流水/進流水/空白試樣：二次水(圖譜訊號由高至低)，前處 理 0.1 μm 濾膜條件下	67
圖 16 C 園區污水處理廠進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	68
圖 17 C 園區污水處理廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	69
圖 18 C 園區污水處理廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.1 μm 濾膜 條件下	70
圖 19 D 園區進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	71
圖 20 E 廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	72
圖 21 K 湖水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	73

圖 22 L 溪水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下	74
圖 23 K 湖水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下，進樣量 300 μL / 500 μL / 700 μL	75
圖 24 E 廠放流水水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下，進樣量 300 μL / 500 μL / 700 μL	76
圖 25 C 園區污水處理廠進流水水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下，進樣 量 300 μL / 500 μL / 700 μL	76
圖 26 A 廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	77
圖 27 A 廠放流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	78
圖 28 A 廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	79
圖 29 B 廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	80
圖 30 B 廠放流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	81
圖 31 B 廠放流水/進流水/空白試樣：二次水(圖譜訊號由高至低)，前處 理 0.22 μm 濾膜條件下	82
圖 32 C 園區污水處理廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	83
圖 33 C 園區污水處理廠放流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	84
圖 34 C 園區污水處理廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.22 μm 濾 膜條件下	85
圖 35 D 園區污水處理廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	86
圖 36 E 廠放流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	87
圖 37 F 廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	88
圖 38 K 湖水樣，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	89
圖 39 L 溪水樣，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	90
圖 40 M 水庫水樣，前處理 0.22 μm 濾膜條件下	91
圖 41 腐植酸標準品之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至 下)	106
圖 42 蛋白質標準品牛血清白蛋白 BSA 之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性 熱裂解圖譜(由上至下)	107
圖 43 A 廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)	108

圖 44 A 廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)	109
圖 45 B 廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)	110
圖 46 B 廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)	111
圖 47 C 園區污水處理廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下).....	112
圖 48 C 園區污水處理廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下).....	113
圖 49 D 園區污水處理廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下).....	114
圖 50 E 廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)	115
圖 51 K 湖之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)	116
圖 52 L 溪之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下).....	117
圖 53 人類皮膚角質細胞（上）25%水樣曝露 24 小時結果；（下）50%水樣曝露 24 小時結果。粉紫色下降曲線為 B 廠進流水之細胞生長曲線	122
圖 54 人類肝癌細胞（上）25%水樣曝露 24 小時結果；（下）50%水樣曝露 24 小時結果。粉紫色線下降曲線為 B 廠進流水之細胞生長曲線	123
圖 55(上)人類皮膚角質細胞在 50%的 B 廠進流水下細胞存活率為 49.01%;(下)人類肝癌細胞 B 廠進流水下則為 52.89%	124
圖 56 分離技術方法草案流程圖	144

表目錄

表 1 有機粒子分子量與預估粒徑一覽表	13
表 2 各水樣於五種移動相下之粒徑 100 nm 奈米粒子比例 (前處理 0.45 μm 濾膜, RC 分離匣道膜).....	36
表 3 各水樣於五種移動相下之粒徑 100 nm 奈米粒子比例 (前處理 0.45 μm 濾膜, PES 分離匣道膜).....	37
表 4 各水樣於不同粒徑尺寸之分液收集時間	49
表 5 九件水樣之多角度靜態光散射儀(MALS)-均方根半徑(R_g)、動態光散射儀(DLS)-水合半徑(R_h)與 ρ 值(R_g/R_h), 前處理 0.1 μm 濾膜條件下	93
表 6 分液收集 100 nm 奈米物質後, 各水樣之金屬濃度 ($\mu\text{g/L}$).....	95
表 7 前處理 0.1 μm 濾膜條件下之十件水樣之總有機碳(TOC)及總無機碳(TIC)濃度.....	100
表 8 各水樣中之揮發性有機物檢測值 ($\mu\text{g/L}$).....	102
表 9 近年環境水體奈米子研究系統及操作條件一覽表	173

計畫成果報告摘要(詳細版)

計畫名稱：環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3) –
發展適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術

計畫編號：EPA-106-E3S4-02-03

計畫執行單位：知本生技有限公司

計畫主持人(包括協同主持人)：張淑芬

計畫期程：106 年 4 月 10 日至 106 年 12 月 31 日止

計畫經費：1,400 千元

摘要

本期計畫欲發展建構適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術。共採取十八件水樣：都市廢水、鈹金噴漆加工業、機械加工區、科學園區、造紙業、陶瓷業、化妝品原料製造業、電子業、皮革加工製造業、光電業及自然水體。

利用動態光散射儀初步篩選水體中之奈米物質，評估是否進入不對稱流場場流系統分離，並評析動態光散射儀與不對稱流場場流分離系統間之關聯性；檢測水體以不對稱流場場流分離分析系統研究水樣中奈米粒子尺寸分布，再以熱裂解氣相層析質譜儀及感應耦合電漿質譜儀進行有機成分/無機金屬之組成狀態。同時提供水中奈米粒子分離技術方法草案供參考。

前處理 0.1 μm 濾膜條件下，十八件水樣中有十件水樣之動態光散射偵測值高於初篩標準；而於前處理 0.22 μm 濾膜條件下，十八件水樣有十二件水樣之偵測值高於初篩標準。多數水樣於水移動相條件下，不對稱流場場流系統皆可成功由小至大分離水樣中之粒子；樣品再現性佳，部分樣品因不同樣品瓶而有些許訊號強度的差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。而十件水樣中除造紙業放流水外， ρ 值(Rg/Rh)

皆大於 1，可見目前測試水樣中之奈米粒子多數為結構較鬆散的型態；而造紙業放流水 ρ 值為 0.6 至 0.8，構型接近實心之圓球體。

利用感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)，委託檢驗單位進行分析，針對砷(As)、鎘(Cd)、鉻(Cr)、銅(Cu)、鉛(Pb)、銀(Ag)、鋅(Zn)、鐵(Fe)八個金屬/元素；另額外分析錳(Mn) / 鎳(Ni) / 硒(Se) / 鈣(Ca) / 鎂(Mg)，共十三種金屬/元素成分。其中檢驗出砷(As)、銅(Cu)、鋅(Zn)、鐵(Fe)、錳(Mn)、鎳(Ni)、鈣(Ca)及鎂(Mg)。

此外也檢測總有機碳 Total Organic Carbon (TOC)、水中揮發性有機化合物 (Volatile Organic Compound, VOC)及以熱裂解氣相層析質譜儀進行有機組成分析。

配合之生物實驗室針對都市廢水、鈹金噴漆加工業、機械加工區共六件水樣進行生物毒性試驗，觀察到鈹金噴漆加工業進流水樣影響細胞存活率，配合粒徑分析及有機/無機成分組成推估造成細胞存活率下降之因素，達到發展適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術的目的。

The plan is to develop the nanoparticles separation technology for biotoxicity testing in environmental water. A total of eighteen water samples were taken: municipal wastewater, paper industry, mechanical processing park, sheet metal painting industry, semiconductor science park, ceramics, cosmetics raw materials manufacturing, electronic industry, leather processing and manufacturing, optical electronics industry and natural water.

The separation of the asymmetric flow field field (AF4) system was carried out after the dynamic light scattering (DLS) instrument screen the nanoparticles in the water. The correlation between the DLS and the AF4 separation system was evaluated. AF4 separation system was used to study the size distribution of nanoparticles in water samples. The composition of organic components / inorganic metals was also studied by pyrolysis gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) / inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS), and providing the draft method for separation of

nanoparticles in water.

The DLS detection of 10 in 18 water samples is higher than the screening standard in 0.1 μ m filter. The detected value of 12 samples is higher than the screening standard for 0.22 μ m filter. Most of the samples, the asymmetric flow field field (AF4) system separates successfully from small to large particles in water mobile phase and good reproducibility. Different vials might be signal differences but does not affect the distribution of particle size. The ρ (R_g / R_h) value greater than 1 shows that the nanoparticles of these water samples are loose structure except for Paper industry effluent. The ρ value of Paper industry effluent 0.6 to 0.8 indicates the structure close to the solid sphere.

Arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), lead (Pb), silver (Ag), zinc (Zn), iron (Fe) are analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and are also manganese (Mn) / nickel (Ni) / selenium (Se) / calcium (Ca) / magnesium (Mg), a total of thirteen kinds of metal / elemental components. As, Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Ca and Mg are tested among these water samples.

Total Organic Carbon (TOC), Volatile Organic Compound (VOC) in water and composition analysis by pyrolysis gas chromatography mass spectrometry were also done.

A total of six water samples of municipal wastewater, sheet metal painting industry and mechanical processing park are tested for biological toxicity. The original water of sheet metal painting industry affects the cell viability. We could estimate the cause of cells survival rate decline with the particle size and organic / inorganic components analysis and achieve the development of nano-material separation technology for biological toxicity testing in environmental water.

前言

現階段細胞毒性試驗多侷限於特定且單一種類的奈米物質，而非

含有種類繁多且組成複雜之奈米粒子的真實水樣，且真實水樣中奈米物質的分布與組成會隨著自然地理環境及人類產業活動的不同而有程度不一的影響；其困難點在於不易定義真實水樣中的奈米物質尺寸分布及其有機/無機成分組成。因此發展適用於生物毒性檢測之水體奈米物質分離技術，則可清楚定義真實水體中的奈米物質尺寸，若能配合相關生物毒性檢測數據，便能更完整的探討與了解環境中奈米物質的尺寸分布及成分組成與生物毒性間的關聯性。

前期已成功建立利用不對稱流場場流系統分離水體中奈米物質的方法；且更進一步檢測八個各具特色之真實環境水樣，以了解各種自然環境與人口產業活動對於環境水體中奈米物質的尺寸分布及成分組成影響，同時確認分離分析方法的適用性及最佳化分離條件；本期計畫欲延伸檢測水樣種類，將針對工廠製程廢水或放流水等與人口活動或特殊產業相關之水體進行奈米物質尺寸分布及化性研究。

研究方法

前期已建立不對稱流場場流分離系統及條件設定，本期計畫共採取十八件實體水樣加以篩選及分析，分別為都市廢水：A 污水處理廠進流水/放流水、板金噴漆加工業：B 廠進流水/放流水、機械加工區：C 園區污水處理廠進流水/放流水、科學園區：D 園區污水處理廠進流水/放流水、造紙業：E 廠放流水、陶瓷業：F 廠進流水/放流水、化妝品原料製造業：G 廠放流水、電子業：H 廠放流水、皮革加工製造業：I 廠放流水、光電業：J 廠放流水及自然水體：K 湖/ L 溪/ M 水庫。

本期針對 100 nm 以下之奈米物質為主體，以 0.1 μm 濾膜進行前處理，另於動態光散射儀初篩時增加 0.22 μm 濾膜前處理條件；前期已成功確認現階段最佳分析模式：水移動相 / RC 分離匣道膜 / 不對稱流場場流系統分離設定；針對採樣之十八件水樣進行動態光散射儀初篩及不對稱流場場流系統分離-多角度靜態光散儀偵測；確認樣品粒徑分布後，針對 100 nm 以下之粒子進行分液收集，利用熱裂解氣相層

析質譜儀進行有機成分分析；感應耦合電漿質譜儀進行重金屬含量分析。

結果

1. 利用動態光散射(Dynamic Light Scattering, DLS)儀建立奈米粒子初篩標準

利用上一年度採樣所得之八個自然環境水體水樣以 0.1 μm 濾膜前處理後，進行動態光散射儀 DLS 的分析，以建立初步篩選標準。此系統中得知石門水庫水樣內含之粒子訊號為最低，接近以水為空白試樣之偵測值。參照上年度於不對稱流場場流系統中之粒徑分析數據，石門水庫水樣之靜態光散射訊號值微弱(圖 7)，其粒徑分析數據準確度不佳；而曾文溪口七股濕地於動態光散射 DLS 測值約為 11,000 counts，上年度不對稱流場場流-靜態光散射系統偵測之粒徑數據較穩定；且其餘水樣偵測值皆高於 10,000 counts。

依據現有之資料及經驗值，將動態光散射儀 DLS 初步篩選標準設定為 10,000 counts。

2. 本年度目標水樣於動態光散射儀(DLS)之偵測值

本年度共採取十八件目標水樣。分別為：都市廢水 / 板金噴漆加工業 / 機械加工區 / 科學園區 / 造紙業 / 陶瓷業 / 化妝品原料製造業 / 電子業 / 皮革加工製造業 / 光電業 / 自然水體。

十八件目標水樣中，D 園區污水處理廠放流水/F 廠進流水及放流水/G 廠放流水/H 廠放流水/I 廠放流水/J 廠放流水/M 水庫共八件水樣未超過初篩標準值 10,000 counts，其餘十件水樣皆超過標準值，將進行後續不對稱流場場流系統分析及有機/無機成分組成分析。

十件水樣中以 A 廠進流水、C 園區進流水及 K 湖之測值較高，皆高於 50,000 counts。

3. 前處理 0.1 μm / 0.22 μm 濾膜條件下於不對稱流場場流系統之分析數據

整體而言，樣品再現性佳；針對多數產業廢水及自然水體分離效果好，於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子。

4. 動態光散射儀(DLS)與不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀(AF4-MALS)兩系統分析之奈米物質粒徑尺寸

K 湖之均方根半徑 R_g 與水合半徑 R_h 值皆明顯偏大；動態光散射(DLS)之 R_h 值，除 E 廠放流水及 K 湖水樣外，水合半徑 R_h 值皆小於 50 nm。

而十件水樣中除 E 廠放流水外， ρ 值(R_g/R_h)皆大於 1，可見目前測試水樣中之奈米粒子多數為結構較鬆散的型態；而 E 廠放流水 ρ 值為 0.6 至 0.8，構型接近實心之圓球體。

5. 無機組成分析-重金屬含量

本期計畫主要收集粒徑尺寸 100 nm 以下之奈米粒子。利用感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)，分析砷(As)、鎘(Cd)、鉻(Cr)、銅(Cu)、鉛(Pb)、銀(Ag)、鋅(Zn)、鐵(Fe)八個金屬/元素；另額外分析錳(Mn) / 鎳(Ni) / 硒(Se) / 鈣(Ca) / 鎂(Mg)，共十三種金屬/元素成分。

- 銅(Cu)：C 園區進流水、K 湖
- 鋅(Zn)含量較高者：B 廠進流水/放流水、C 園區進流水、D 園區污水處理廠進流水
- 鐵(Fe)含量較高者：A 廠進流水/放流水、C 園區進流水及 E 廠放流水
- 砷(As)：A 廠放流水、B 廠進流水/放流水、C 園區放流水及 D 園區污水處理廠進流水

6. 總有機碳 Total Organic Carbon (TOC)分析

除 B 廠進流水外，總無機碳之濃度皆高於總有機碳。A 廠及 C 園區之進流水與放流水，放流水之總有機碳與總無機碳濃度皆降低

7. 水中揮發性有機化合物(Volatile Organic Compound, VOC)檢測

B 廠進流水檢測出數種揮發性有機物，59 個檢測項目中測得

16 項。

8. 有機組成分析-利用熱裂解氣相層析質譜儀

分液收集所得之各水樣，先經 EGA 分析後，質譜圖皆為 m/z 44，無法確認其有機組成；而後再利用衍生化試劑進行反應性熱裂解，顯示除系統背景外，大多無顯著訊號，即無法辨識出有機性奈米物質存在之證據。

9. 與生物毒性試驗相關性初步探討

由初步的生物毒性試驗結果顯示，水樣影響細胞存活率的現象具有 Dosage dependent effect；而兩種細胞在曝露於 B 廠進流水 50% 的濃度下，皆有明顯的細胞存活率減少。

A 廠進流水與 C 園區進流水皆有相對較高之動態光散射儀 DLS 偵測值，但就目前生物毒性試驗數據並無明顯影響細胞存活率的現象；B 廠進流水雖然 DLS 偵測值低，但於 50% 水樣條件下明顯降低兩種測試細胞之存活率，考慮 B 廠進流水之有機/無機分析數據，發現其 TOC 測值較高且於 VOC 分析中也檢測出 16 項有機分子的存在。因此於考慮奈米物質對生物毒性的影響，除了解奈米粒子的數量及分布外，其有機/無機成分組成也為關鍵因素之一。

結論

利用動態光散射儀進行初篩可快速判定樣品中是否含有足量奈米物質值得進一步分析；計畫建立之不對稱流場流分離系統-多角度靜態光散射儀可成功分離及分析絕大多數目標水樣中之奈米物質粒徑分布；配合無機重金屬元素分析/有機熱裂解氣相層析及有機碳分析/揮發性化合物鑑定，可更完整了解水樣中奈米物質之成分組成，以提供生物毒性試驗於化學性/物理性之說明，更深入了解奈米物質對於生物體的影響性。

建議事項

針對發展適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術於本

計畫中已得到初步輪廓；委託單位未來若能更進一步持續與生物毒性試驗協同研究，以奈米物質粒徑大小/有機無機成分組成之物理性與化學性因素完整探討與毒性間之相關性，相信能更清楚奈米物質於生物體之作用。

現階段利用動態光散射儀 DLS 進行樣品初步篩選，以確認水樣中的確含有足量奈米物質，目前 DLS 為執行單位提供，未來若欲加速水樣中奈米物質的檢測分析，委託單位可考慮購置動態光散射儀，縮短分析時間，以達快速初篩的目的。

目前針對奈米物質之粒徑尺寸/分布及有機/無機成分組成分析著重於定性方面；定量部分現階段系統中僅有 UV 偵測器，僅可偵測具 UV 吸收的物質，未來若欲了解奈米物質之數量資訊，可考慮折射率 RI 偵測器，增添樣品含量分析範疇。

第一章

第一章 前言

1-1 背景

於前期“環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(2/3)-環境水體的奈米物質調查與評析”計畫中利用已成功開發之不對稱流場場流分離分析系統方法，檢測台灣多種具環境及地理獨特性之水體水樣，如濕地、農牧業河川水域、石化工業水域及自然環境水體等，配合有機/無機組成內容分析，以了解各水樣中奈米粒子的分布狀況及組成成分，同時確認樣品之最佳試驗條件。

文獻研究發現於天然水體與自然環境中可觀察到多種合成奈米材料如二氧化鈦、氧化鋅、奈米銀、奈米碳管、奈米銀線、石墨烯及 C₆₀等的存在¹，相關的細胞毒性試驗也有豐富的文獻資料。但現階段細胞毒性試驗多侷限於特定且單一類型的奈米物質，而非可能含有種類繁多且組成複雜之奈米粒子的真實水樣，且真實水樣中奈米物質之分布與組成會隨著自然地理環境及人類產業活動的不同而有程度不一的影響；其困難點在於不易定義真實水樣中的奈米物質尺寸分布及其有機/無機成分組成。因此發展適用於配合生物毒性檢測之水體奈米物質分離技術，可清楚定義真實環境水體中的奈米物質尺寸，若配合相關真實水體水樣與生物毒性檢測數據，便能更完整的深入探討環境中奈米物質的尺寸分布及成分組成與生物毒性間的關聯性。基於此項考慮，未來計畫方向仍以水相為分析方法開發背景，不考慮非水相之方法。

目前奈米微粒的分析技術有穿透式電子顯微鏡(Transmission Electron Microscopy, TEM)、掃描電子顯微鏡(Scanning Electron Microscopy, SEM)、原子力顯微鏡(Atomic Force Microscopy, AFM)、螢光相關光譜(Fluorescence Correlation Microscopy, FCM)、奈米顆粒跟蹤分析(Nanoparticle Tracking Analysis, NTA)、流場場流分離法(Flow Field-Flow Fractionation, FIFFF)及動態光散射儀(Dynamic Light Scattering, DLS)等。電子顯微鏡不適用於直接量測水體中的奈米顆粒，需先乾燥樣品且購買及維護費用皆較高；原子力顯微鏡可直接於液體環境下觀察奈米粒子，但每批次僅可檢測少量粒子，於數量上代表性不足；螢光相關光譜則需奈米粒子本身帶有螢光發光團官能基，限縮可檢測之粒子種類；奈米顆粒跟蹤分析技術原

理類似於動態光散射儀，都是透過粒子本身的布朗運動來計算擴散係數(Diffusion Coefficient)，進而推導粒子粒徑大小，但奈米顆粒跟蹤分析技術於 50nm 以下之粒子解析度及準確度仍需改善²，較不適用於尺寸定義為 100nm 以下之奈米粒子分析使用。

現階段本計畫使用不對稱流場場流分離法於前兩年的研究計畫執行後，已成功建立分析方法且進行實際水樣檢驗。為發展適用於生物毒性檢驗之環境水體奈米物質的分離技術，於進行更深入的不對稱流場場流分離鑑定前，需先初步篩選內含一定數量奈米物質之水樣；再利用場流分離技術確認奈米物質的尺寸分布，進行有機/無機成分組成，配合生物毒性試驗，探討真實水樣中的奈米物質對於生物體的影響。

動態光散射儀之分析特色³利於初步篩選水體中奈米物質：

1. 可直接進行水體中奈米粒子的量測，無須經乾燥等前處理，避免改變粒子原有狀態。
2. 粒徑偵測範圍從 1 nm 至 1000 nm，只要粒子可分散於溶液中皆可分析。
3. 為非破壞性分析，樣品可再回收使用，降低樣品消耗量。
4. 量測時間短，單次量測時間不超過一分鐘，可多次重覆實驗且數據再現性。

以上特性說明動態光散射儀為適合進行真實水體中奈米物質初步快速篩選之技術，先經動態光散射儀量測含有一定數量奈米粒子之水體樣品，再接續進行下一階段不對稱流場場流分離試驗。

1-2 研究目的

於“環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(1/3)-水中奈米物質分離與特性研究”已建立利用不對稱流場場流系統分離水體中奈米物質的方法；利用此分析方法於第二年的研究計畫“環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(2/3)-環境水體的奈米物質調查與評析”執行八個各具特色之真實環境水樣，以了解各種自然環境與人口產業活動對於環境水體中奈米物質的尺寸分布及成分組成影響，同時確認分離分析方法的適用性及最佳化分離條件；年度計畫擬於相同分析方法測試工業廢水分析之適用性，將針對工廠製程廢水或放流水等進行奈米物質尺寸分布及化性研究。

國外已有許多研究團隊⁴⁻⁸，針對當地自然地理環境，分析其環境奈米粒子的組成及粒徑尺寸。除此之外，廢水處理廠放流水內含之奈米物質也是研究方向之一^{9、10}；現階段針對台灣各類型產業於商品生產製造或加工的過程中，其製程原污水或放流水是否含有奈米物質仍無明確的數據或調查報告。本期研究計畫考慮採取都市廢水及數種產業於其加工製造過程之進流水或放流水進行初步奈米物質篩選，再依初篩結果進行下一階段分析。真實水體採樣考慮以下數點：

1. 製造或加工生產過程中可能產生奈米物質。
2. 考慮欲與生物毒性試驗相互探討相關性，若廢水中可能含有高濃度毒性小分子(粒徑約 2nm 以下)則不予納入採樣，避免非奈米粒子物質大幅影響生物毒性檢測結果。
3. 單一產業廢水為主，以確認各類型產業之奈米物質的尺寸分布及化性成分。
4. 廢水於排放前可能先經廠內或各單位污水廠處理，針對特定產業分別採取進流水及放流水，同時量測兩水樣中之奈米物質，可得知污水處理流程對奈米物質的影響。

1-3 本期研究目標

綜合以上條件，本期計畫欲發展建構適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術。利用動態光散射儀初步篩選水體中之奈米物質，並評析動態光散射儀與後續不對稱流場場流分離系統間之關聯性；真實檢測水體為工廠製程廢水或放流水，以不對稱流場場流分離分析系統研究水樣中奈米粒子尺寸分布及成分組成狀態。

計畫目標與工作內容執行如下：

- (一) 建構量測環境水體中奈米粒子之分離技術與分析方法。
- (二) 建立以動態光散射分析儀初步篩選水中奈米粒子之分析流程，並評析動態光散射分析儀與不對稱流場場流分析系統於分析結果之關聯性。
- (三) 以不對稱流場場流分析系統進行工廠製程廢水或放流水等之奈米粒子尺寸及化性研究。

第二章

第二章 計畫背景說明

2-1 環境奈米粒子的分離、量測及組成鑑定

奈米粒子一般定義為 1 至 100 nm；就化學組成而言，不論天然或人工奈米粒子，均可能同時包含有機與無機部份；自然膠體方面，其定義為 1 至 1,000 nm (依 IUPAC 定義)，也同樣可能包含有機與無機部份，因此在化學組成定義上，須同時針對無機與有機部份共同開展方可精準區別。而粒子係以凡得瓦爾力、氫鍵維持結構，或是以共價鍵結形成穩定存在，或受其他分子之離子帶電性影響。但奈米粒子於一般液相層析及管柱系統中常發生吸附於管柱上，因此延遲脫附時間，或是與管柱內部材質作用而無法自行脫附；亦或是產生自聚現象，改變奈米粒子的原始狀態，故提高研究的困難性。因此就環境奈米研究議題而言，定義環境奈米存在三個重點：

- 環境奈米粒子分離技術選用
- 環境奈米粒子粒徑量測技術選用
- 環境奈米粒子化學組成辨識可能

2-1-1 環境奈米粒子分離技術選用

奈米粒子吸附或自聚於液相層析管柱系統中會造成兩種偏差：奈米尺度辨識偏差與數量分佈量測偏差。由於自聚現象，奈米粒子通過液相層析分析管柱後，粒子尺度變大，失去原先真實表現情況；同時亦常發生吸附現象，造成通過管柱之奈米質量回收率不佳、粒子數量下降，各項分析值已與真正樣品狀態產生相當誤差，且此誤差不易量化，對於欲利用量測環境奈米粒子狀態，進而了解其生物毒性的影響，產生難以克服的阻礙。而不對稱流場場流分離系統可大幅改善粒子吸附或自聚於管柱間的現象；與液相層析管柱分析技術的差異點如下：

1. 保存奈米粒子的原始狀態：

不對稱流場場流分離系統相對於單一奈米粒子而言，為一個巨大且空曠的流

體流動空間，奈米粒子間之相互作用機率不高，亦即帶有多電荷之奈米粒子也不易產生聚合現象，因此可保留奈米粒子本身的原始狀態。

2. 允許大範圍尺寸的奈米粒子通過：

不對稱流場場流分離系統機制主要是運用流體壓力及流體方向，針對粒子於層流狀態下改變其應有之原始流速，擴大不同尺寸粒子之流速差，進而達到分離的目的；故可懸浮於液態流動相之粒子，無論尺寸大小，皆可利用不對稱流場場流系統分離，再搭配適當的偵測器加以感測分析；而傳統的液相層析管柱分離系統則有粒子尺寸的限制，超過限值大小的粒子可能會存留於管柱中無法脫離或無法達到與其他粒子分離的目的。

3. 快速更換移動相：

不對稱流場場流分離系統允許全系統於 2 至 3 小時內快速更換移動相，達到可執行分離實驗的狀態。

近年來，不對稱流場場流分離系統已被運用於多項創新研究領域：如製藥業及生技產業，用以分離鑑定蛋白質、多醣類、生物性高分子及細胞等；而於環境科學中可分離分析有機/無機高分子、自然/人工奈米粒子等。在環境研究議題上，針對不對稱流場場流分離系統研究方向如下：

2-1-1-1 量測環境奈米粒子

參考林俊德教授於環境分析評論⁹中之整理：2011 年發表於 Trends in Analytical Chemistry(分析化學趨勢期刊)「Separation and characterization of nanoparticles in complex food and environmental samples by field-flow fractionation 以場流分離技術分離及定性在食物及環境樣品中的奈米粒子」¹⁰，回顧 62 篇場流分離 (Field-Flow Fractionation, FFF) 相關論文。指出若要完整分析自然奈米粒子或人工奈米粒子，需經過偵測、確認、定量以及詳細的特性描述 (Detailed characterization)。在複雜或非均質的樣品中，此一系列中的每一步驟都是單一挑戰，而場流分離 (FFF) 是相當可行的方法之一，可以得到相關的特性描述結果。文獻中提及各種介質中奈米粒子 (有機、無機、大分子或食品及天然水、土壤萃取物等)，透過 FFF 分離的技術現況。FFF 可以搭配各種偵測儀器，得到更多其他技術無法獲得的資訊。分離條件可視各種粒子特性而調整，複雜及非均質基質的定量，需要依據樣品特性測試最適合的

分離條件。

對於複雜的樣品，如何找出最佳化條件，才能達到最好的分離，文獻也有詳盡的說明，相關步驟包括：樣品的配製、分離方法的選取、移動相的性質、分離匣膜的特性及選擇、溝槽的大小、外加力場的應用、偵測器的選用及定量分析等，這些步驟皆應用於我方後續工作研究上。

2-1-1-2 量測環境奈米粒子與多重偵測器聯用

參考林俊德教授於環境分析評論⁹中之整理：2011 年發表於 Journal of Chromatography A（層析期刊 A）「Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems 流動式場流分離（Flow Field-Flow Fractionation, FIFFF）用於天然膠體與環境系統中人造奈米粒子的分析及特性研究」¹¹，評論性回顧 FIFFF 用在天然膠體及人造奈米粒子的 192 篇文獻，整理資料如附錄二表 9。流動式場流分離技術（FIFFF）在過去數十年來用於天然膠體及奈米粒子的分離及特性研究，逐漸增加。近年來，用在人造奈米粒子的特性研究非常普遍。

不同於傳統過濾方法，FIFFF 提供一種連續且高解析度的分離，與奈米粒子擴散係數成函數關係，所以可用來測定粒徑分佈。若與其他偵測器（例如感應耦合電漿放射光譜儀/質譜 ICP-OES / MS、多角度靜態光散射分析儀 MALS、動態光散射分析儀 DLS、UV-VIS 吸收光譜、螢光光譜、有機碳偵測器、穿透式電子顯微鏡 TEM、原子力顯微鏡 AFM 等）結合，則可將 FIFFF 沖提出來的奈米粒子，予以分類及定性。相較 FIFFF 與其他分離及粒徑量測技術，FIFFF 更能提供包括大小、形狀、結構參數、化學組成及粒子與污染物間結合（Particle-contaminant association）等豐富的資訊。

從環境分析觀點，運用不對稱流場場流分離系統可將大範圍地了解環境水體中的奈米粒子狀態及分布，相關資料可參考文獻 11 至 21，進而建立環境水體中奈米粒子資料庫，未來亦可進一步結合環境毒性與污染整治做後續研究。

2-1-2 環境奈米粒子粒徑量測技術選用

如上述可知，不對稱流場場流分離系統可與多樣偵測器搭配使用，如感應耦合電漿放射光譜儀/質譜 ICP-OES / MS、多角度靜態光散射儀 MALS、動態光散射儀 DLS、UV-VIS 吸收光譜、螢光光譜、有機碳偵測器、穿透式電子顯微鏡 TEM、原子力顯微鏡 AFM 等，不同類型之偵測器可提供環境奈米粒子各方面定性或定量的資訊，如重金屬的含量、有機物的性質或粒徑的大小等；而多角度靜態光散射儀、動態光散射儀、穿透式電子顯微鏡及原子力顯微鏡可提供關於粒子粒徑尺寸的訊息，其中多角度靜態光散射儀及動態光散射儀更可直接與不對稱流場場流分離系統串接，進行線上偵測，無須再經樣品收集的步驟，改善操作的便利性及縮短整體分析時間。

多角度雷射光散射量測技術為極佳選擇。光散射理論發展始於十九世紀迄今超過兩百年，其中經過物理與數學不斷的推演、計算、確認，已成為成熟的應用科學技術。透過穩定發出之雷射光，收集雷射光打在奈米粒子上造成之散射光強度，透過相對數學推導即可獲得奈米粒徑及數量資訊。配合不對稱流場場流分離輔助，可正確掌握各類環境水體中奈米粒子之資訊。後續將針對多角度靜態光散射量測計算做進一步的理論說明。

2-1-3 環境奈米粒子化學組成辨識可能

人類與生物及環境的各項互動、交流，其一是產生了環境化學組成差異性。環境化學組成的差異與毒性、安全性、環境永續性息息相關，現有環境化學物質的分析、管制與監控，均是針對單純化學分子而定，其分子量均在 1,000 Dalton 以下，換算其尺寸大小約為 1.5 nm 以下粒子(如表 1 所示)。然而真實環境中奈米粒子分布之範圍遠不止於此；以分子量與粒徑大小討論，環境奈米粒子定義為 100 nm 以下之粒子，合理推測環境奈米粒子組成亦可能同時包括有機分子、生物性高分子、重金屬粒子，如何顯現化學組成並輔以相對粒子尺寸，對於有機、無機組成於環境中之常年走向掌握與環境毒性的影響，可以進一步探討研究可行性。

將以 UV 光譜線上偵測樣品中之有機物質，收集各粒徑範圍之水樣使用感應

耦合電漿質譜儀進行無機重金屬濃度檢驗，同時協同熱裂解氣相層析系統鑑定奈米粒子可能之成分組成，搭配環境資訊比較討論各水體樣品的差異性。

表 1 有機粒子分子量與預估粒徑一覽表

分子量(k Dalton)	不規則團狀分子(nm)	線形分子(nm)
1	1.6	1.4
10	4.2	4.8
50	8.6	11.6
100	11.6	17.2
1,000	32	61
2,500	48	101.2
10,000	88.2	217.2
13,000	99	251

資料來源：Wyatt, DYNAMIC SV7 Optimization Calculator

2-2 分離、量測及組成鑑定使用儀器

2-2-1 環境奈米粒子初步篩選：動態光散射儀

由於各種產業及自然/人工環境條件下產生之奈米粒子於種類、粒徑尺寸或數量等狀態皆差異極大；於進行不對稱流場場流系統深入分析前，希望能建立更快速且簡易的方式，對於欲了解之目標水樣進行快速篩選，同時初步了解粒徑分布範圍。

如前述介紹說明，動態光散射儀可直接分析水樣中的奈米粒子，無須經過乾燥等前處理；其偵測範圍由 1 nm 至 1000 nm，粒子可分散於溶液中皆可分析；同時為非破壞性分析，樣品可回收再使用，減少樣品消耗；且偵測時間短，單次量測時間短於一分鐘，利於重複試驗且再現性佳。

動態光散射儀是利用懸浮在液體中的粒子與溶劑分子的隨機碰撞，產生布朗

運動的原理，進而量測雷射光撞擊到粒子後所產生的散射光。透過散射光線隨時間波動使用相關函數進行分析，則可計算出粒子的粒徑及其粒徑分佈。

當光射在遠小於其波長的小顆粒上時，光會往各個方向散射（瑞利散射）。若為雷射光源，在某一方向上，可觀察到散射光強度隨時間而波動；由於溶液中的微小顆粒正在進行布朗運動，且每個發生散射的顆粒間之距離一直隨著時間而變化。來自不同顆粒的散射光因相位不同產生建設性或破壞性干涉。所得到之隨時間波動的訊號曲線內含產生散射的物質隨時間移動的資訊。動態光散射實驗易受灰塵或雜質影響，故樣品的過濾和離心十分重要。

動態光散射可用於蛋白質、高分子、膠束、糖和奈米顆粒的尺寸分析；也可應用於穩定性研究，通過測量不同時間之粒徑分佈，可顯現粒徑隨時間變化的趨勢；也可用來分析溫度對穩定性的影響。

2-2-2 環境奈米粒子分離：不對稱流場場流分離系統

流場場流分離系統(Flow Field-Flow Fractionation, FIFFF)為一種基於流體力學，類似於層析法的洗提技術，於薄平型的分離匣道中，粒子與移動相之垂直向流(Cross flow)作用而分離。分離匣道的兩側具通透性(為對稱流場場流系統 Symmetrical FIFFF)，允許移動相之橫向流動通過匣道，具通透性的匣道側面則會覆蓋超濾膜，以保留粒子於匣道中。粒子會沿著液流(Channel flow)方向洗提而出，與橫向流動呈垂直方向。雖然粒子會持續於匣道中的各個方向進行布朗運動，但經橫向流動的作用，粒子會往具通透性的匣道側移動。

於不對稱流場場流系統中(Asymmetrical FIFFF, AsFIFFF)，匣道中僅有一側具通透性，通常上半側為無通透性的玻璃。移動相自匣道注入口進入(V_{in})，分為穿過通透性超濾膜(V_c)及往匣道末端連接偵測器(V_{out})的兩部分， $V_{in} = V_{out} + V_c$ 。為補償沿著匣道液流方向的流量體積減少，維持液流流速的穩定，不對稱流場場流匣道為不相等的四邊形，匣道的寬度由注入口端往出口端縮減。

不對稱流場場流系統是近年來流場場流系統的主軸。其優點如下：

- (a) 針對奈米粒子，可提供連續且高分離度之分離效果，從而量測出奈米粒子之大小。

- (b) 可與多種不同偵測器以連線或不連線方式重組使用，提供樣品進一步之化學資訊；偵測器包括：感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)、多角度靜態光散射儀(MALS)、紫外光吸收偵測器(UV)、螢光偵測器(FLD)、穿透式電子顯微鏡(TEM)、原子力顯微鏡 (AFM)；其中感應耦合電漿質譜儀、多角度靜態光散射儀、動態光散射儀、紫外光吸收偵測器、螢光偵測器可為連線分析聯用系統，其餘則為非連線聯用系統。
- (c) 可提供奈米粒子大小、形狀、結構等特性。
- (d) 可利用染色高分子確認聚焦狀態。
- (e) 分離匣道薄膜更換便利。
- (f) 於聚焦功能下，樣品注入量多寡均不會影響分離能力。
- (g) 稀薄濃度樣品可透過大量注入分離匣道提高匣內之樣品濃度與偵測極限。
- (h) 分離效能較其他流場場流系統為佳。
- (i) 基於流路設計，污染殘留之可能性不高。

在缺點方面，不對稱流場場流系統有以下現象：

- (a) 在奈米粒子大小超過 1000 nm 後，可能會因粒子過大沈澱而產生不可預期之分離現象。
- (b) 分離設定須考慮因子眾多，操作上需要相當訓練。
- (c) 分離匣道上之薄膜老化以後，可能會有粒子污染殘留現象。

2-2-2-1 系統組成

(a) 動力與分離系統

- Agilent 1260 液相層析儀系統：四元泵浦、移動相線上自動除泡裝置、溫控自動進樣器 (配 900 μ L 樣品迴路)。
- Wyatt 不對稱流場場流分離系統：線上粒子過濾組件、DUALTEC - metal free 不對稱流場場流分離系統、不對稱流場場流用長分離匣道(Long channel)

(b) 偵測器

- UV 偵測器：Agilent VWD 偵測器
- 多角度靜態光散射儀：Wyatt HELEOS II 十八角度靜態光散射儀

(c) 分液收集器

- Agilent 1260 分液收集器

2-2-2-2 系統功能

不對稱流場場流分離系統包成四元泵浦、移動相線上自動除泡裝置、線上粒子過濾組件、自動進樣器、不對稱流場場流分離系統；其各擔負工作如下：

- (a) 四元泵浦：移動相輸送
- (b) 移動相線上自動除泡裝置：去除移動相中之氣泡粒子
- (c) 線上粒子過濾組件：去除移動相中之粒子
- (d) 溫控自動進樣器：樣品進樣
- (e) 不對稱流場場流分離系統：樣品分離
 - 就不對稱流場場流分離儀而言，分離儀分為兩大部分：壓力與流量控制儀及分離匣道。樣品打入分離匣道後，如果無外力作用將以布朗運動擴散於整個分離匣道內，形成自然的粒子分布。此時於分離匣道中若移動相以水平方向帶動樣品流動，依流體運動原理及現象，越靠近流體中央的流速越快，越接近管壁或牆面，流速越慢；以縱切面觀之：小粒子分布於流體中央、大粒子分布於流體底部。配合移動相的流動，產生了小粒子先流出分離匣道，大粒子次之的現象；因而產生分離現象，唯此時分離效果並不明顯。不對稱流場場流分離儀為加強分離效果，於分離匣道底部置放微孔性過濾膜，移動相透過流過微孔性過濾膜創造縱向之壓力，使得大粒子因摩擦力而降低流速，從而使得小粒子與大粒子之流速差距繼續擴大，以達到理想分離的效果；同時透過合適的選擇微孔性過濾膜可將欲分離分析之粒子保留於分離匣道中並儘可能降低樣品被吸附於微孔性過濾膜之量。
 - 不對稱流場場流分離運作如圖 1 所示，其控制設定因子包括以下項目：
 - (a) Detector Flow：分離匣道水平方向流速
 - (b) Focus Flow：樣品進入分離匣道時，為避免樣品擴散並集中，由分離匣道左右兩端(Inlet 及 Outlet)點注入之移動相

總流速

- (c) Cross Flow：垂直向流；分離匣道垂直方向流速，並透過分離匣道下方過濾膜流出

流動模式包括以下項目：

- (a) Focus：樣品注入前，清洗分離匣道並使得匣道內水流穩定維持集中能力，等待樣品注入
- (b) Focus + Inject：樣品注入並集中
- (c) Elution：透過 Detector Flow 及 Cross Flow 的設定，樣品開始分離並依序由分離匣道釋出
- (d) Elution + Inject：將未排淨之樣品完全排出分離匣道

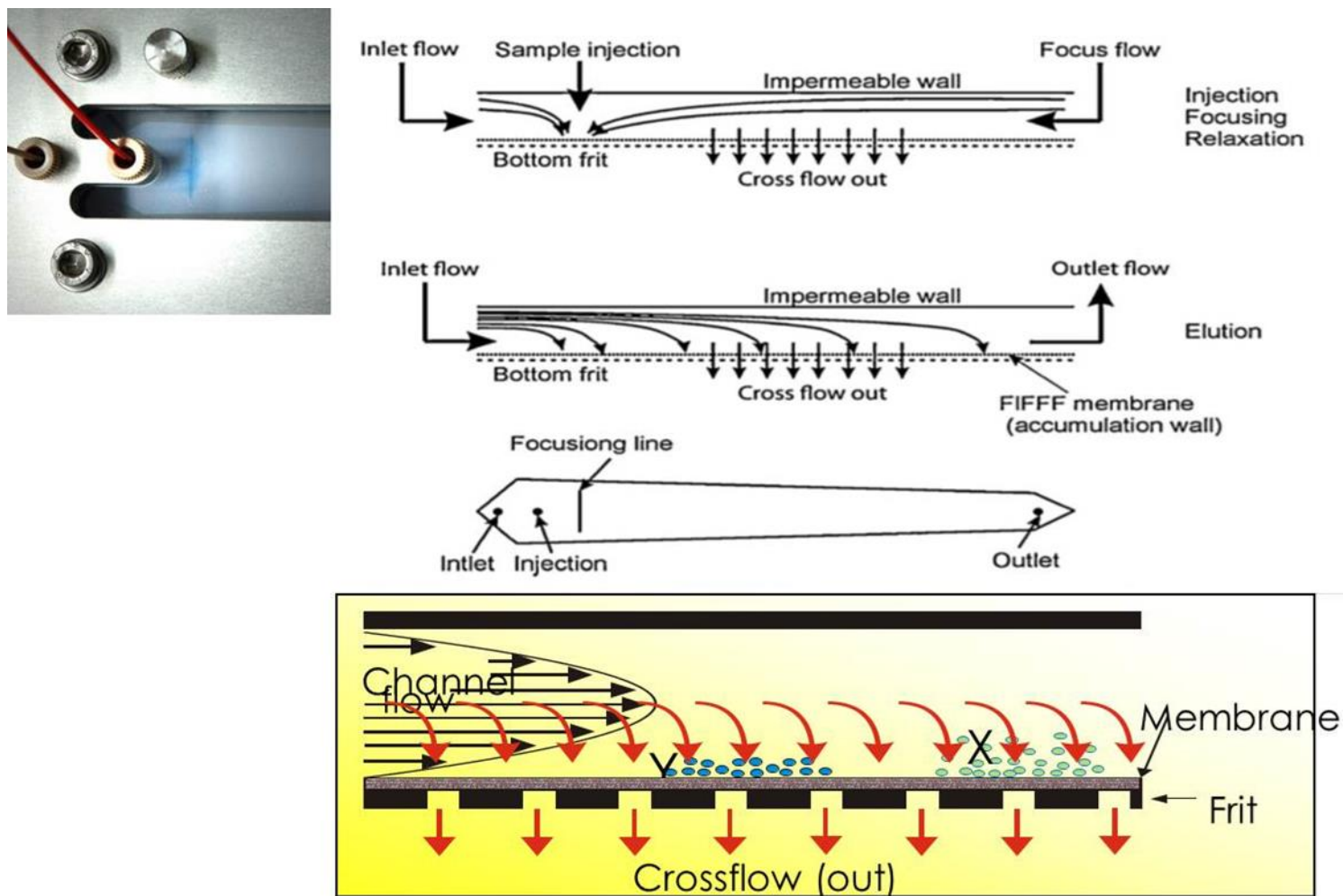


圖 1 不對稱流場場流分離運作圖

2-2-3 環境奈米粒子粒徑量測：多角度靜態光散射偵測器

19 世紀，瑞利勳爵 Lord Rayleigh (John William Strutt) 提出天空為何為明亮藍色的解釋。他的見解是根據 James Clerk Maxwell 於 1865 年提出的基本方程式，描述光及其與其他物質的相互作用，為理論物理學中最重要的成就之一。延伸瑞利的理論，討論溶液中通過較大分子之光散射被稱為 Rayleigh-Gans-Debye (RGD) theory of light scattering。

在典型的光散射實驗中，平行之單頻偏極光束(雷射光源)被用來照亮含有懸浮大分子或有興趣的奈米顆粒溶液。偏極光束的電場主要垂直於測量平面，而散射光的強度和散射光的角度依賴性是基於測量平面產生(意指偏極方向為垂直而測量平面為水平方向)。光散射訊號強度可計算出分子的莫耳質量，而在水平面中的散射光角度依賴性則可顯示出分子尺寸的大小。

- 光散射的角度依賴性與分析粒子尺寸大小之相關性

當分子的粒徑相較於入射光波長來的小很多的時候，基本上可將每個分子視為單點散射處理。對於粒徑非常小的分子($< 10\text{nm}$)，散射光零落成與垂直平面中各角度無關的訊號；也就是說在每一個散射角度都是相同的訊號強度。

對於粒徑較大的分子，來自分子不同部分的散射光到達檢測器而有相位上的差異。導致檢測器的總光波產生破壞性或建設性干涉。散射光的訊號強度會隨著傳播距離而有相對強弱，且於測量平面上之不同角度也會有變化。

若散射光的角度依賴性可在水平量測面內被偵測，就可確定該分子的尺寸。這個尺寸測量被稱為均方根 root mean square (rms) 半徑，或為迴轉半徑 radius of gyration (r_g)。均方根半徑是指該分子的大小是由其質心質量經加權分布計算後所得之半徑。若可確定分子構型屬於特定類別(例如隨機線圈、球形或桿狀)，均方根半徑將與其幾何尺寸具關聯性。複雜性樣品可先利用粒徑篩析層析法 (Size Exclusion Chromatography, SEC) 或膠體滲透層析法 (Gel Permeation Chromatography, GPC) 分離，並在每個洗脫體積取得光散射數據，以確定莫耳質量 M_w 和均方根半徑。所測量之均方根半徑與相對應之莫耳質

量可用以確認樣品的構型。

● 方程式及數據分析

Bruno Zimm^{22, 23} 整理 Rayleigh-Debye-Gans(RGD) theory，將其於光散射的概念轉化為簡單的方程式。正如 Philip Wyatt 於 1993 年²⁴ 的評論文章中所描述，Zimm 發展出來的方程式為：

$$\frac{K^*c}{R(\theta, c)} = \frac{1}{M_w P(\theta)} + 2A_2c$$

$R(\theta, c)$ ：excess Rayleigh ratio，為散射角 θ 與樣品濃度 c 之函數；扣除溶劑之背景訊號後，將正比於散射光訊號強度。

c ：溶質濃度

M_w ：重量平均莫耳質量

A_2 ：第二維里係數

K^* ：常數 $4\pi^2 (dn/dc)^2 n_0^2 / N_A \lambda_0^4$

N_A ：亞佛加厥數

$P(\theta)$ ：光散射之角度依賴性函數，與均方根半徑有關

$$P(\theta) \approx 1 - \frac{16\pi^2 n_0^2}{3\lambda_0^2} \langle r_g^2 \rangle \sin^2 \frac{\theta}{2} + O(\sin^4 \frac{\theta}{2}) - \dots$$

n_0 是溶劑的折射率， λ_0 是雷射的真空波長， r_g 為均方根半徑。在此可知粒徑大小與散射光角度依賴性之間的相關性。對於較大的粒子(r_g 約大於 50 奈米以上)，則需要使用其他的 $P(\theta)$ 函數方程式計算。

均方半徑 r_g^2 可由 $\sin^2(\theta/2)$ 對 $1/R(\theta, c)$ 作圖，當 $\theta = 0$ 時之斜率計算而來。若大分子之質量 M 由每個 m_i 計算而來，可得方程式：

$$\langle r_g^2 \rangle = \sum_i r_i^2 m_i / \sum_i m_i = \frac{1}{M} \sum_i r_i^2 m_i$$

r_i 為每個 m_i 距分子整體質量 M 中心的距離。

基本上光散射方程式於各個角度皆適用。利用電腦收集所有角度的數據，並應用 Global Fit 程式，測得所有角度下之質量與尺寸的關係。結合多個角度得到的數據也意味著提高準確度和精密度。

2-2-4 環境奈米粒子組成鑑定：

2-2-4-1 熱裂解-氣相層析質譜儀系統(有機組成分析)

熱裂解氣相層析質譜儀(Py-GC-MS)為一種快速分析高分子化合物的方法，近年來發展迅速。其基本原理為於氣相層析儀注射孔部位裝置熱裂解儀，再將樣品置於熱裂解儀內，於一定高溫下加熱(50 至 1000°C)，使之迅速裂解成可揮發的小分子，並直接用氣相層析分離和質譜儀鑑定裂解碎片，最後，從裂解圖譜的特徵判斷樣品的組成、結構和性質，也就是說此儀器之功能為可將無揮發性化合物在無氧之狀態下利用熱降解，轉換成為具揮發性之化合物。其可應用於氣相層析法(GC)不能分析的大分子物質，如聚合物材料(塑膠、橡膠、合成纖維、塗料、膠黏劑等)、石油、食品、菸草、礦物中的非揮發性有機物質、刑事偵測的有機及固體樣品等。

- 系統組成

熱裂解儀 Frontier Lab PY-2020 id

選擇性樣品進樣器 Frontier Lab Selective Sampler

冷凍聚集捕捉模組 Frontier Lab MicorJet Cryo-Trap

熱裂解自動進樣器 Frontier Lab Auto-Shot Sampler

氣相層析質譜儀 Agilent 6890N-5973N

NIST 圖譜資料庫

F-Search 高分子圖譜資料庫

- 系統功能

如表 1 有機粒子分子量與預估粒徑一覽表，粒徑大於 10 nm，分子量可達 50 kDa，如超過 100 nm，則分子量於全有機狀態下可能達到 2,500 kDa。50 kDa 無論就化學合成或生物物質而言，均屬於高分子狀態。以熱脫附/熱裂解溫度與分子特性關係(如圖 2 所示)而言，可能需要超過 300 至 500°C 溫度方能完整解析奈米粒子樣品。

一般傳統氣相層析質譜儀無法執行此項應用，唯有採用熱裂解-氣相層析

質譜儀方可符合分析需求。

計畫採用之分析模式如下：

- 熱效應氣體分析模式，EGA
儀器組成：熱裂解儀/氣相層析質譜儀
2.5 米不鏽鋼管柱
樣品狀態：液態/膠態/固態
溫度程式：由使用者任意設定，升溫程式可由 50°C 升至 700°C，升溫速率為 20°C/min。
可能分析結果：樣品置於升溫條件環境下，因能量之供給及其熱特性，樣品中之有機物質將逐漸變為氣化之有機物。氣化之有機物通過 2.5 米短不鏽鋼管柱後進入質譜儀並分析。分析結果圖譜有以下之特性：
 - (a) 了解奈米粒子就化學鍵結歸類；歸於單一可熱脫附之分子或具有共價鍵結之高分子。
 - (b) 對於高分子聚合物，備有圖譜資料庫可供初步篩選判別。
 - (c) 經 EGA 讀出之氣化溫度，可作為後續熱裂解分析之溫度設定點。
- 反應性熱裂解分析模式，Reactive Pyrolysis
儀器組成：熱裂解儀/氣相層析質譜儀
30 米不鏽鋼管柱
樣品狀態：液態/膠態/固態
溫度程式：升溫至 320°C，分析樣品與 TMSH (Trimethylsulfonium hydroxide)反應後之圖譜。
可能分析結果：
 - (a) 擬鑑定奈米粒子是否含有蛋白質或有機酸之組成。

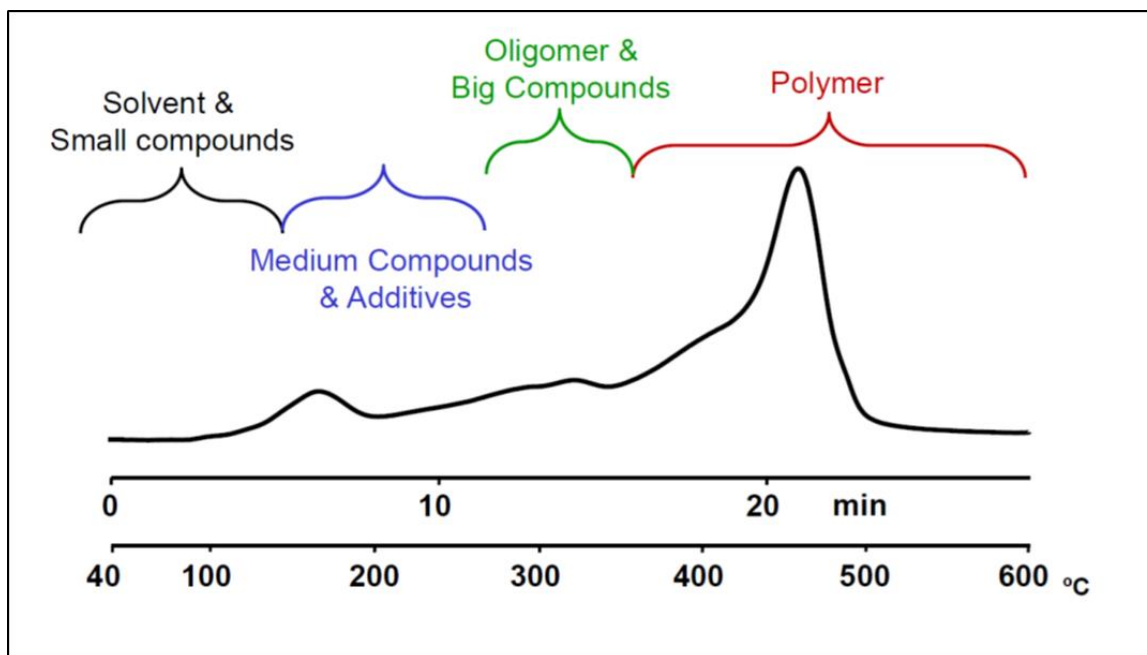


圖 2 熱脫附/熱裂解溫度與分子關係圖

2-2-4-2 感應耦合電漿質譜儀系統(重金屬分析)

感應耦合電漿質譜儀是一種利用高頻電磁感應產生的高溫氬氣電漿，使導入電漿中的樣品受熱而起一系列的去溶劑、分解、原子化、離子化及激發等反應，再經由質譜儀檢測其含量。

以適當的霧化器 (Nebulizer) 將待測樣品溶液先經霧化處理後，藉由載流氣體將所形成含待測元素之氣膠 (Aerosol) 輸送至電漿 (Plasma) 中，樣品受熱後，經由一系列去溶劑、分解、原子化/離子化等反應，將待測元素形成單價正離子，再透過真空界面傳輸進入質譜儀 (Mass spectrometer)，藉由質量分析器 (Mass-analyzer) 將各特定質荷比 (Mass-to-charge ratios) 之離子予以解析後，以偵測系統加以偵測，來進行多元素之定性及定量工作。

2-3 前期研究計畫成果摘要

2-3-1 系統建置及效能確認

綜合蒐集文獻確認各種可能影響不對稱流場場流分離效能之因素，配合環境檢驗所現有之設備於所內設置不對稱流場場流分離、偵測及分液收集系統；安裝與建置步驟如下：

(一) 分離匣道類型與自動聚焦

如圖 1 所示之不對稱流場場流運作圖，不對稱分離匣道上任一位置均可為聚焦位置，其差別在於剩餘之匣道長度是否足以進行分離。聚焦位置不同，其對應之匣道壓力相異；因此在系統啟動初始需進行” Calibration Separation Devices” ，宣告系統使用。

- 長分離匣道 Long channel (LC)，長度 29 cm
- Spacer Height：350 μm
- Membrane：Regenerated Cellulose (RC)，10 kDa
- Spacer Type：W

由” Calibration Separation Devices” 指令運作輸液系統產生對應之各種樣品注入及聚焦數據，自動記錄於軟體內，並獲得聚焦百分比與聚焦距離關係表。使用者選定聚焦百分比後，系統將自動顯示聚焦位置，並於啟動後自動設定並運作分離匣道 inlet 及 outlet 之壓力。一般而言，LC 的自動聚焦百分比落在 8 至 12 %，但會因系統的差異性及連接管路之長度而變化。本系統採用之自動聚焦百分比值為 12 %。

(二) 背壓 (Back pressure)調整

長分離匣道(LC)通常用以注入大量體積之樣品，其壓力上限為 30 bar，超過此值系統將會強制關機以保護精密流量控制組件。為避免過壓狀況發生，需要調整背壓至適當值。通過調整不對稱流場場流分離系統與後續偵測器串接之管路長度與內徑，控制背壓及系統安全性。背壓的顯示由讀取 LC 壓力值得知。系統調整完成後，須符合以下條件：

- 分離匣道：長分離匣道(LC)
- 移動相：水
- 輸送移動相模式：Elution Mode + Inject

Detector flow：1.0 mL/min

- LC 壓力值：12 至 15 bar

(三) Metal Free 分析管路與聚焦管路(Focus Loop)長度調整

為執行後續重金屬分析，需選用不釋放重金屬的 Metal Free 分析管路徑。Metal Free 流路繞過流量計，輔以垂直向流 Cross flow 末端之流量控制器回饋控制，以避開內部可能產生重金屬釋出或污染之零組件。除 Agilent 1260 自動進樣器 Sample loop 與 DUALTEC 內部之 Focus needle valve 為不銹鋼材質外其餘所經流路均為 PEEK 或 Kalrez 或 Viton 材質。由於繞過流量計，因此無法使用自動聚焦功能。取代之，將以手動調整聚焦功能所需 Focus Loop 長度。使用 PEEK 管線安裝於 Focus Loop port A 或 B 上，使系統 Focus Position 讀值達到 10%，系統即可運作。

- 分離匣道：長分離匣道 (LC)
- 移動相：水
- 輸送移動相模式：Focus Mode + Inject

Detector Flow：1.0 mL/min

Cross Flow：1.5 mL/min

Focus Position：10 %

- 最終系統 Focus Loop 調整為使用 100 cm 長 0.125 mm ID PEEK 管線。

(四) 偵測器串聯位移與校正係數調整

串聯偵測器包括 UV 偵測器及多角度靜態光散射儀；串聯會產生偵測器訊號出現移動偏差，波型在不同偵測器內槽流動下，原有之分析波峰形狀擴大，此皆需要作校正。透過 ASTRA 軟體內之 Alignment、Band Broadening 可修正此偏差。若同時以牛血清白蛋白(BSA)作為分析樣品，

除可修正以上係數外，亦可進行多角度靜態光散射儀於各個角度下散射光訊號之 Normalization。

BSA 修正分析係數設定及操作條件如下：

- BSA 濃度：1.8 mg/mL，inject：20 μ L
- 分離匣道：長分離匣道 (LC)
- 移動相：水

分析圖譜再據以執行 Alignment、Band Broadening 及 Normalization，所獲得之相關係數即可修正串聯偵測器造成之各項誤差，並同時記錄於方法中，用以後續分析使用。

(五) 分液收集系統

一般傳統分液收集係數多侷限於液相層析儀內之有機訊號，因此考量其中一個偵測器訊號即可。本研究系統中，分液收集考量的切割點是奈米粒子粒徑，此尺寸由 Wyatt ASTRA 計算得知，分液收集設定於 Agilent LC Chemstation 上，二者交錯之係數有二：

(1) 全系統延遲體積：多角度靜態光散射儀與 UV 偵測器波峰延遲體積 + 分液收集器標準延遲體積。

(2) ASTRA 所獲得奈米粒子尺寸-分離波峰時間圖。

前者為恆定常數，後者則依樣品分析結果不同而變化。

(六) 系統潔淨度需求

光散射量測背景值至少 50 μ V 以下，通常應於 20 μ V 以內。

(七) 樣品進樣設定評估

依系統配置，進樣時間為 10 分鐘，最大進樣量為 700 μ L。

(八) 奈米粒子分離度辨識測試

以 30 nm 及 60 nm 金奈米粒子完成系統奈米粒子分離度辨識測試，分離度及辨識度均佳。

2-3-2 分離及偵測系統方法

(一) 樣品前處理

除 0.45 μm 濾膜外，並增加 1 μm 濾膜前處理條件。材質部分經測試後選用疏水性之聚丙烯濾膜 Polypropylene(PP) membrane，對環境奈米粒子之吸附性低，減少對樣品的影響。聚丙烯濾膜具化學相容性高、高流速條件下適用及低蛋白質吸附的特性。

(二) 不對稱流場場流分離系統

實際安裝如圖 3。相較於傳統液相層析分離系統，於選定管柱與移動相後，幾乎不存在可改善空間，不對稱流場場流分離系統則反之。仍可透過適當之壓力與流速及匣道過濾膜的選擇與設定，有效提升分離度。

(三) 移動相選擇

為避免細菌或微生物滋長，將於各移動相中添加 0.02% (200 ppm) NaN_3 。第一期數據發現 10mM NH_4NO_3 移動相，相較於水相及 1mM 有較佳的分離效率；同時參考表 9 所列分析環境奈米粒子之可用移動相，第二期計畫選用之移動相延伸至五種，分別為：

- 水 + 200ppm NaN_3
- 1mM NH_4NO_3 + 200ppm NaN_3
- 10mM NH_4NO_3 + 200ppm NaN_3
- 10mM NH_4Cl + 200ppm NaN_3
- 10mM NaNO_3 + 200ppm NaN_3

(四) 分析匣道過濾膜之選擇

目前可選擇且廣泛使用之商業型過濾膜有兩種，分別是 RC (Regenerated

Cellulose)膜及 PES (Polyether Sulfonate)膜。二者均為親水性膜，其中 RC 膜親水性強過 PES 膜。依既有研究成果顯示，PES 膜對於 Humic acid 類小粒子具有強存留率；對於較大粒子之分離，以回收率檢視，PES 膜之回收率小於 RC 膜，因此環境水體中奈米粒子研究多仍採用 RC 膜，其過濾孔徑大小以 1 kDa 及 10 kDa 為主。計畫分別測試 10 kDa 之 RC 膜與 PES 膜，觀察不同親水性之匣道膜對於分離環境奈米粒子的影響。

(五) 不對稱流場場流分離匣道參數設定

根據前期測試結果，不對稱流場場流分離步驟參數設定如下：

Detector flow：1.0 mL/min

Focus flow：2.5 mL/min

Start Time (min)	End Time (min)	Duration (min)	Mode	Vx start (mL/min)	Vx end (mL/min)
0	1	1	Elution	1.0	1.0
1	2	1	Focus	-	-
2	12	10	Focus + Inject	-	-
12	22	10	Elution	2.5	1.5
22	32	10	Elution	1.5	0.5
32	72	40	Elution	0.5	0
72	80	8	Elution	0	0
80	90	10	Elution + Inject	0	0

整體分析時間為 90 分鐘。



圖 3 不對稱流場場流分離分析系統整合

2-3-3 偵測系統

本系統偵測器可分為線上(in-line)直接偵測及離線(off-line)偵測分析。樣品先經線上偵測後，再由分液收集系統依各水體樣品之粒子粒徑尺寸分段收集，而後進行後續離線分析。線上偵測器部分為：紫外光 UV 偵測器及多角度靜態光散射儀；離線分析偵測為：熱裂解-氣相層析質譜儀及感應耦合電漿質譜儀。

(一) 紫外光 UV 偵測器

顯示有機物濃度，常採用 254 nm 波長。提供有機物存在訊號，併同靜態光散射粒子訊號，用以區別當下之分離區段為無機或有機奈米粒子，或是否含有相當有機成份存在。

(二) 多角度靜態光散射儀

提供粒子訊號，不論有機或無機奈米粒子均會產生光散射訊號，光散射訊號再經由計算即可獲得奈米粒子粒徑數據，量測範圍為 10 nm 至 1000 nm。由靜態光散射儀顯示奈米粒子之均方根半徑 R_g 值，唯其值須大於 10 nm 以上方屬有效量測值。經計算後粒徑尺寸為 50 nm 以下將套用 Zimm Model 模式；粒徑大於 50 nm 將套用 Berry Model 模式計算；Fit Degree 將視各樣品數據做最佳化調整。

(三) 分液收集器

分液收集器置於線上系統末端。至此樣品已經完整分離並定義出奈米粒子粒徑及有機成份存在之可能性。分液收集器將據此自動收集所指定之區段樣品。分液收集之樣品將分別打入熱裂解氣相層析質譜儀及感應耦合電漿質譜儀進行後續有機及無機分析。

分液收集係數設定，考慮以下條件：

- 奈米粒子粒徑定義範圍為 100 nm
- 多角度靜態光散射儀之量測範圍為 10 nm 至 1 μ m

- 前處理濾膜孔徑分別為 0.45 μm 及 1 μm

由於前處理 1 μm 濾膜條件下之粒子分離效果不佳，因此針對前處理 0.45 μm 濾膜條件提出分液收集粒徑範圍如下：

- (1) 第一段分液收集：粒子直徑粒徑 < 10 nm
- (2) 第二段分液收集：10 nm < 粒子直徑粒徑 < 100 nm
- (3) 第三段分液收集：100 nm < 粒子直徑粒徑 < 450 nm

為確認第一段分液收集範圍，配製 2 mg/mL 40 kDa Dextran(粒子大小約 10 至 11 nm)取 40 μL 注入不對稱流場場流系統內，以與分離分析水體樣品之相同方法操作，取其析出時間作為第一階段收集之時間終點。圖 4 為 Dextran 於各移動相釋出時間疊圖。

(四) 有機成分組成鑑定：熱裂解氣相層析質譜儀

配合多角度靜態光散射儀量測粒子粒徑大小，紫外光 UV 吸收光譜偵測有機訊號，熱裂解氣相層析質譜儀可了解環境粒子中可能之有機組成。有機組成鑑定分為兩部分執行，第一部分為熱效應氣體分析(EGA)；第二部分為反應性熱裂解分析，以 TMSH (Trimethylsulfonium Hydroxide，三甲基氫氧化硫)衍生劑進行甲基化，可獲得樣品層析指紋圖譜圖。

(五) 無機成分組成鑑定：感應耦合電漿質譜儀

顯示重金屬種類、濃度與分布狀態。將分液收集後之樣品，依公告之水中金屬及微量元素檢測方法－感應耦合電漿質譜法 NIEA W313.52B，配合現有之行政院環保署-全國環境水質監測資訊網內現有之元素濃度狀態資訊，量測以下元素：

- 砷(As)
- 鎘(Cd)
- 鉻(Cr)
- 銅(Cu)
- 鉛(Pb)
- 銀(Ag)
- 鋅(Zn)

- 鐵(Fe)

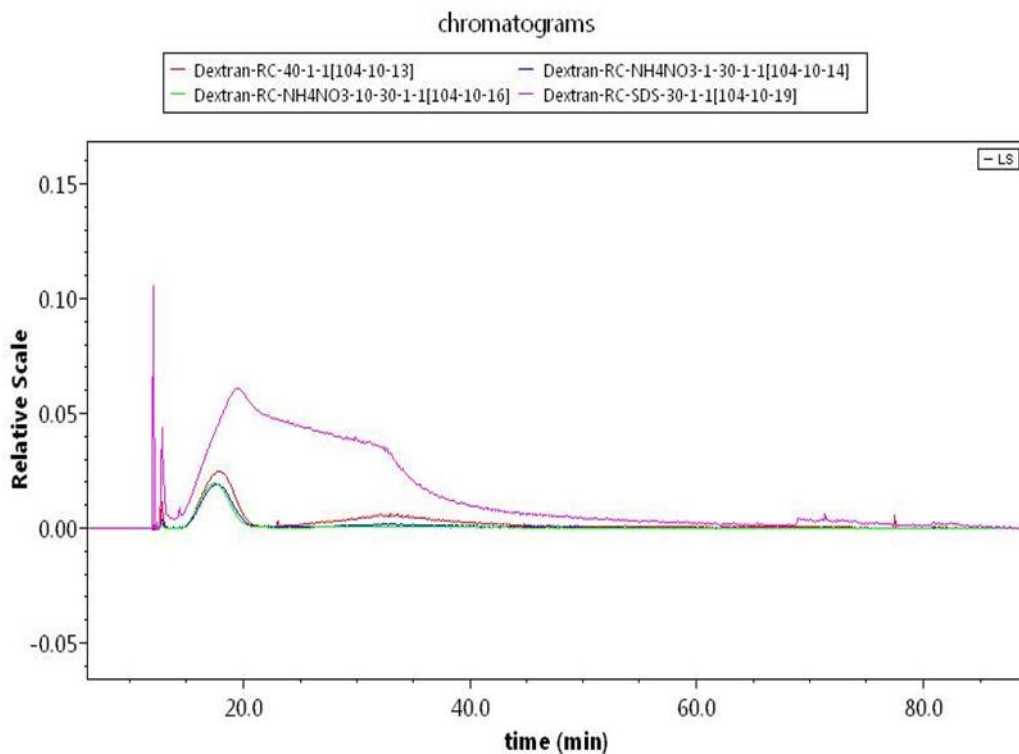


圖 4 40 kDa Dextran 於水相/1mM NH_4NO_3 /10mM NH_4NO_3 /SDS 移動相釋出時間疊圖

2-3-4 結果

(一) 樣品重複性

觀察各點水樣於不同前處理/移動相/分離匣道膜之結果，同一樣品瓶之水樣於光散射訊號強度及粒徑分析數據皆相當一致，表示儀器本身穩定度佳；於不同樣品瓶取得水樣之光散射訊號強度及粒徑數據，有時可見些許的偏差，可能來自於樣品本身的均勻性，而造成訊號強度及數據分析上的變化。

(二) 移動相離子強度對於粒子釋出順序及光散射訊號強度之影響

移動相離子強度增加，光散射訊號強度降低，推測 10 mM 移動相造成粒

子吸附於匣道膜上，減少粒子釋出之總數。移動相離子強度越高，粒子延遲釋出，依序為水相、1 mM NH_4NO_3 移動相及 10 mM 三種移動相。以上現象可利用雙電層理論(Double layer theory)探討粒子表面電荷與液體移動相及分離匣道膜表面之交互作用。

(三) 分離匣道 RC 膜及 PES 膜差異

無論是光散射訊號主峰區段及主要粒徑分布範圍，於不同離子強度移動相下，PES 膜皆晚於 RC 膜，可見 PES 膜與粒子間之作用力較強，延遲粒子釋出時間。表 2 及表 3 中整理小於 100 nm 之粒子於五種移動相下占整體水樣之比例，RC 膜條件下之最佳比例皆大於 PES 膜，意指 RC 膜分離效率較佳。前處理 1 μm 濾膜條件下，RC 膜相較於 PES 膜所得之平均均方根半徑較大；而前處理 0.45 μm 濾膜條件下，則是 PES 膜之平均均方根半徑大於 RC 膜；兩種前處理條件下呈現趨勢相異，而平均均方根半徑為水樣粒子的整體顯現，可見粒子本身性質對於不對稱流場場流分離系統之重要性。

(四) 前處理 0.45 μm 及 1 μm 濾膜

光散射圖譜上，前處理 1 μm 濾膜主訊號峰大多晚於 0.45 μm 濾膜，前者內含更多大尺寸粒子，故延遲分離釋出時間。於粒徑分布趨勢上，基於相同之系統分離條件及設定，0.45 μm 濾膜大多可成功由小至大分離粒子，且粒徑分布穩定，整體平均粒徑小。而 1 μm 濾膜分離效果仍需改善，分離前段效率不顯著，而分離後段又於特定區段(RC 膜：60 分鐘後；PES 膜：64 分鐘後)尺寸不等之粒子快速釋出，造成粒徑分布趨勢突增；且粒徑分布變化大；平均粒徑尺寸也較大。

(五) 各水樣之 UV 吸收有機訊號

前處理 0.45 μm /1 μm 濾膜及分離匣道 RC 膜/PES 膜條件下，主要 UV 吸收訊號皆出現於分離時段 13 至 15 分鐘，以 RC 膜為例，圖 4 說明 10 nm 粒子將於 20 分鐘前釋出，可知此段分析物尺寸小於 10 nm；且與光散射圖譜無重疊性。

但於不同條件下粒子分離效率相異，各水樣 UV 吸收峰的趨勢也有所改變。前處理 0.45 μm 濾膜，PES 膜相較於 RC 膜，於分離時段 13 至 15 分鐘之 UV 訊號皆大幅衰減。前處理 1 μm 濾膜條件下，除 13 至 15 分鐘外，淡水河口濕地及高屏溪水樣，也可見 UV 吸收峰與光散射圖譜重疊 (RC 膜：60 分鐘後；PES 膜：64 分鐘後)。

(六) 無機組成分析-重金屬含量

依據分析條件 RC 分離匣膜、前處理 0.45 μm 濾膜、水移動相條件，各水樣之光散射圖譜及粒徑分布趨勢，決定各採樣點分液收集區段。為粒徑尺寸 <10 nm、10 至 100 nm、100 至 450 nm 三個區段。石門水庫水樣因絕對訊號強度弱且粒子分布趨勢不穩定，故不進行後續分液收集。

重金屬含量定量分析，利用感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)，依據 NIEA W313.52B 方法針對砷(As)、鎘(Cd)、鉻(Cr)、銅(Cu)、鉛(Pb)、銀(Ag)、鋅(Zn)、鐵(Fe)八個重金屬。

八種重金屬中於各水樣中僅測得鐵、銅及鋅三種重金屬。若依各水樣整體測得金屬含量之主要粒徑區間：

- 10 至 100 nm：淡水河口濕地、高屏溪、後勁溪、金門太湖
- 100 至 450 nm：曾文溪濕地、北港溪、二仁溪

(七) 有機組成分析

如同前述重金屬分析，前處理 0.45 μm 濾膜/ RC 分離匣膜/ 水相之三種粒徑區間，< 10 nm、10 至 100 nm 及 100 至 450 nm 之各水樣進行熱裂解氣相層析分析，以推估其中有機組成及含量趨勢。

各水樣之 EGA 圖譜，整體而言訊號峰分布於三組溫度範圍：

- 100 至 150°C
- 170 至 400°C
- 500 至 650°C

100 至 400°C 溫度區間內含腐植酸；而 500 至 650°C 區間則應為元素碳或是碳酸鈣成分。

2-3-5 結論

- (一) 不對稱流場場流分離系統建置完成，且成功開發分離分析環境水體中奈米粒子之不對稱流場場流技術。
- (二) 擴大測試真實水體研究數量，確認分離方法之適用性。
- (三) 經測試兩種前處理濾膜，五種移動相及兩種分離匣道膜後，統整於目前不對稱流場場流分離系統設定下；現階段最佳分離條件為前處理 0.45 μm 濾膜，RC 分離匣膜，皆可成功由小至大分離粒子；且五種移動相中，除金門太湖外，水移動相適合分離粒子及應用於後續有機/無機分析。

表 2 各水樣於五種移動相下之粒徑 100 nm 奈米粒子比例 (前處理 0.45 μm 濾膜，RC 分離匣道膜)

移動相	淡水 河口 濕地 100 nm ratio (%)	曾文 溪口 溼地 100 nm ratio (%)	北港 溪 100 nm ratio (%)	二仁 溪 100 nm ratio (%)	高屏 溪 100 nm ratio (%)	後勁 溪 100 nm ratio (%)	金門 太湖 100 nm ratio (%)	石門 水庫 100 nm ratio (%)
水 + 200 ppm NaN_3	47.6	24.2	30.6	21.7	21.8	13.6	5.4	13.0
1 mM NH_4NO_3 + 200 ppm NaN_3	34.3	3.7	23.9	28.2	19.5	9.2	15.1	9.1
10 mM NH_4NO_3 + 200 ppm NaN_3	38.2	16.1	27.3	18.4	11.1	14.0	12.5	6.4
10 mM NaNO_3 + 200 ppm NaN_3	24.2	14.2	18.3	16.1	22.3	11.9	9.5	14.9
10 mM NH_4Cl + 200 ppm NaN_3	35.6	4.8	17.1	10.2	6.7	17.0	11.9	13.5

表 3 各水樣於五種移動相下之粒徑 100 nm 奈米粒子比例 (前處理 0.45 μm 濾膜，PES 分離匣道膜)

移動相	淡水 河口 濕地 100 nm ratio (%)	曾文 溪口 溼地 100 nm ratio (%)	北港溪 100 nm ratio (%)	二仁 溪 100 nm ratio (%)	高屏 溪 100 nm ratio (%)	後勁 溪 100 nm ratio (%)	金門 太湖 100 nm ratio (%)	石門 水庫 100 nm ratio (%)
水 + 200 ppm NaN_3	3.1	5.4	7.2	11.6	1.5	7.7	0.2	0.4
1 mM NH_4NO_3 + 200 ppm NaN_3	5.2	5.0	2.1	10.5	3.9	6.0	0.3	-
10 mM NH_4NO_3 + 200 ppm NaN_3	5.4	5.8	9.3	9.4	10.5	2.6	5.6	4.4
10 mM NaNO_3 + 200 ppm NaN_3	5.7	5.5	0.1	4.1	7.2	5.2	2.1	3.5
10 mM NH_4Cl + 200 ppm NaN_3	3.7	3.5	4.0	15.6	9.1	7.3	4.4	4.9

2-4 本期研究計畫背景

於前期“環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(2/3)-環境水體的奈米物質調查與評析”計畫中利用已成功開發之不對稱流場場流分離分析系統方法，檢測台灣多種具環境及地理獨特性之水體水樣，如濕地、農牧業河川水域、石化工業水域及自然環境水體等，配合有機/無機組成內容分析，以了解各水樣中奈米粒子的分布狀況及組成成分，同時確認樣品之最佳試驗條件。

現階段本計畫使用不對稱流場場流分離法已成功建立分析方法且進行實際水樣檢驗。為發展適用於生物毒性檢驗之環境水體奈米物質的分離技術，於進行更深入的不對稱流場場流分離鑑定前，需先利用動態光散射儀初步篩選內含一定數量奈米物質之水樣；再利用場流分離技術確認奈米物質的尺寸分布，進行有機/無機成分組成，配合生物毒性試驗，探討真實水樣中的奈米物質對於生物體的影響。本期計畫欲延伸檢測水樣種類，將針對工廠製程廢水或放流水等與人口活動或特殊產業相關之水體進行奈米物質尺寸分布及化性研究。

國外已有許多研究團隊^{4,8}，針對當地自然地理環境，分析其環境奈米粒子的組成及粒徑尺寸。除此之外，廢水處理廠放流水內含之奈米物質也是研究方向之一^{9,10}；現階段針對台灣各類型產業於商品生產製造或加工的過程中，其製程原污水或放流水是否含有奈米物質仍無明確的數據或調查報告。本期研究計畫考慮採取都市廢水及數種產業於其加工製造過程之原污水或放流水進行初步奈米物質篩選，再依初篩結果進行下一階段分析。真實水體採樣考慮以下數點：

1. 製造或加工生產過程中可能產生奈米物質。
2. 考慮欲與生物毒性試驗相互探討相關性，若廢水中可能含有高濃度毒性小分子(粒徑約 2 nm 以下)則不予納入採樣，避免非奈米粒子物質大幅影響生物毒性檢測結果。
3. 單一產業廢水為主，以確認各類型產業之奈米物質的尺寸分布及化性成分。
4. 廢水於排放前可能先經廠內或各單位污水廠處理，針對特定產業分別採取進流水 及放流水，同時量測兩水樣中之奈米物質，可得知污水處理流程對奈米物質的影響。

本計畫擬採取十五件工廠製程廢水/放流水及補充三件自然水體，共十八件水樣，進行奈米粒子初篩，選取較具代表性之奈米物質水體。參考前述採樣背景條件及各產業特性²⁵，水樣採樣點考慮如下：

- (1) 都市廢水(進流水/放流水)：A 污水處理廠
- (2) 鈹金噴漆加工業(進流水/放流水)：B 廠
- (3) 機械加工區(進流水/放流水)：C 園區污水下水道系統
- (4) 科學園區(進流水/放流水)：D 園區污水處理廠
- (5) 造紙業(放流水)：E 廠
- (6) 陶瓷生產加工業(進流水/放流水)：F 廠
- (7) 化妝品製造業(放流水)：G 廠
- (8) 電子業(放流水)：H 廠
- (9) 皮革加工製造業(放流水)：I 廠
- (10) 光電產業(放流水)：J 廠
- (11) 自然水體：K 湖、L 溪、M 水庫

第三章

第三章 執行方法

3-1 樣品前處理

本期計畫針對 100 nm 以下之奈米物質，以 0.1 μm 濾膜為主，且增加 0.22 μm 濾膜前處理條件，以確保 100 nm 以下之奈米物質不因濾膜孔徑因素而被移除，且觀察經 0.1 / 0.22 μm 濾膜處理後之差異。材質部分經測試後選用親水性的 Nylon 材質，可全方位過濾水溶液或強烈化合物，低蛋白質殘留，具 HPLC 認證；常使用於電子半導體業水過濾 / 化工產品過濾 / 液體澄清與除菌與微粒的過濾 / 各種溶劑與藥液的過濾，應用廣泛。

啟動分析前，將水樣自 4°C 冰箱取出，以 0.1 μm 或 0.22 μm 濾膜過濾之。並以過濾後之水樣清洗樣品瓶 3 倍體積後，再將過濾後之水樣注入 1.5 mL 樣品瓶中。完成後放入 4°C Agilent 1260 控溫自動進樣器中準備後續分析。

3-2 利用動態光散射儀進行水樣之初步篩選

針對分析目標粒徑尺寸為 100 nm 以下之奈米物質，水樣經 0.1 μm 濾膜前處理後，再利用動態光散射儀進行初步篩選；額外補充 0.22 μm 濾膜前處理。同時建立使用動態光散射儀篩選水體中奈米粒子之方法流程，操作方法如下：

- (1) 避免各樣品間可能相互污染，採用拋棄式樣品槽，使用前需先利用已過濾之二次水潤洗三次。
- (2) 將試樣載入樣品槽
 - (a) 將至少 4 μL 的試樣載入拋棄式樣品槽內，載入試樣的過程中，避免產生氣泡於樣品槽中，影響雷射光束行經路徑造成數據偏差。
 - (b) 載入試樣時，注意不要接觸到樣品槽觀測視窗，並於需要時以拭鏡紙擦拭樣品槽外部。
 - (c) 蓋上防塵蓋於樣品槽上，避免灰塵污染或試樣蒸發。

- (d) 將樣品槽置入儀器前，再次確認樣品槽內無產生氣泡；樣品槽光學視窗區域無沾染灰塵或指紋。再將樣品槽以正確方向置於儀器中。
- (3) 樣品槽置入儀器後，待數分鐘至樣品槽內外溫度平衡，誤差值應為 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 。
- (4) 每個試樣收集 5 組獨立測量，以確認數據再現性。每組獨立測量內含 10 筆數據，每筆數據收集時間依試樣特性調整，收集時間可為 1 至 3600 秒。

3-3 不對稱流場場流分離系統

實際安裝如圖 3。相較於傳統液相層析分離系統，於選定管柱與移動相後，幾乎不存在可改善空間，不對稱流場場流分離系統則反之。仍可透過適當之壓力與流速及匣道過濾膜的選擇與設定，有效提升分離度。

3-3-1 移動相選擇

為避免細菌或微生物滋長，將於移動相中添加 0.02% (200 ppm) NaN_3 。前期計畫測試五種不同離子強度之移動相，結果發現以水為移動相時，大多數水樣可得較佳之分離效果，故本期計畫選用水移動相進行後續分析實驗。

3-3-2 分析匣道過濾膜之選擇

目前可選擇且廣泛使用之商業型過濾膜有兩種，分別是 RC (Regenerated Cellulose)膜及 PES (Polyether Sulfonate)膜。

二者均為親水性膜，其中 RC 膜親水性強過 PES 膜。依既有研究成果顯示，PES 膜對於 Humic acid 類小粒子具有強存留率；對於較大粒子之分離，以回收率檢視，PES 膜之回收率小於 RC 膜，因此環境水體中奈米粒子研究多仍採用 RC 膜，其匣道過濾膜孔徑大小為 10 kDa。

依前期計畫測試結果以 RC 膜分離效果較佳，故本期選用 10 kDa RC 匣道膜。

3-3-3 不對稱流場場流分離匣道參數設定

(1) 系統可調整設定之參數如下：

- Detector flow：分離匣道水平方向流速
- Focus flow：樣品進入分離匣道時，為避免樣品擴散並集中，由分離匣道左右兩端點注入之移動相總流速
- Cross flow：垂直向流，分離匣道垂直方向流速
流動模式包括以下項目：
- Focus：樣品注入前，清洗分離匣道並使匣道內水流穩定維持集中能力，等待樣品注入
- Focus + Inject：樣品注入並集中
- Elution：透過 Detector flow 及 Cross flow 的設定，樣品開始分離並依序由分離匣道釋出
- Elution + Inject：將未排淨之樣品完全排出分離匣道

(2) 參數設定

根據前期測試結果，不對稱流場場流分離步驟參數設定如下：

Detector flow：1.0 mL/min

Focus flow：2.5 mL/min

Start Time (min)	End Time (min)	Duration (min)	Mode	V _x start (mL/min)	V _x end (mL/min)
0	1	1	Elution	1.0	1.0
1	2	1	Focus	-	-
2	12	10	Focus + Inject	-	-
12	22	10	Elution	2.5	1.5
22	32	10	Elution	1.5	0.5
32	72	40	Elution	0.5	0
72	80	8	Elution	0	0
80	90	10	Elution + Inject	0	0

整體分析時間為 90 分鐘。

3-4 分析偵測器

本系統偵測器部分可分為線上(in-line)直接偵測及離線(off-line)偵測分析。樣品先經線上偵測後，再由分液收集系統依各水體樣品之粒子粒徑尺寸分段收集，而後進行後續離線分析。線上偵測器部分為：紫外光 UV 偵測器及多角度靜態光散射儀；離線分析偵測為：熱裂解-氣相層析質譜儀、感應耦合電漿質譜儀、總有機碳分析儀及吹氣捕捉-氣相層析質譜儀。

3-4-1 紫外光 UV 偵測器

顯示有機物濃度，常採用 254 nm 波長。提供有機物存在訊號，併同靜態光散射粒子訊號，用以區別當下之分離區段為無機或有機奈米粒子，或是否含有相當有機成份存在。

3-4-2 多角度靜態光散射儀 (Wyatt DAWN HELEOS II)

提供粒子訊號，不論有機或無機奈米粒子均會產生光散射訊號，光散射訊號再經由計算即可獲得奈米粒子粒徑數據，量測範圍為 10 nm 至 1000 nm。由靜態光散射儀顯示奈米粒子之均方根半徑 R_g 值，唯其值須大於 10 nm 以上方屬有效量測值。經計算後粒徑尺寸為 50 nm 以下將套用 Zimm Model 模式；粒徑大於 50 nm 將套用 Berry Model 模式計算；Fit Degree 將視各樣品數據做最佳化調整。

3-4-3 分液收集器

分液收集器置於線上系統末端。至此樣品已經完整分離並定義出奈米粒子粒徑及有機成份存在之可能性。分液收集器將據此自動收集所指定之區段樣品。分液收集之樣品將分別打入熱裂解氣相層析質譜儀及感應耦合電漿質譜儀進行後續有機及無機分析。

本期計畫著重於 100 nm 以下之奈米物質，故以分液收集粒子直徑 100 nm 以下為主，部分樣品因其狀態增加收集 100 nm 以上之粒子予以比較。

為確認 10 nm 粒子之收集範圍，配製 2 mg/mL 40 kDa Dextran(粒子大小約 10 至 11 nm)取 40 μ L 注入不對稱流場場流系統內，以與分離分析水體樣品之相同方法操作，取其析出時間作為 10 nm 粒子釋出之時間點，約於分析時間 18 分鐘處。圖 4 為 Dextran 於各移動相釋出時間疊圖。

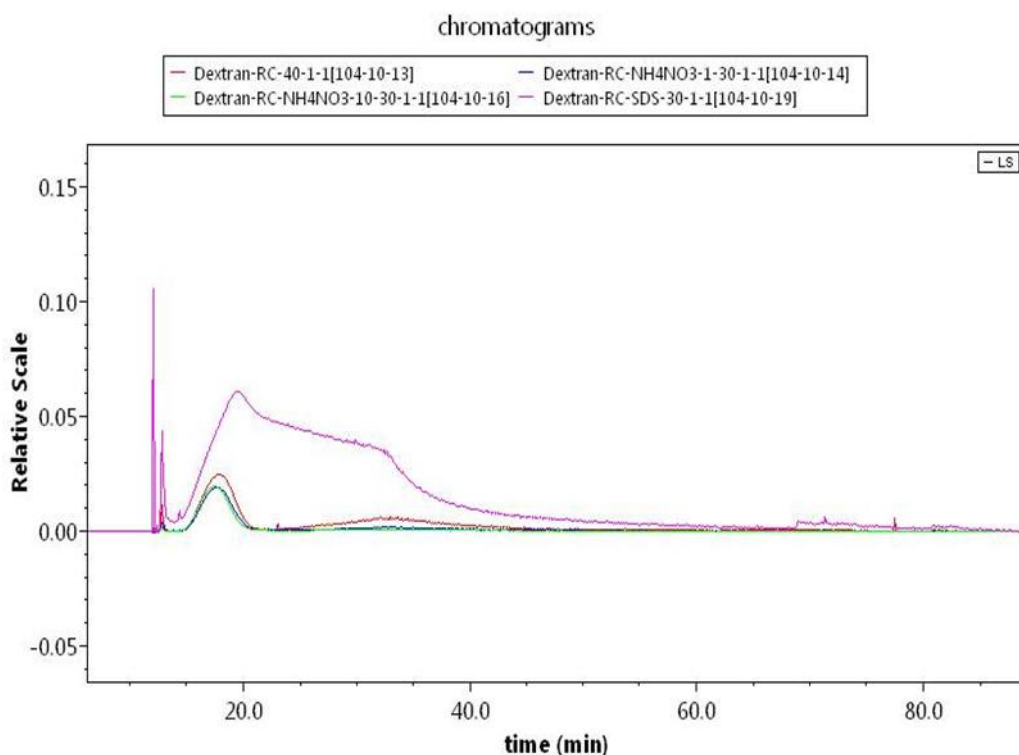


圖 4 40 kDa Dextran 於水相/ 1mM NH_4NO_3 / 10mM NH_4NO_3 / SDS 移動相釋出時間疊圖

配合分析光散射圖譜所得之粒徑分布，表 4 為各水樣之分液收集時間。若以動態光散射儀初篩後不達預設標準值者，將不進行後續分液收集。

表 4 各水樣於不同粒徑尺寸之分液收集時間

採樣點/粒子直徑	< 10nm	10 至 100nm	>100nm
A 廠 進流水	12.1 至 17.9 mins	18 至 38 mins	-
A 廠 放流水		18 至 30 mins	-
B 廠 進流水		18 至 28 mins	-
B 廠 放流水		18 至 36 mins	-
C 園區 進流水		18 至 38 mins	-
C 園區 放流水		18 至 38 mins	-
D 園區 進流水		18 至 36 mins	-
E 廠 放流水		18 至 38 mins	38.1 至 68 mins
K 湖		18 至 38 mins	38.1 至 58 mins
L 溪		18 至 38 mins	38.1 至 58 mins

3-4-4 熱裂解-氣相層析質譜儀分析

配合多角度靜態光散射儀量測之粒子粒徑大小，紫外光 UV 偵測器之有機訊號，熱裂解氣相層析質譜儀欲了解環境粒子中之可能的有機組成。將採用熱效應氣體分析法，EGA。

EGA 主要係觀察樣品熱特性，分析條件如下：

樣品量：500 μL (總量)

(1) 樣品除水

- 將樣品注入樣品槽內，每次進樣量約 50 至 75 μL ，置於 70°C 烘箱揮發，然後再持續注入水樣，直到累計至 500 μL 為止。

(2) EGA 分析設定

將含有累計 500 μL 水樣除水後殘存物之樣品槽放入熱裂解氣相層析質譜儀中，分析設定條件如下：

- 熱裂解儀：80 至 700°C，升溫速率：20°C/min
- 選擇性樣品進樣器：ON

- 熱裂解儀介面溫度：320°C

氣相層析儀

- 進樣口：300°C，分流比 10：1
- 烘箱：320°C
- 質譜儀：掃描範圍 29 至 800 m/z
- 離子源溫度：250°C
- 四極柱溫度：150°C
- 分析管柱：UA-DTM 2.5 m x 0.15 mm (ID)

(3) 反應性熱裂解分析

將含有累計 500 µL 水樣除水後殘存物與衍生化試劑 TMSH 作用後，將樣品槽放入熱裂解-氣相層析質譜儀中，分析設定之條件如下：

- 熱裂解儀：350°C，維持 5 mins
- 選擇性樣品進樣器：ON
- 熱裂解儀介面溫度：320°C

氣相層析儀

- 進樣口溫度：300°C，分流比 10：1
- 烘箱：50°C(維持 1min) 以升溫速率 10°C/min 升溫至 320°C(維持 6min)
- 管柱流速：固定流速 1mL/min
- 質譜儀：掃描範圍 29 至 800 m/z
- 離子源溫度：250°C
- 四極柱溫度：150°C
- 分析管柱：UA-5 30 m x 250 µm x 0.25 µm

3-4-5 感應耦合電漿質譜儀

顯示重金屬種類、濃度與分布狀態。將分液收集後之樣品，依公告之水中金屬及微量元素檢測方法－感應耦合電漿質譜法 NIEA W313.52B，配合現有之行政院環保署-全國環境水質監測資訊網內現有之元素濃度狀態資訊，量測以下元素：

- 砷(As)
- 鎘(Cd)

- 鉻(Cr)
- 銅(Cu)
- 鉛(Pb)
- 銀(Ag)
- 鋅(Zn)
- 鐵(Fe)

3-4-6 總有機碳 Total Organic Carbon (TOC)分析

總有機碳(TOC)是以碳的含量表示有機物總量的一個指標，常用於檢測水質。總有機碳利用燃燒法，能將有機物全部氧化，比生化需氧量或化學需氧量更能反映有機物的總量。以過硫酸鈉當氧化劑，再加熱至 100°C，將有機碳氧化成二氧化碳，再以 NDIR(非擴散性紅外線)分析。且高低濃度皆可分析；操作簡單、保養容易；可靠性佳，也可同時分析 TIC(總無機碳)。操作流程如下：

1. 打開氮氣 60 psi (高純氮)
2. 打開電腦、TOC 1030 儀器電源
3. 準備氧化劑(過硫酸鈉 100 g/L)及酸化劑(5%磷酸) 曝氣 10 min 以上
4. 準備試劑水與標準品鄰苯二甲酸氫鉀 KHP (1000 ppm)
5. 開啟電腦桌面 Win TOC 軟體
6. 檢查乾燥管(紅色時需更換)
7. TOC 訊號(CO₂值)穩定，約需 30 分鐘
8. 軟體控制注射針，抽酸化劑充填管路後排於廢液桶
9. 軟體控制注射針，抽氧化劑充填管路後排於廢液桶
10. 軟體控制注射針，抽試劑水充填管路，清洗反應槽後排於廢液桶
11. BLANK Reagent 測試(至少 3 次以上)
12. 設定分析 method 與 Sequence 建立檢量線
 - 樣品量 5 mL
 - 酸化劑 0.5 mL
 - 氧化劑 1 mL

13. 樣品與品保測試最後以空白水清洗
14. 將酸化劑管與氧化劑管放入空白水中，用軟體控制注射針，清洗管路

3-4-7 吹氣捕捉-氣相層析質譜儀

除使用熱裂解氣相層析質譜儀分析水樣中奈米物質的有機組成外，也利用吹氣捕捉-氣相層析質譜儀檢測水樣中之揮發性有機化合物。條件如下：

（一）吹氣捕捉裝置條件

吹氣溫度：室溫

吹氣時間：11 min

去水裝置脫附溫度：5°C

毛細管界面冷卻溫度：-150°C

脫附溫度：230°C

脫附時間：4 min

注射溫度：200°C

注射時間：1 min

回洗溫度：230°C

回洗時間：8 min

氣體流速：高純度氮氣或氬氣（99.95%以上），流速為 40 ± 3 mL/min。

（二）氣相層析儀條件

分離管柱：DB-1 60 m x 320 μ m x 3 μ m

管柱升溫條件：最初溫度設定在 35°C，保持 5 min，再以 3°C/min 升溫至 200°C，保持 10 min。

載流氣體：氮氣，流速 0.8 mL/min，純度 99.99% 以上。

（三）質譜儀操作條件

離子化方式：EI, 70 eV

質譜掃描範圍：45 至 265 amu

界面傳輸溫度：280°C

離子源溫度：280°C

掃描時間：每一尖峰至少須有 5 次掃描，且每一掃描不得超過 0.7 秒。

3-5 數據及資料整合

依前述工作方法，可分別獲得水中奈米物質之尺寸與其相對之化學組成資料，將此兩種資訊合併，並推演不同尺寸之奈米物質其狀態組成。樣品分析流程如圖 5。

此外，若動態光散射儀初篩後高於預設標準值，如圖 5 所述進行不對稱流場場流分離及多角度靜態光散射儀分析，也進行總有機碳(TOC)及水中揮發性有機物之檢測。

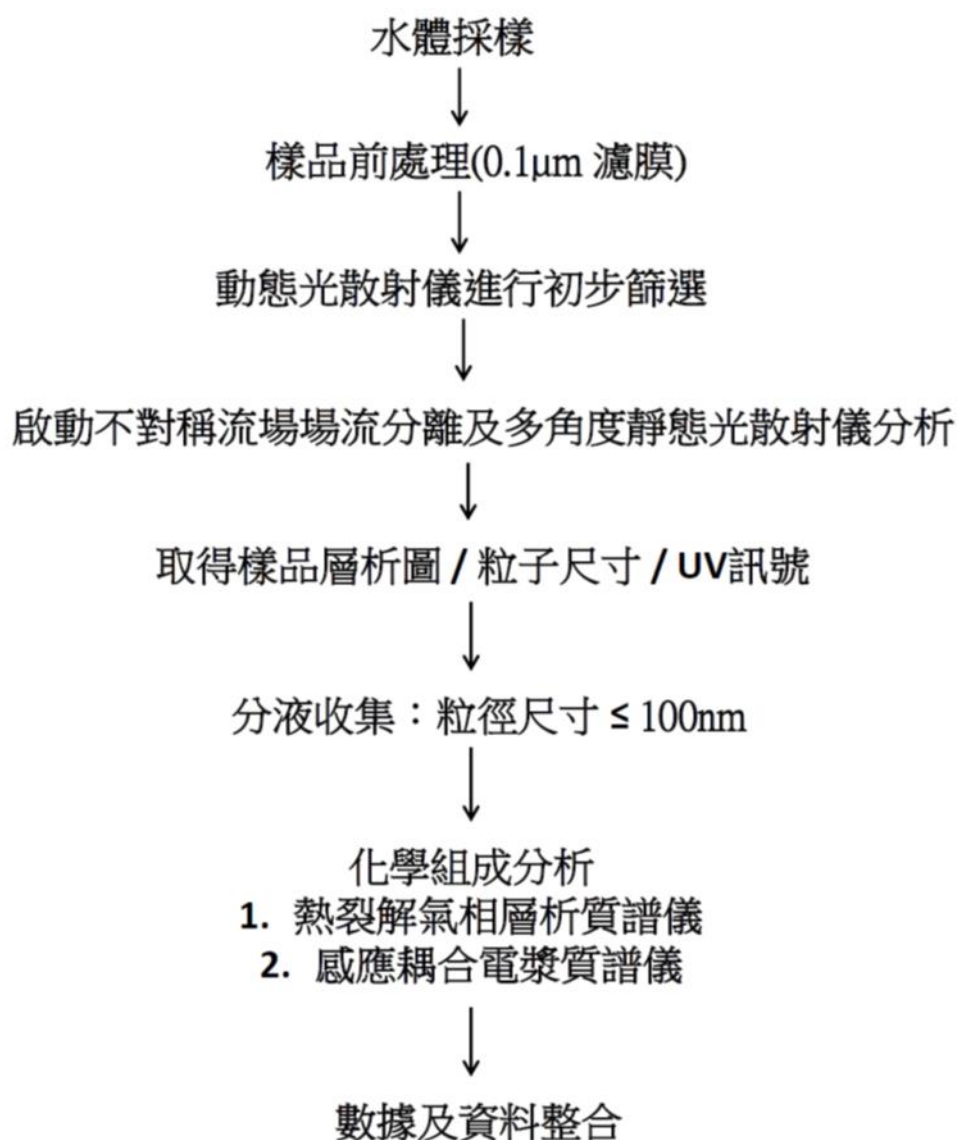


圖 5 樣品分析流程圖

3-6 撰寫水中奈米粒子分離技術方法草案

本計畫建立以技術為基底之水中奈米粒子分離方法，經真實水體及工業廢水等水樣分析以確認其可行性及最佳化條件後，將偕同動態光散射量測技術撰寫以不對稱流場流儀分析水中奈米粒子分離技術方法草案，以供參考。

第四章

第四章 結果與討論

4-1 動態光散射儀(Dynamic Light Scattering, DLS)初篩標準建立及檢測分析

4-1-1 利用動態光散射(Dynamic Light Scattering, DLS)儀建立奈米粒子初篩標準

由於各種產業及自然/人工環境條件下產生之奈米粒子於種類、粒徑尺寸或數量等狀態皆差異極大；於進行不對稱流場場流系統深入分析前，希望能建立更快速且簡易的方式，對於欲了解之目標水樣進行快速篩選，同時初步了解粒徑分布範圍。

如前述背景介紹說明，動態光散射儀可直接分析水樣中的奈米粒子，無須經過乾燥等前處理；其偵測範圍由 1 nm 至 1000 nm，粒子可分散於溶液中皆可分析；同時為非破壞性分析，樣品可回收再使用，減少樣品消耗；且偵測時間短，單次量測時間短於一分鐘，利於重複試驗且再現性佳。

於啟動本年度計畫的同時，利用上一年度採樣所得之八個自然環境水體水樣以 0.1 μm 濾膜前處理後，進行動態光散射儀 DLS 的分析，以建立初步篩選標準。

由圖 6 可知上年度環境水樣之動態光散射偵測值為 6,000 至 70,000 counts 不等；此系統中得知石門水庫水樣內含之粒子訊號為最低，接近以水為空白試樣之偵測值。參照上年度於不對稱流場場流系統中之粒徑分析數據，石門水庫水樣之靜態光散射訊號微弱(圖 7)，其粒徑分析數據準確度不佳；而曾文溪口七股濕地於動態光散射 DLS 測值約為 11,000 counts，於不對稱流場場流-靜態光散射系統偵測之粒徑數據較穩定；且其餘水樣偵測值皆高於 10,000 counts，其中以金門太湖 67,400 counts 為最高值。

依目前動態光散射儀之條件及前一年度環境水體為測試，空白試樣去離子水之測值約為 6,000 至 7,000 counts，石門水庫水樣測值也落於 6,000 至 7,000 counts；其餘水樣測值皆高於 10,000 counts。參照以上資訊，初篩標準建立於以不對稱流

場場流-多角度靜態光散射系統可測得具可信數據之水樣，DLS 測值 10,000 counts 以上之樣品已可得穩定且具可信度之粒徑分布數據，故預設初篩標準為 10,000 counts。

此外補充第一年計畫三個水樣於動態光散射儀之數據；環檢所自來水與水庫水樣測值仍低於 7,000 counts，環檢所蓄水池則為 58,451 counts。

由這兩年共十二件水樣的 DLS 測值得知，相對而言，封閉水體之水樣經 0.1 μm 濾膜前處理後，其內含較多奈米顆粒物質，故 DLS 測值較高。

依據現有之資料及經驗值，將動態光散射儀 DLS 初步篩選標準設定為 10,000 counts。

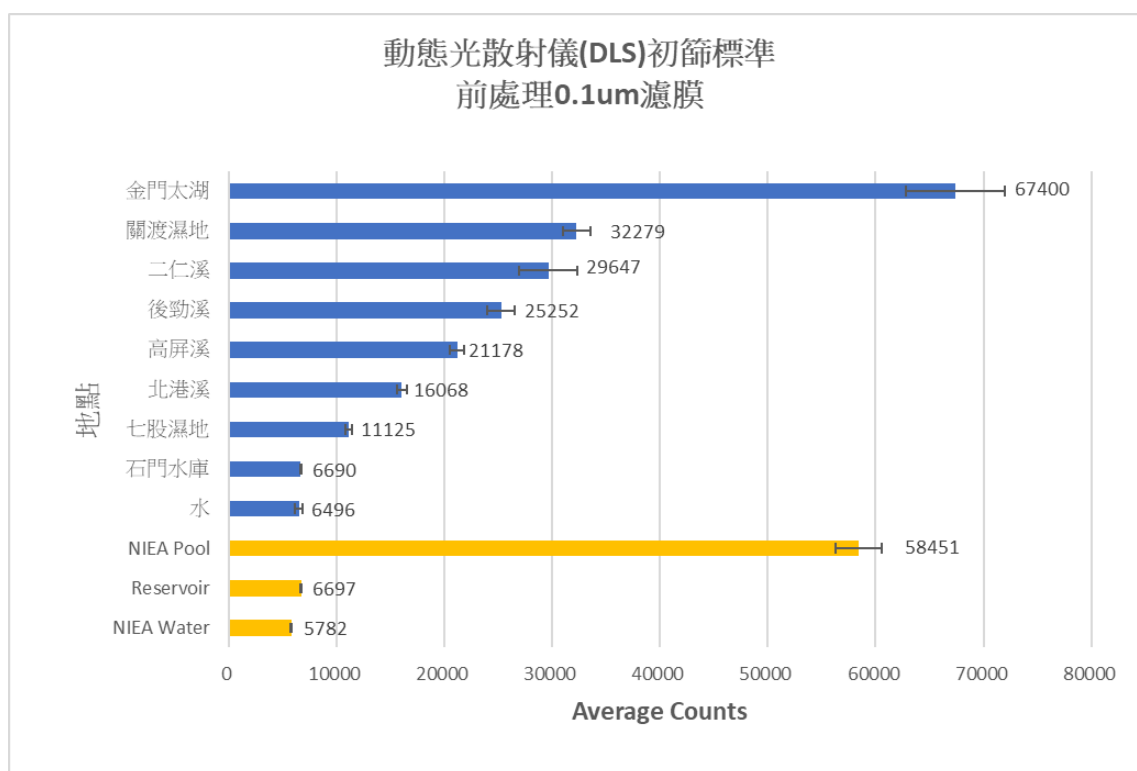


圖 6 動態光散射儀(Dynamic Light Scattering, DLS)初篩標準，經前處理 0.1 μm 濾膜

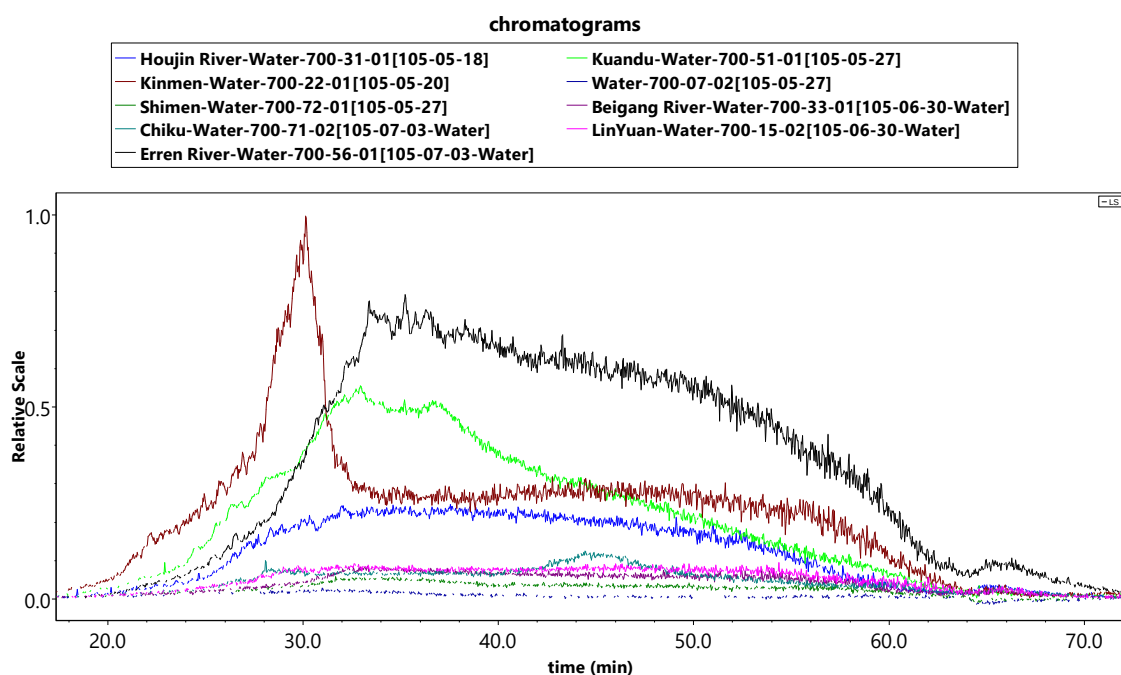


圖 7 上年度八個自然水體水樣及空白試樣(水)之不對稱流場場流分離系統暨多角度靜態光散射圖譜，前處理 0.45 μm 濾膜條件下

4-1-2 本年度目標水樣於動態光散射儀(DLS)之偵測值

本年度採取共十八件目標水樣（十五件工廠製程廢水/放流水及三件自然環境水體）。分別為：

- 都市廢水：A 污水處理廠進流水/放流水
- 板金噴漆加工業：B 廠進流水/放流水
- 機械加工區：C 園區污水處理廠進流水/放流水
- 半導體科學園區：D 園區污水處理廠進流水/放流水
- 造紙業：E 廠放流水
- 陶瓷業：F 廠進流水/放流水
- 化妝品原料製造業：G 廠放流水
- 電子廠：H 廠放流水
- 皮革廠：I 廠放流水
- 光電廠：J 廠放流水
- 自然水體：K 湖/ L 溪/ M 水庫

圖 8 為經 0.1 μm 濾膜前處理後，動態光散射儀之偵測值。十八件目標水樣中，D 園區污水處理廠放流水/ F 廠進流水及放流水/ G 廠放流水/ H 廠放流水/ I 廠放流水/ J 廠放流水/ M 水庫共八件水樣未超過初篩標準值 10,000 counts，其餘十件水樣皆超過標準值，將進行後續不對稱流場流系統分析及有機/無機成分組成分析。

十件水樣中以 A 廠進流水、C 園區進流水及 K 湖之測值較高，皆高於 50,000 counts。

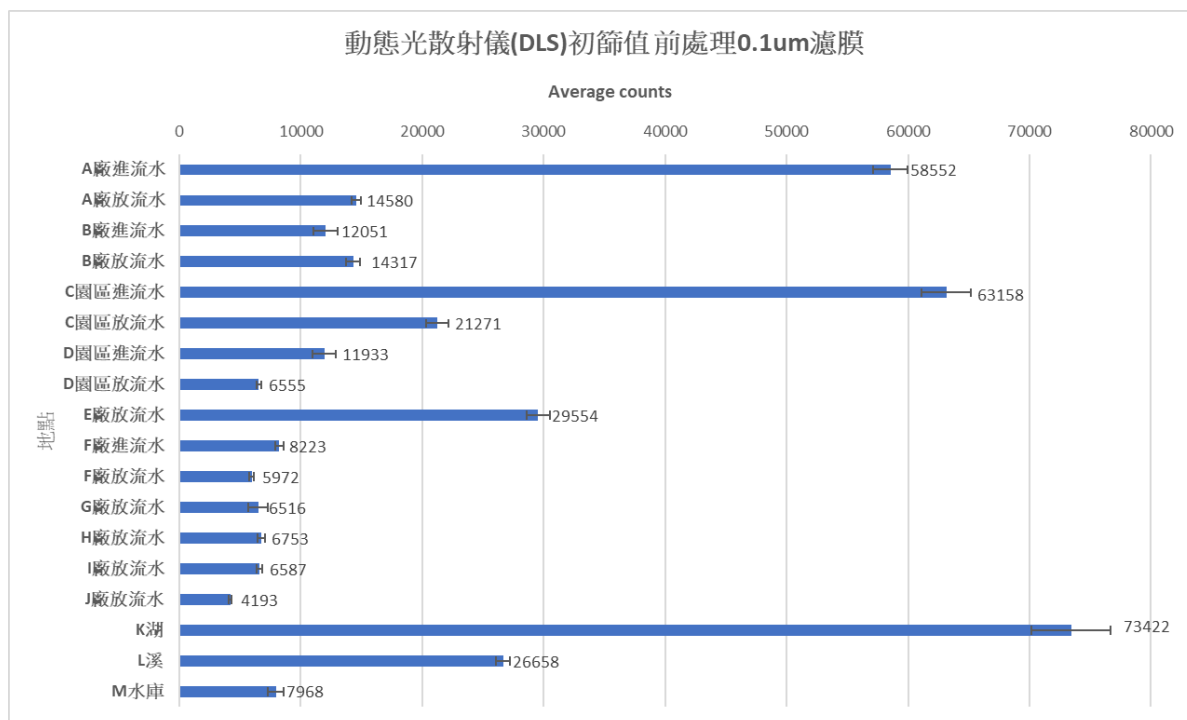


圖 8 十八件水樣於動態光散射儀 (Dynamic Light Scattering, DLS)之偵測值，經前處理 0.1 μm 濾膜

除 0.1 μm 濾膜前處理外，同時也分析 0.22 μm 濾膜前處理方式，如圖 9 所示，發現十八件水樣中，前處理 0.22 μm 濾膜之測值皆高於 0.1 μm 濾膜；D 園區污水處理廠放流水/ F 廠放流水/ G 廠放流水/ H 廠放流水/ I 廠放流水/ J 廠放流水六件水樣之偵測值依舊低於初篩標準值 10,000 counts，其餘十二件水樣皆高於標準值；A 廠進流水、C 園區進流水及 K 湖測值仍為較高，K 湖更高達 520,520 counts。

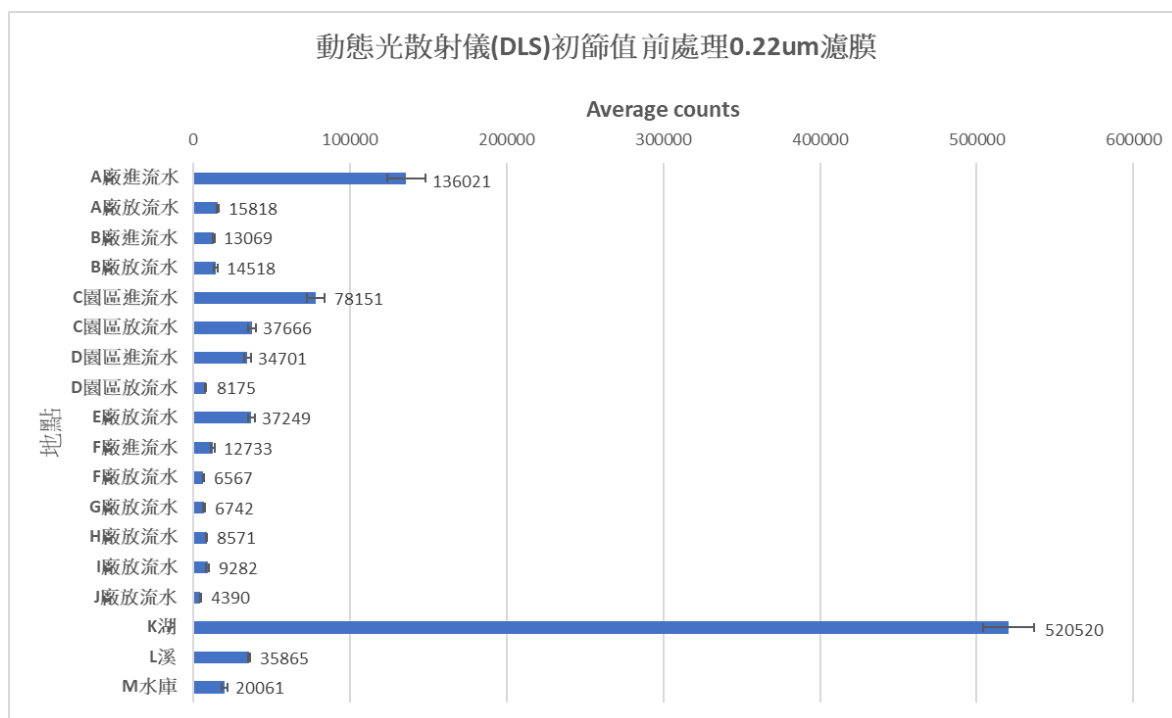


圖 9 十八件水樣於動態光散射儀 (Dynamic Light Scattering, DLS)之偵測值，經前處理 0.22 μm 濾膜

於建立動態光散射儀初篩標準值時，前期八個環境水體水樣中以金門太湖為最高檢測值；本年度採樣所得之十八件水樣無論於前處理 0.1 μm 或 0.22 μm 濾膜下，皆以 K 湖為最高檢測值。兩者皆為封閉水體環境，易於粒子積累與成長。

4-2 於不對稱流場場流系統下之分析數據，前處理 0.1 μm 濾膜條件

經動態光散射儀(DLS)初篩後，十八件水樣除 D 園區放流水/ F 廠進流水及放流水/ G 廠放流水/ H 廠放流水/ I 廠放流水/ J 廠放流水/ M 水庫共八件水樣之外，其餘十件水樣皆需進行不對稱流場場流系統分析。

(一) A 廠進流水

如圖 10 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶仍有些許差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

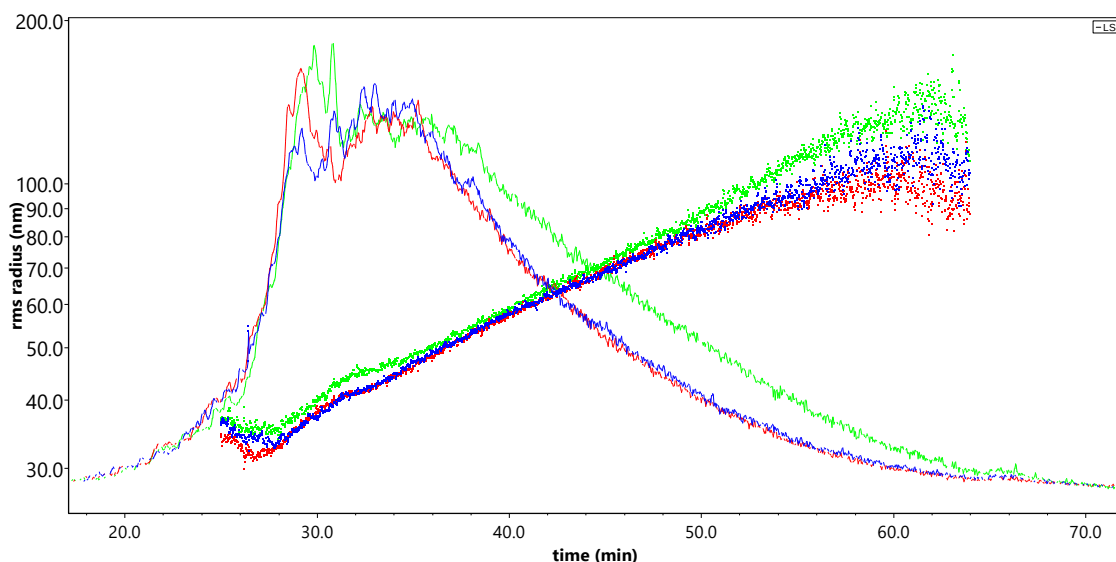


圖 10 A 廠進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(二) A 廠放流水

如圖 11 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子，粒子釋出區段集中於 25 至 35 分鐘；再現性佳，粒徑分離分布趨勢一致。

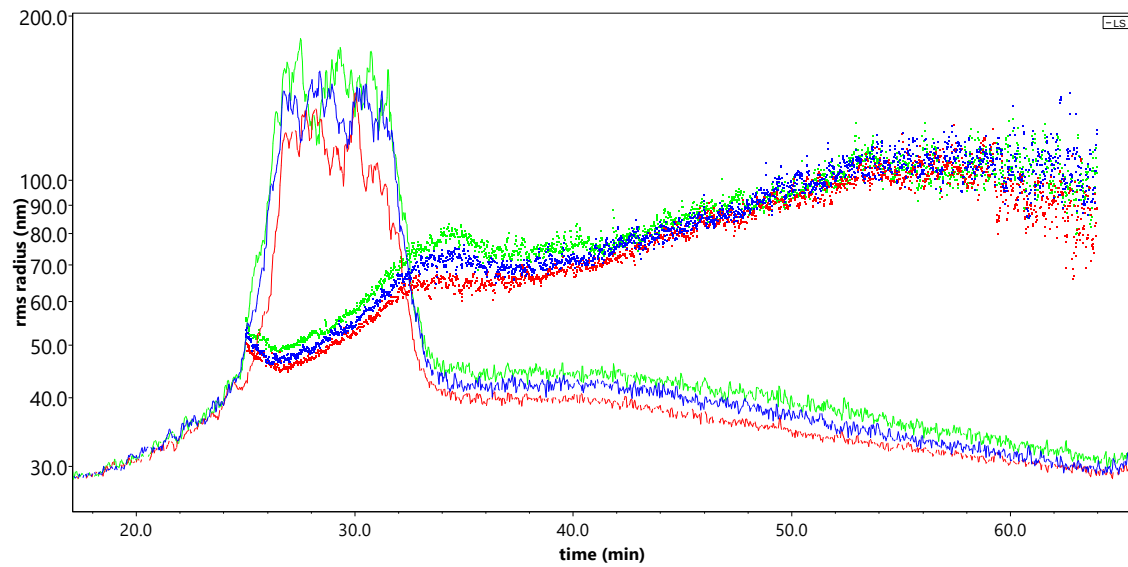


圖 11 A 廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(三) A 廠進流水/放流水

如圖 12 所示，可觀察到放流水之靜態光散射訊號強度明顯低於進流水，可見污水廠處理過程中已移除大部分奈米粒子；但放流水中之粒子粒徑尺寸較大。

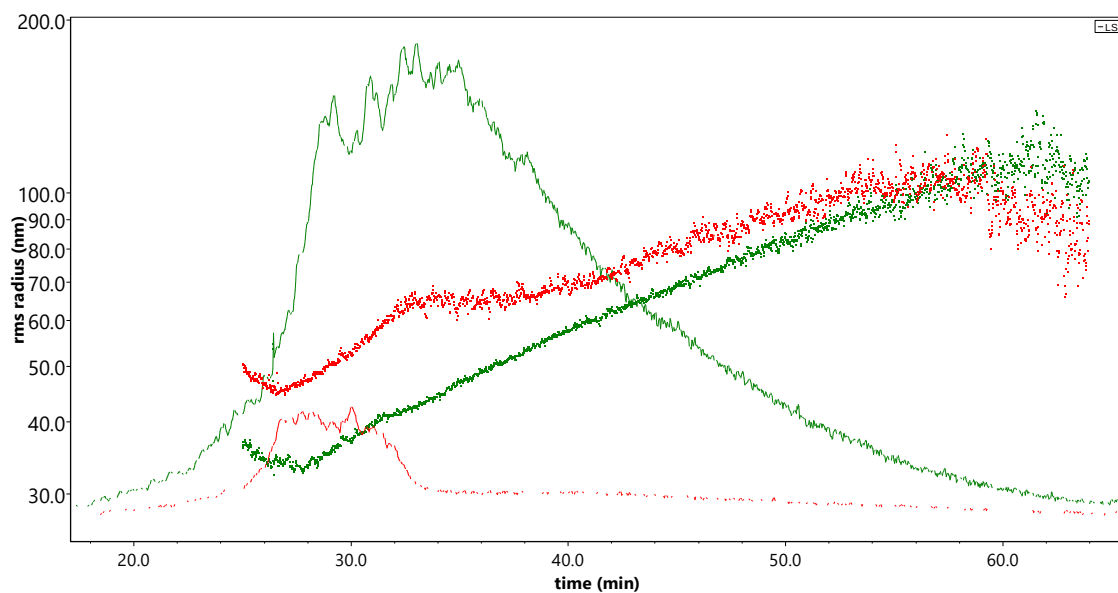


圖 12 A 廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(四) B 廠進流水

如圖 13 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，分離前段效果不佳，且每個時間點下粒徑分布變化性較大；參考動態光散射儀 (DLS) 之檢測值僅 12,000 counts，略高於標準值；於不對稱流場場流系統中，也非常接近以水為空白試樣之圖譜。應為水樣中粒子數不足導致數據不穩定。

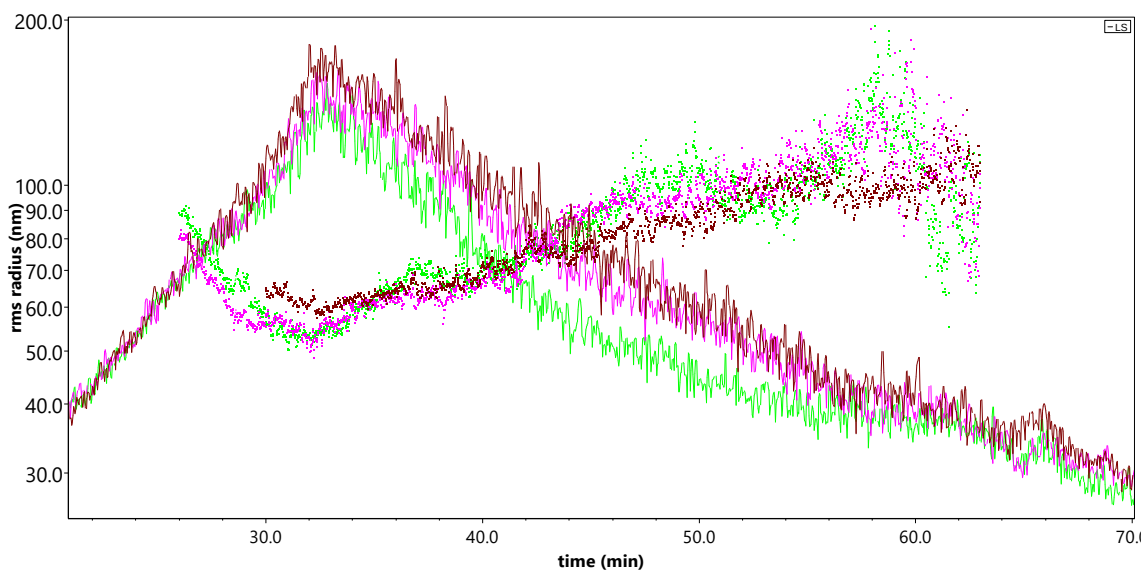


圖 13 B 廠進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(五) B 廠放流水

如圖 14 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，分離前段效果仍需改善；動態光散射儀(DLS)之檢測值約為 14,000 counts，高於進流水；且均方根半徑 rms 50 nm 以下之粒子含量有限。

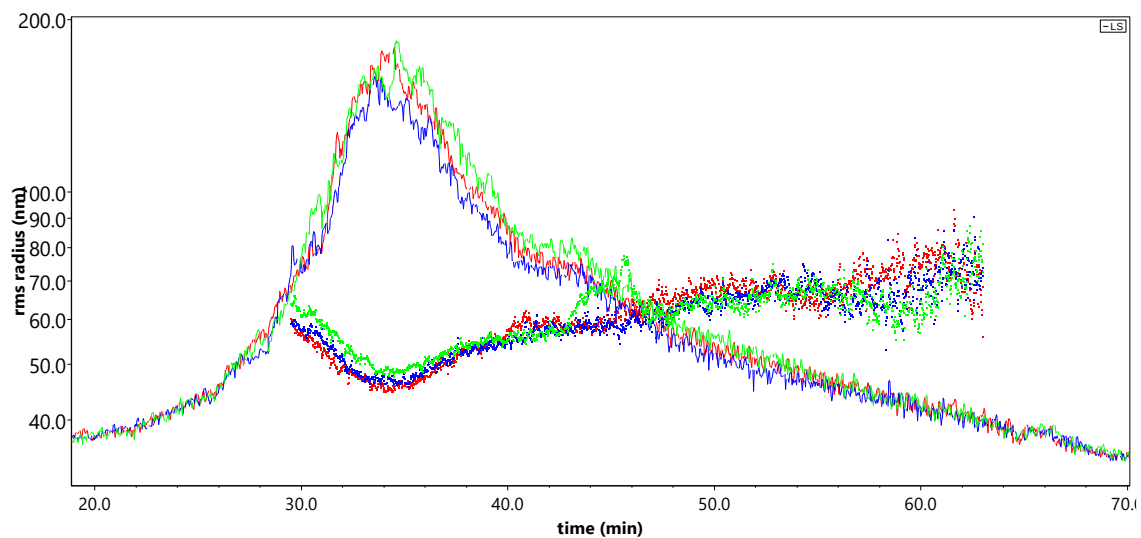


圖 14 B 廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(六) B 廠進流水/放流水

如圖 15 所示，B 廠進流水之光散射訊號強度低於放流水，僅略優於空白試樣二次水；與動態光散射儀(DLS)之偵測值一致；但整體而言此兩件水樣經前處理 0.1 μm 濾膜後，內含之粒子數相對於其他水樣而言並不高。

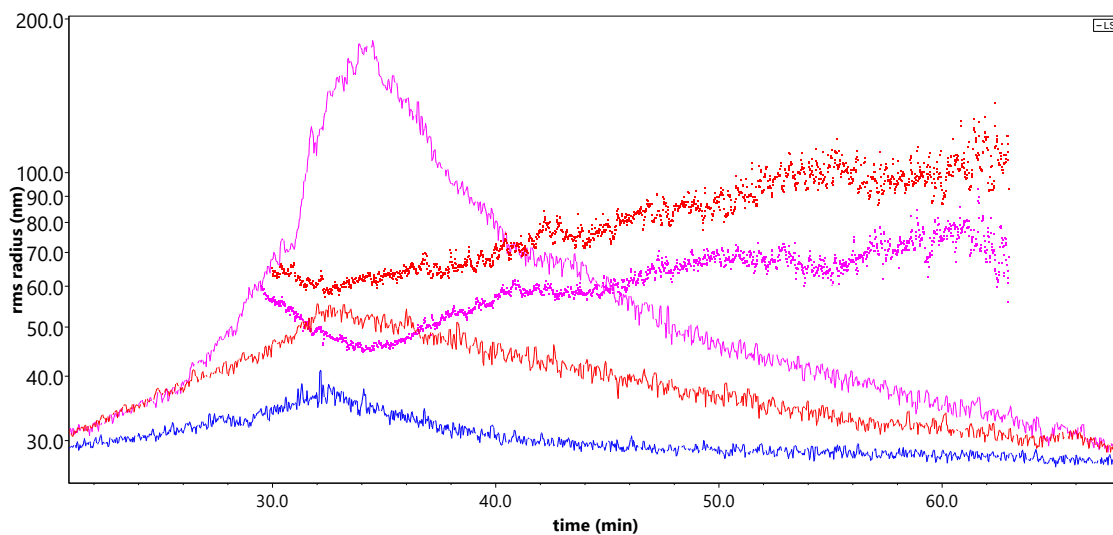


圖 15 B 廠放流水/進流水/空白試樣：二次水(圖譜訊號由高至低)，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(七) C 園區污水處理廠進流水

如圖 16 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；再現性佳，粒徑分離分布趨勢一致。

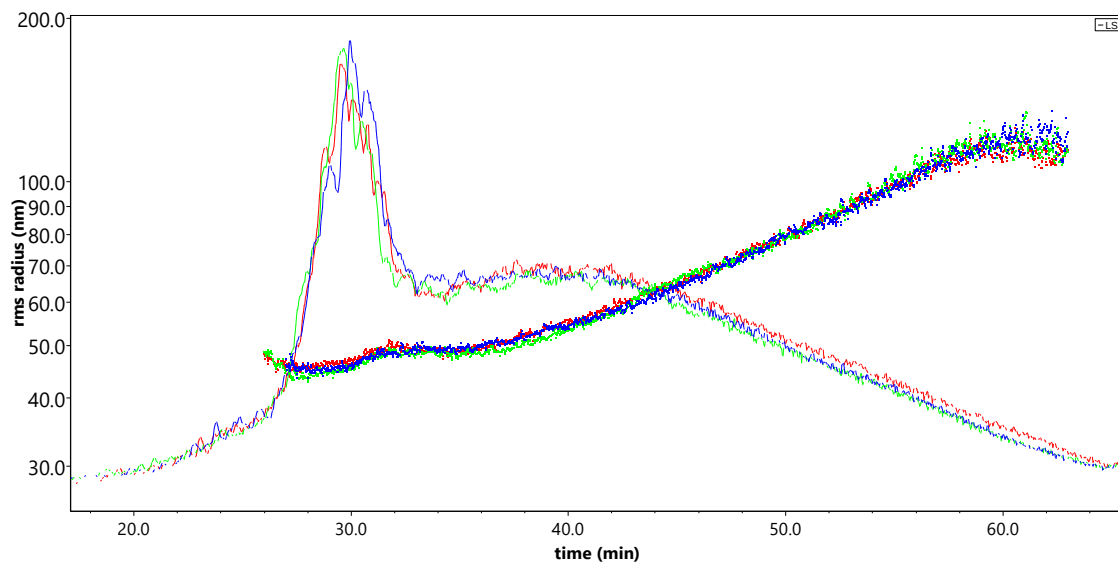


圖 16 C 園區污水處理廠進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(八) C 園區污水處理廠放流水

如圖 17 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子，且主峰區段粒徑分布趨勢平穩；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶稍有差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

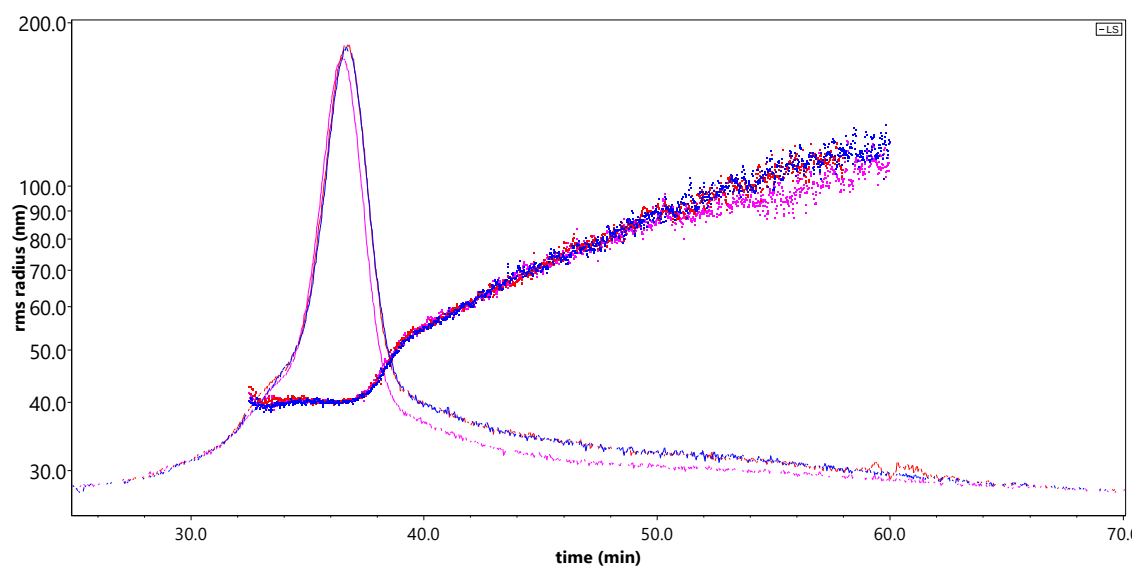


圖 17 C 園區污水處理廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(九) C 園區污水處理廠進流水/放流水

如圖 18 所示，放流水之靜態光散射圖譜已明顯與進流水不同，除主峰外，放流水之靜態光散射訊號強度皆低於進流水，可見污水廠處理過程中已移除部分奈米粒子；且放流水中之主要粒子粒徑尺寸也較小。

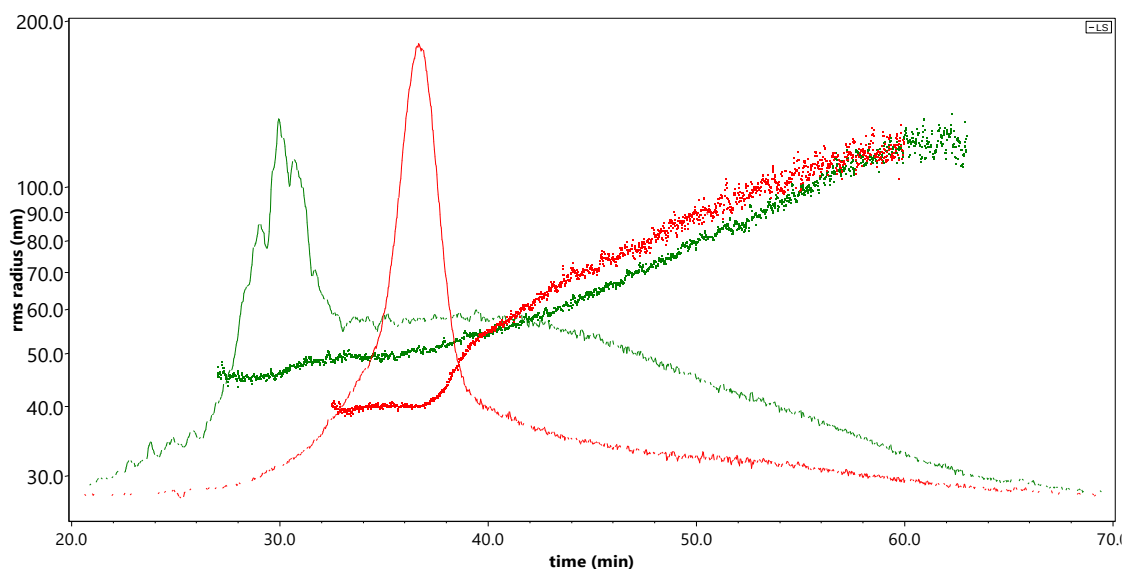


圖 18 C 園區污水處理廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(十) D 園區污水處理廠進流水

如圖 19 所示，同一樣品進行五重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可由小至大分離水樣中之粒子；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶稍有差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

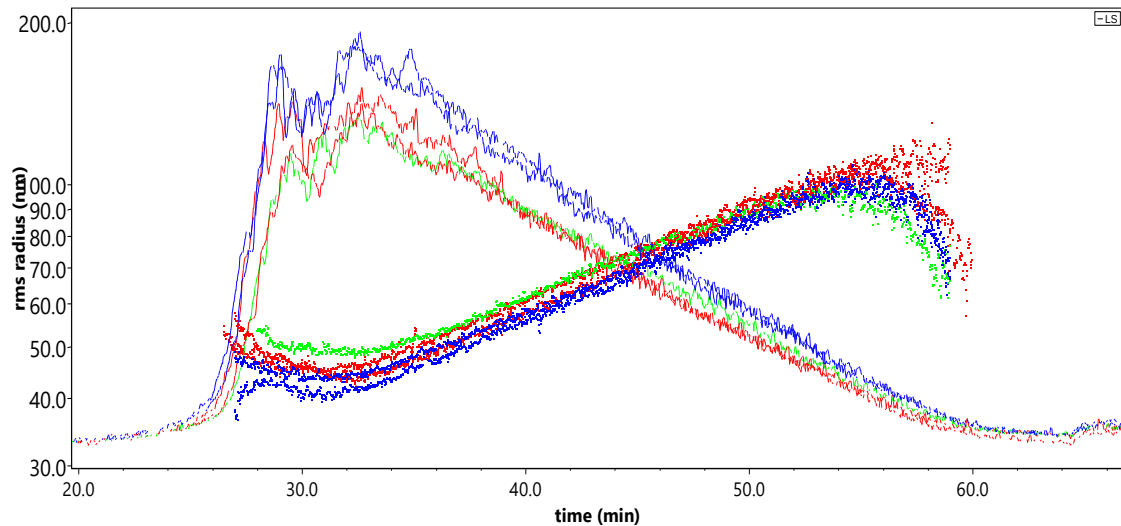


圖 19 D 園區進流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(十一) E 廠放流水

如圖 20 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子，但均方根半徑 rms 多大於 50 nm，大量粒子於分離後段釋出；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶稍有差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

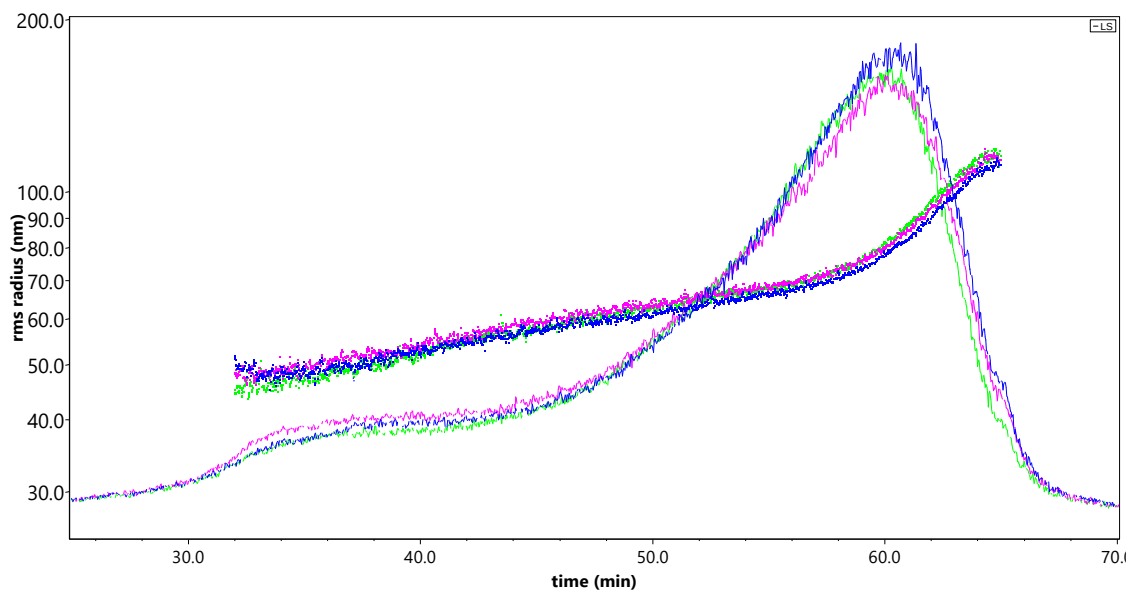


圖 20 E 廠放流水，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(十二) K 湖

如圖 21 所示，同一樣品進行四重複；於水移動相條件下，分離效果不佳，無法成功由小至大分離粒子；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶稍有差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

分析期間考慮聚焦時間(Focus time)與樣品進樣量是否對於粒子本身之粒徑尺寸造成影響；實驗發現並無明顯影響，相關數據將於後續討論中說明。

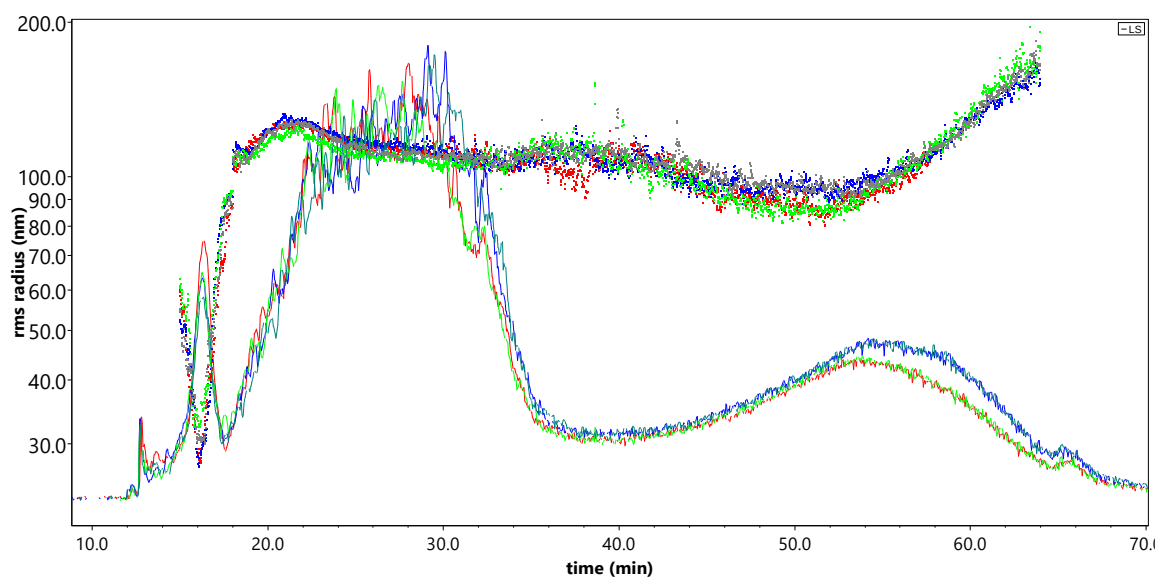


圖 21 K 湖水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(十三) L 溪

如圖 22 所示，同一樣品進行五重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統大致可成功由小至大分離水樣中之粒子，主峰之均方根半徑 rms 接近 50 nm；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶略有差異，但不影響整體粒徑分離分布趨勢。

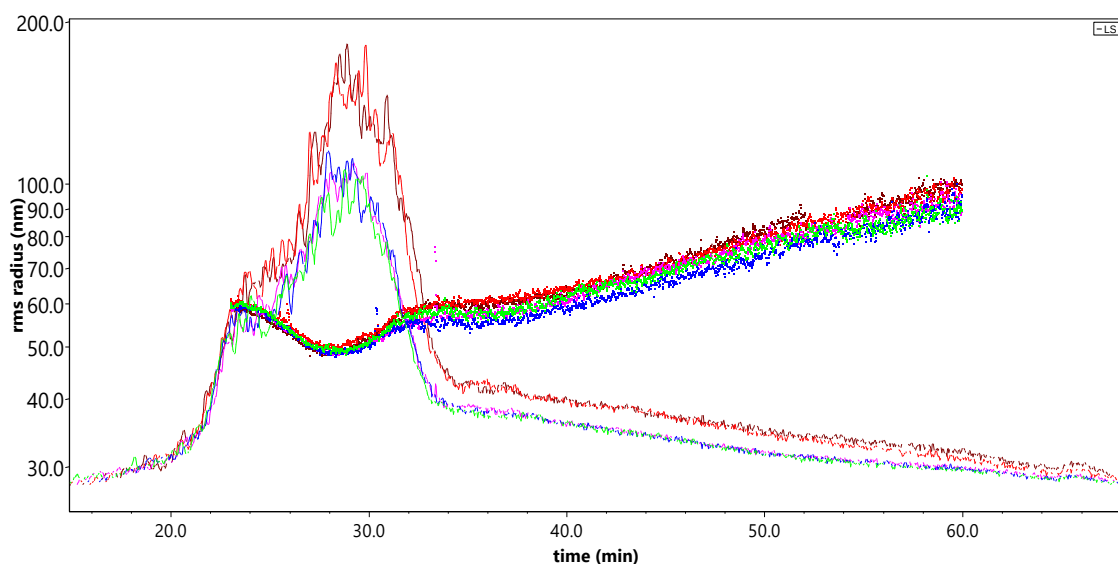


圖 22 L 溪水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

(十四) K 湖水樣於不對稱流場場流系統分離效率之探討

K 湖水樣相較於其他水體樣品，於不對稱流場場流系統中之分離效率不佳，考慮是否為系統設定問題，嘗試調整聚焦時間(Focus time)，仍無改善。考慮是否為進樣量體積造成之影響，分別測試 300 μL / 500 μL / 700 μL 三種進樣量，其餘系統條件及設定皆相同，分析圖譜如圖 23 所示。

由圖譜得知，靜態光散射主訊號峰(約 20 至 30 分鐘處)區段之訊號強度隨著進樣量增加而遞增，但粒徑分布趨勢及尺寸無明顯差異；而圖譜後段(約 35 分鐘後)之分離效率不佳且粒徑分布不穩定。由於三種進樣量條件下表現一致，故排除進樣量造成分離效率不佳的可能性。

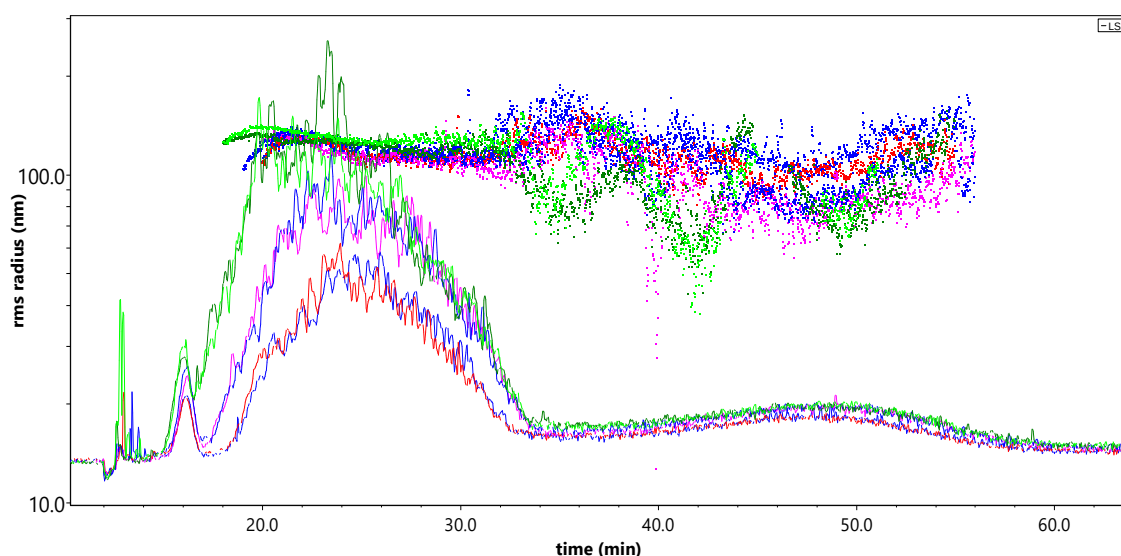


圖 23 K 湖水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下，進樣量 300 μL / 500 μL / 700 μL

除 K 湖水樣外，也測試 E 廠放流水(圖 24)及 C 園區進流水(圖 25)於 300 μL / 500 μL / 700 μL 三種進樣量體積。相同地可觀察到靜態光散射訊號強度隨著進樣量增加而遞增，但粒徑分布趨勢及尺寸大小不變；因此，再次確認在此進樣量範圍內，粒子之分離效率及粒徑尺寸不受進樣量的影響。

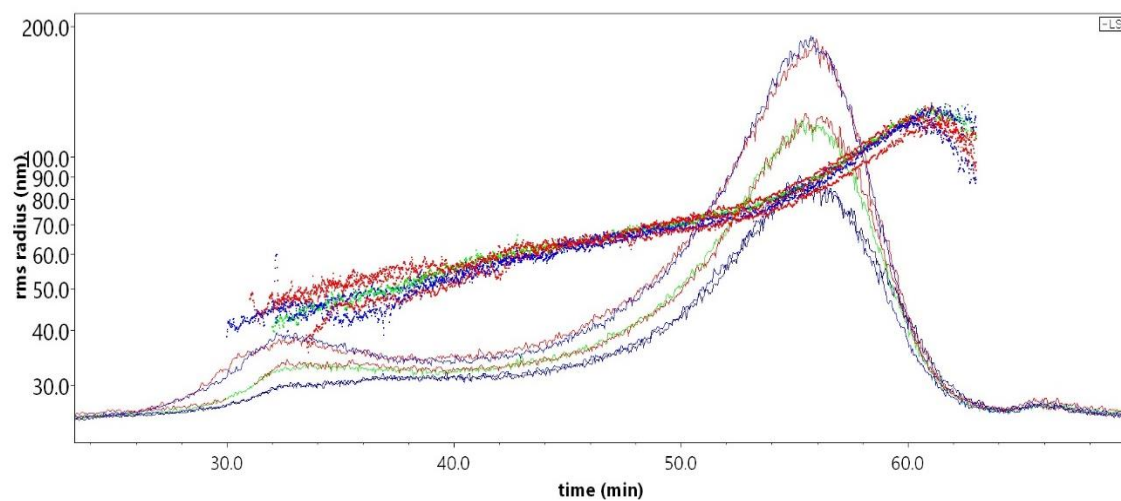


圖 24 E 廠放流水水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下，進樣量 300 μL / 500 μL / 700 μL

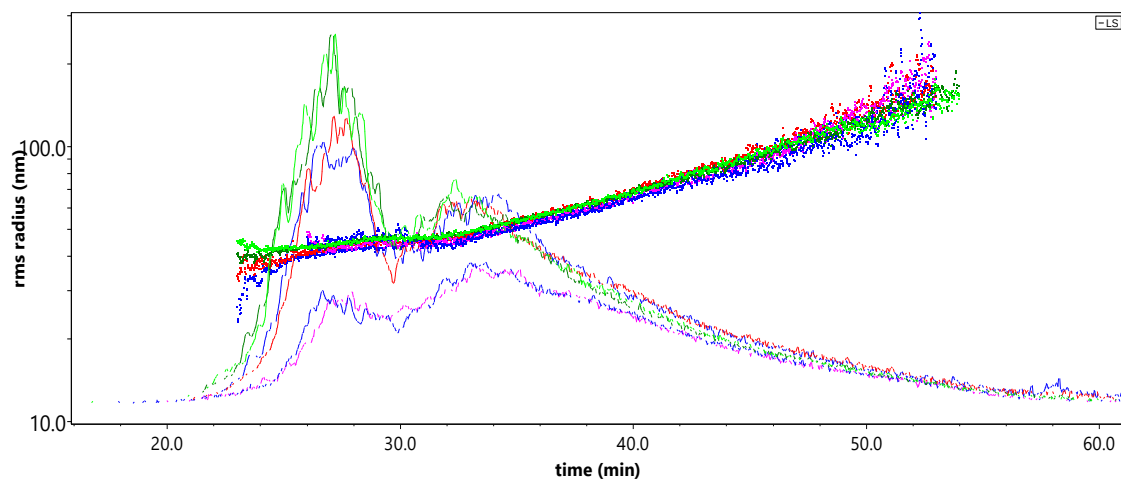


圖 25 C 園區污水處理廠進流水水樣，前處理 0.1 μm 濾膜條件下，進樣量 300 μL / 500 μL / 700 μL

4-3 於不對稱流場場流系統下之分析數據，前處理 0.22 μm 濾膜條件

經動態光散射儀(DLS)初篩後，除前處理 0.1 μm 濾膜條件外，同時也分析經前處理 0.22 μm 濾膜之水樣。十八件水樣除 D 園區污水處理廠放流水/ F 廠放流水/ G 廠放流水/ H 廠放流水/ I 廠放流水/ J 廠放流水共六件水樣外，其餘十二件皆需進行不對稱流場場流分析。

(一) A 廠進流水

如圖 26 所示，同一樣品進行四重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶仍有些許差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

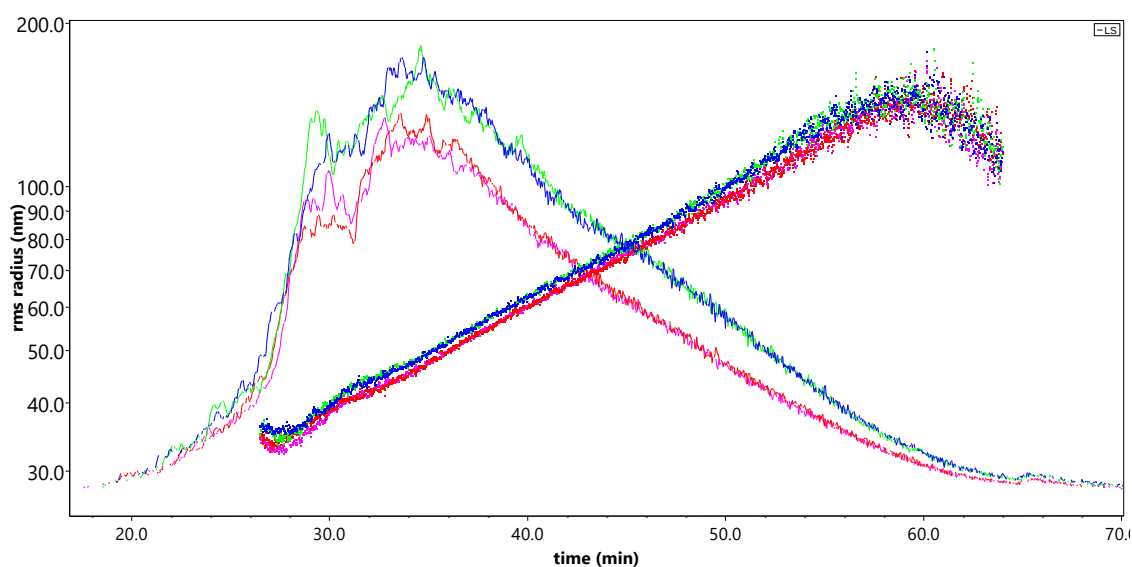


圖 26 A 廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(二) A 廠放流水

如圖 27 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子，粒子釋出區段同樣集中於 25 至 35 分鐘；再現性佳，粒徑分離分布趨勢一致。

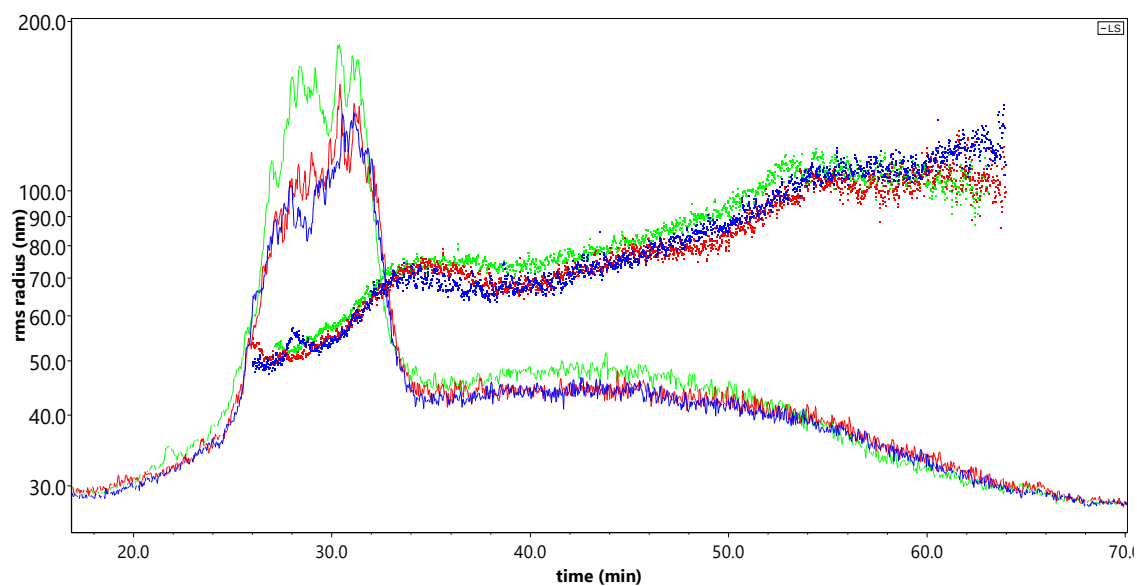


圖 27 A 廠放流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(三) A 廠進流水/放流水

如圖 28 所示，可觀察到放流水之靜態光散射訊號強度明顯低於進流水，可見污水廠處理過程中已移除大部分奈米粒子；但主峰區段放流水之粒子粒徑尺寸較大。

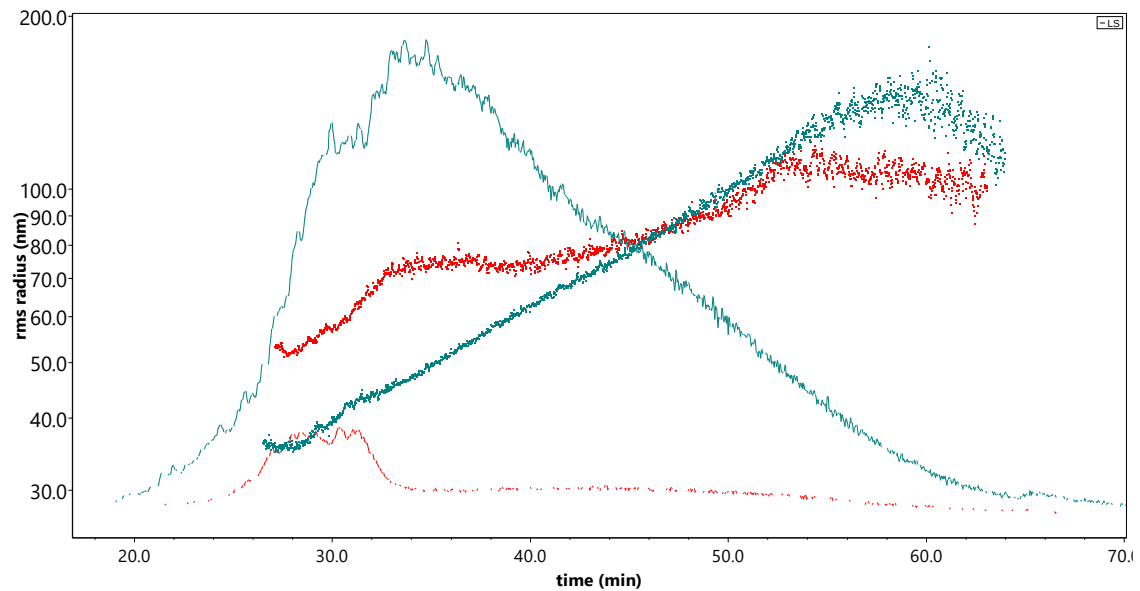


圖 28 A 廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(四) B 廠進流水

如圖 29 所示，同一樣品進行三重複；如同於前處理 0.1 μm 濾膜條件下，於水移動相條件下，分離前段效果不佳，且每個時間點下粒徑分布變化性較大；參考動態光散射儀(DLS)之檢測值僅 13,000 counts，略高於標準值；於不對稱流場場流系統中，也非常接近以水為空白試樣之圖譜。應為水樣中粒子數不足導致數據不穩定。

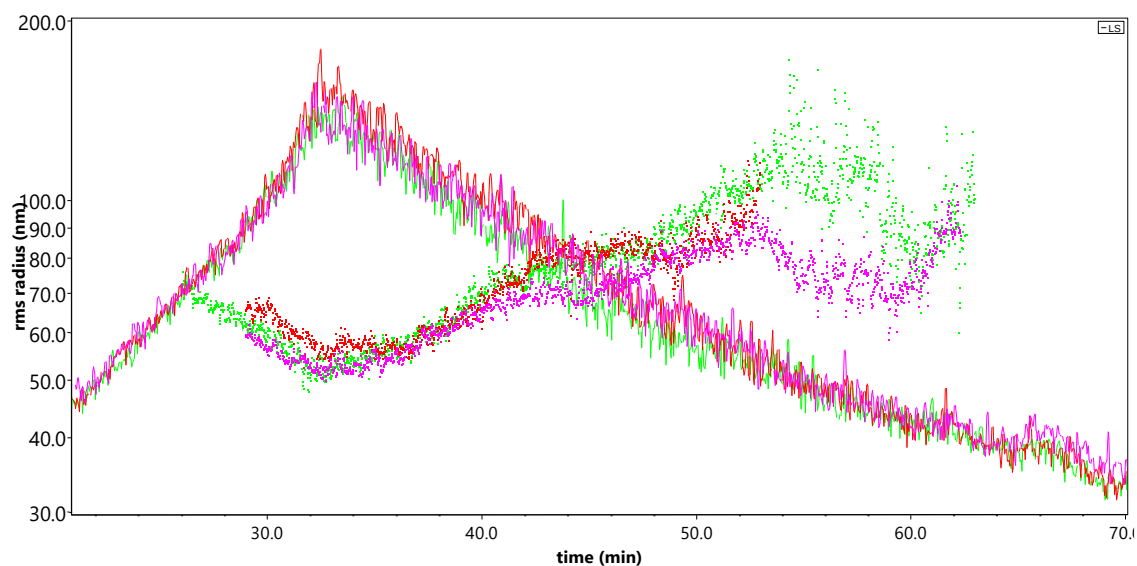


圖 29 B 廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(五) B 廠放流水

如圖 30，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，分離前段效果仍需改善；動態光散射儀(DLS)之檢測值約為 14,000 counts，略高於進流水；再現性佳。

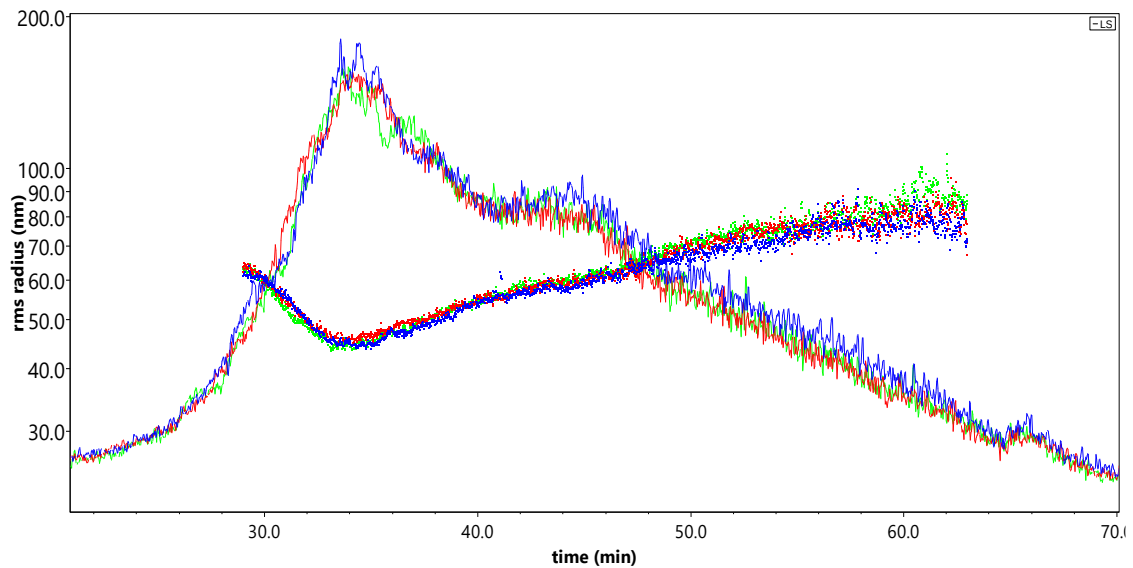


圖 30 B 廠放流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(六) B 廠進流水/放流水

圖譜趨勢與前處理 0.1 μm 濾膜條件下相同，圖 31 顯示 B 廠進流水之光散射強度仍低於放流水，僅略優於空白試樣二次水；與動態光散射儀(DLS)之偵測值一致；但整體而言此兩件水樣經前處理 0.22 μm 濾膜後，內含之粒子數相對於其他水樣依舊不高。

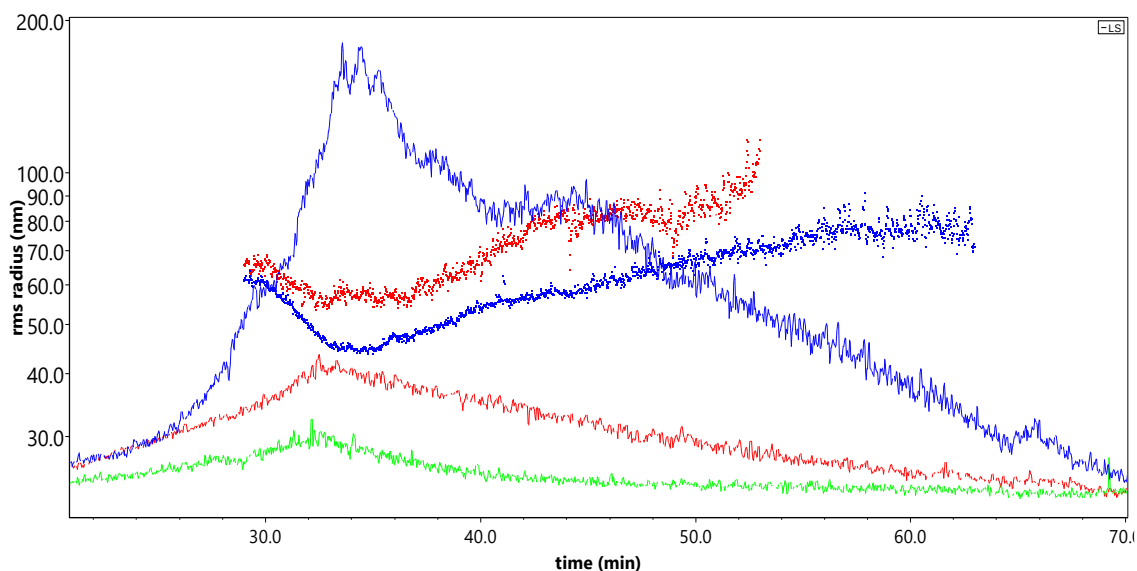


圖 31 B 廠放流水/進流水/空白試樣：二次水(圖譜訊號由高至低)，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(七) C 園區污水處理廠進流水

如圖 32 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶稍有差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

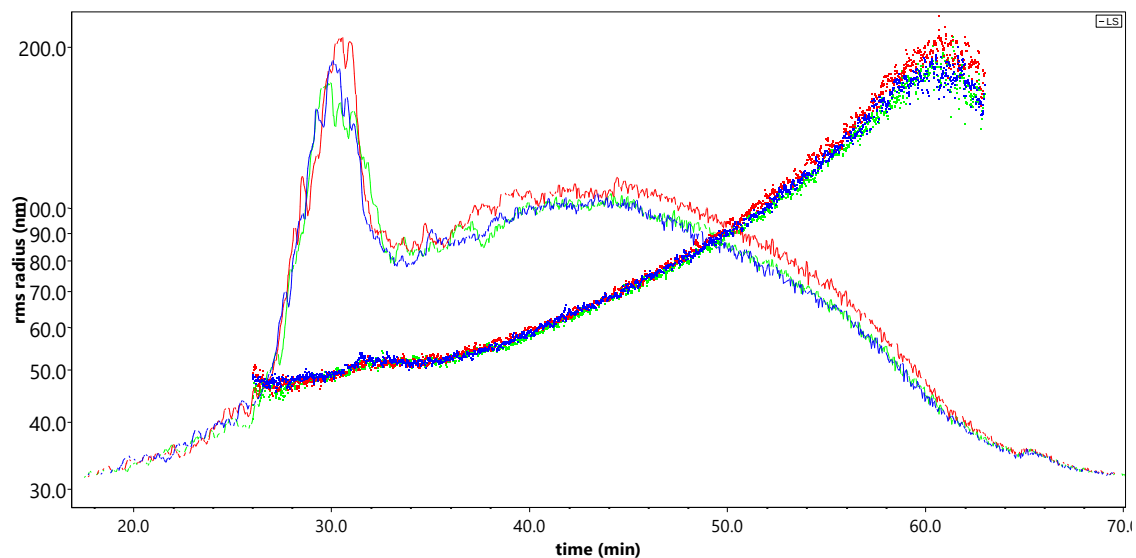


圖 32 C 園區污水處理廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(八) C 園區污水處理廠放流水

如圖 33 所示，同一樣品進行三重複；於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子，且主峰區段粒徑分布趨勢平穩；再現性佳。

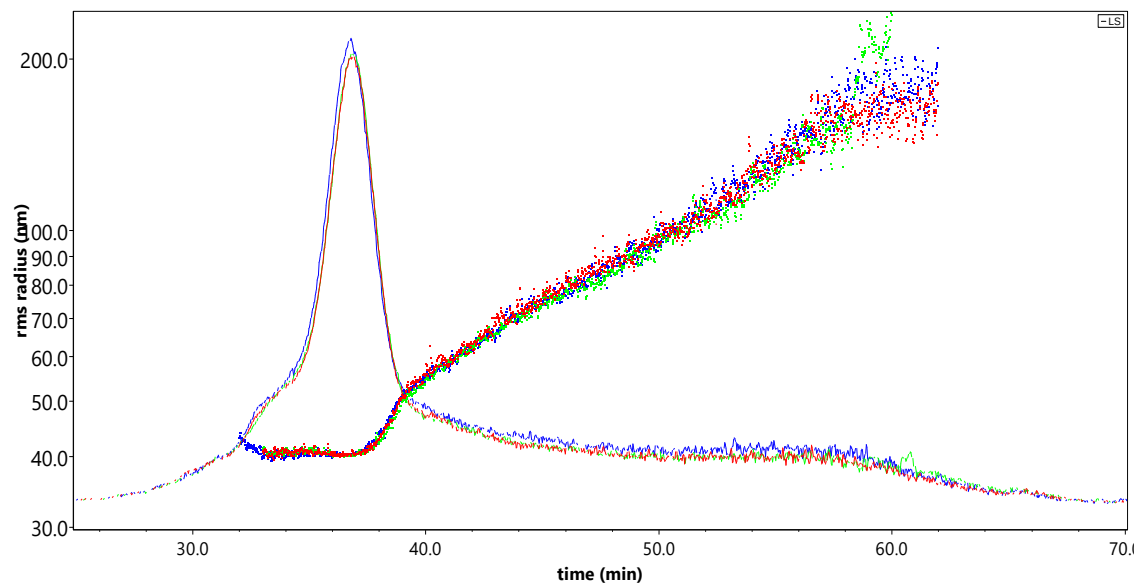


圖 33 C 園區污水處理廠放流水，前處理 0.22 µm 濾膜條件下

(九) C 園區污水處理廠進流水/放流水

如圖 34 所示，放流水之靜態光散射圖譜已明顯與進流水不同，整體而言，放流水之靜態光散射訊號強度低於進流水，可見污水廠處理過程中已移除部分奈米粒子；且放流水中之主要粒子粒徑尺寸也較小。

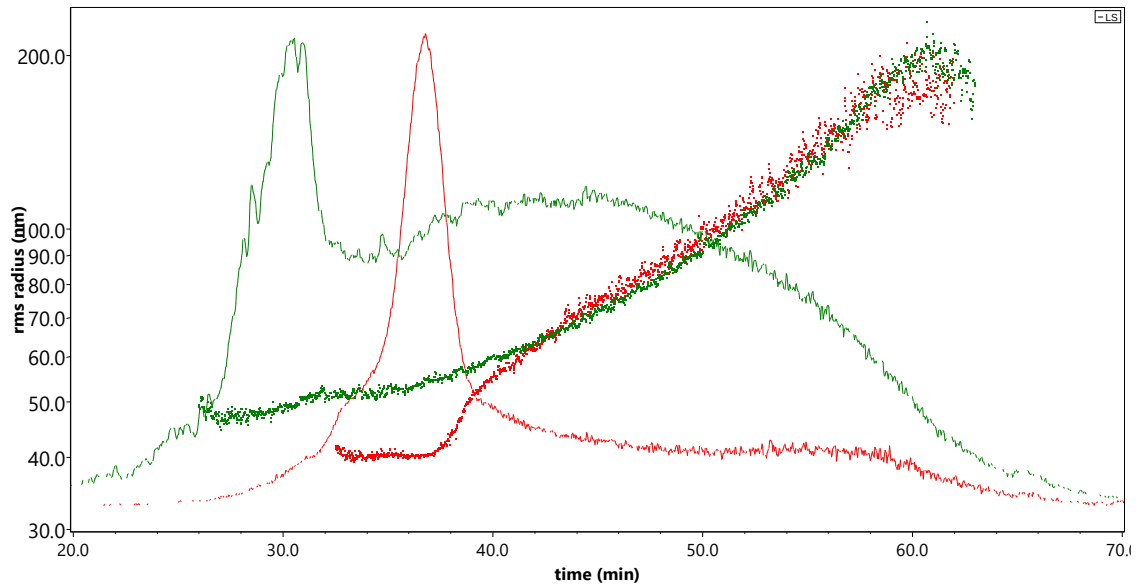


圖 34 C 園區污水處理廠進流水(綠色)/放流水(紅色)，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(十) D 園區污水處理廠進流水

如圖 35 同一樣品進行六重複；圖譜趨勢與前處理 0.1 μm 濾膜條件下一致，於水移動相中，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶稍有差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

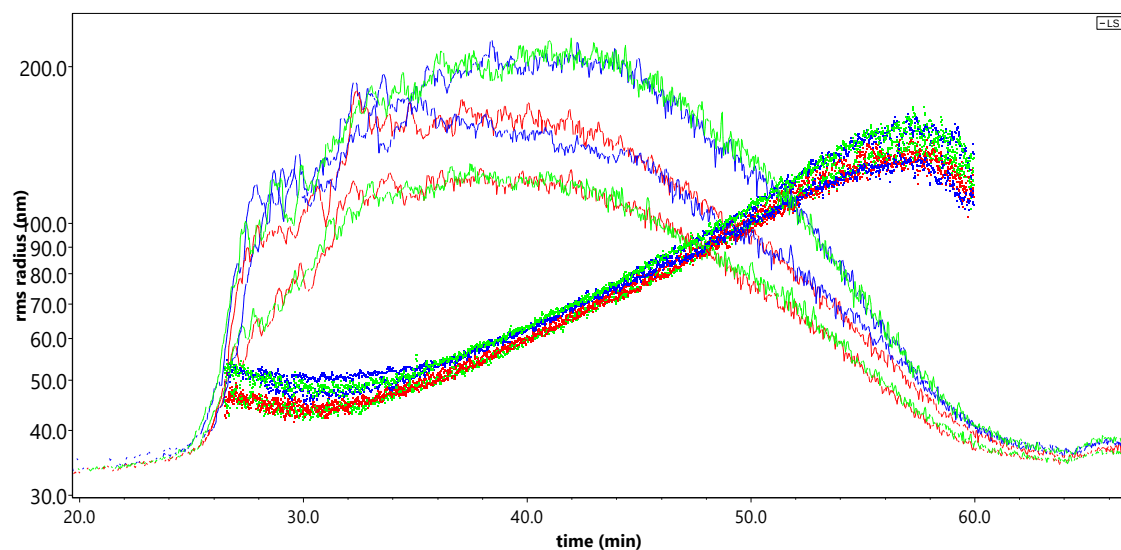


圖 35 D 園區污水處理廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(十一) E 廠放流水

如圖 36，同一樣品進行四重複；圖譜趨勢與前處理 $0.1\ \mu\text{m}$ 濾膜條件下一致，於水移動相中，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子，但均方根半徑 rms 多大於 $50\ \text{nm}$ ，大量粒子於分離後段釋出；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶稍有差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

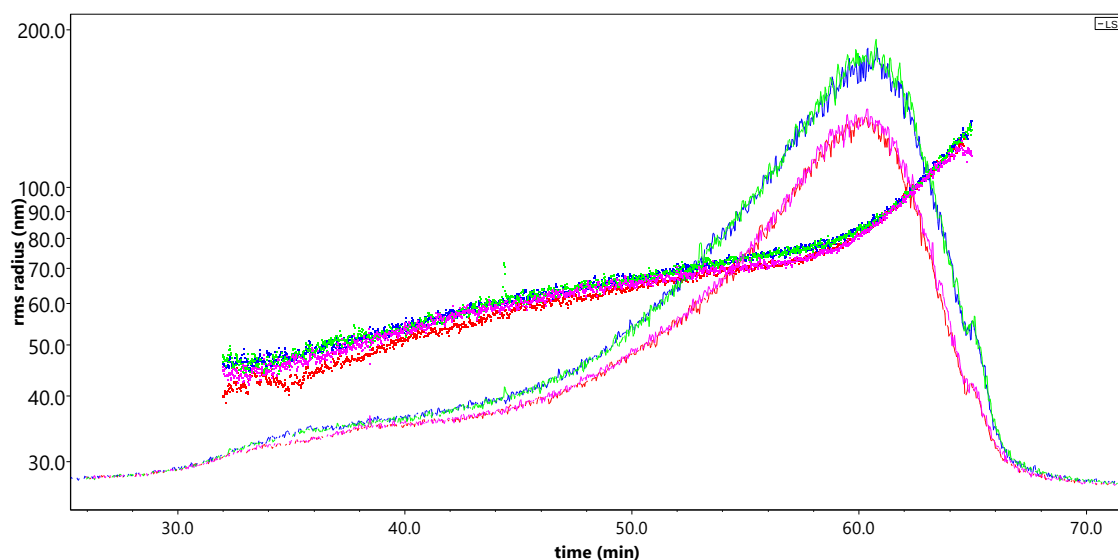


圖 36 E 廠放流水，前處理 $0.22\ \mu\text{m}$ 濾膜條件下

(十二) F 廠進流水

如圖 37 同一樣品進行四重複；於水移動相中，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；靜態光散射訊號主峰之粒子 rms 半徑約 100 nm；而 DLS 測值也偏低，僅 12,733 counts。

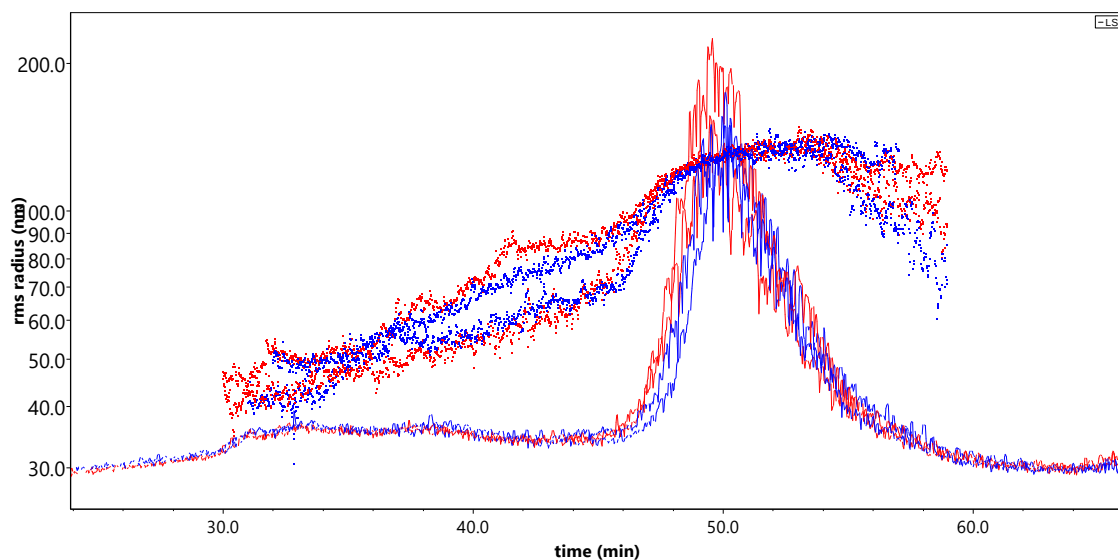


圖 37 F 廠進流水，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(十三) K 湖

如圖 38，同一樣品進行三重複；與前處理 $0.1\ \mu\text{m}$ 濾膜條件下圖譜趨勢相似，於水移動相條件下，分離效果不佳，無法成功由小至大分離粒子；整體再現性佳。

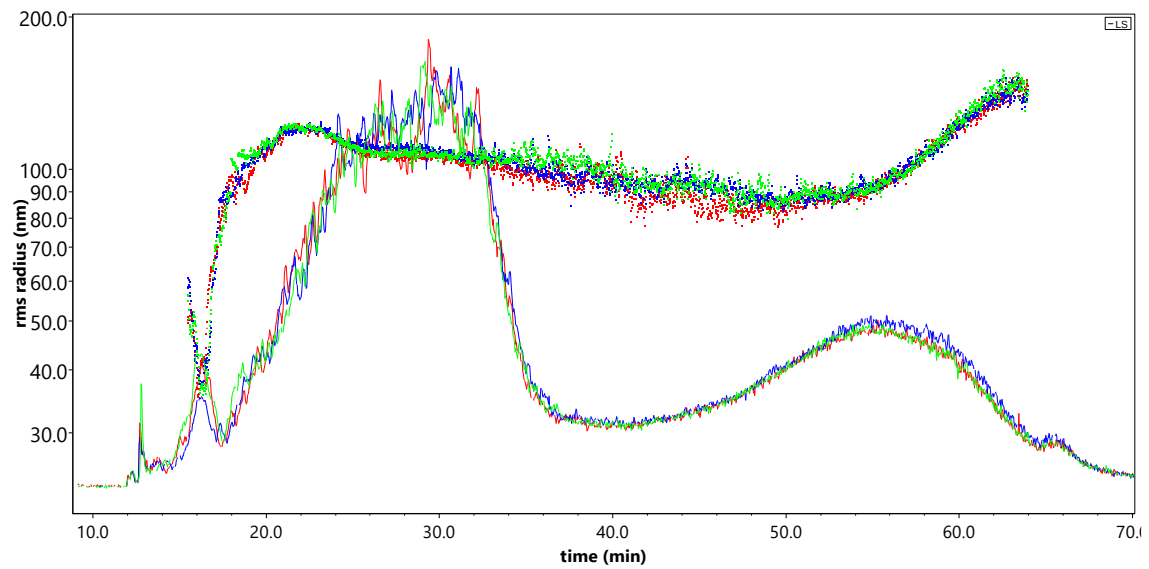


圖 38 K 湖水樣，前處理 $0.22\ \mu\text{m}$ 濾膜條件下

(十四) L 溪

如圖 39，同一樣品進行五重複；與前處理 0.1 μm 濾膜條件下圖譜趨勢相近，於水移動相條件下，不對稱流場場流系統大致可成功由小至大分離水樣中之粒子，主峰之均方根半徑 rms 接近 50 nm；再現性佳。

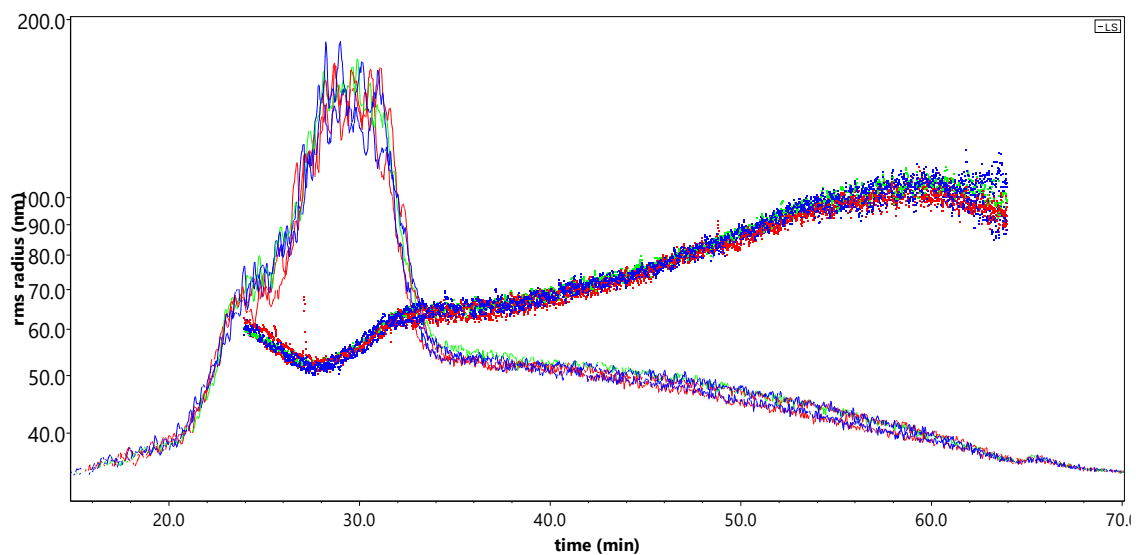


圖 39 L 溪水樣，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

(十五) M 水庫水樣

如圖 40 同一樣品進行四重複；於水移動相中，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，不同樣品瓶於分離後段粒子數量不等，但不影響粒徑分離分布趨勢。

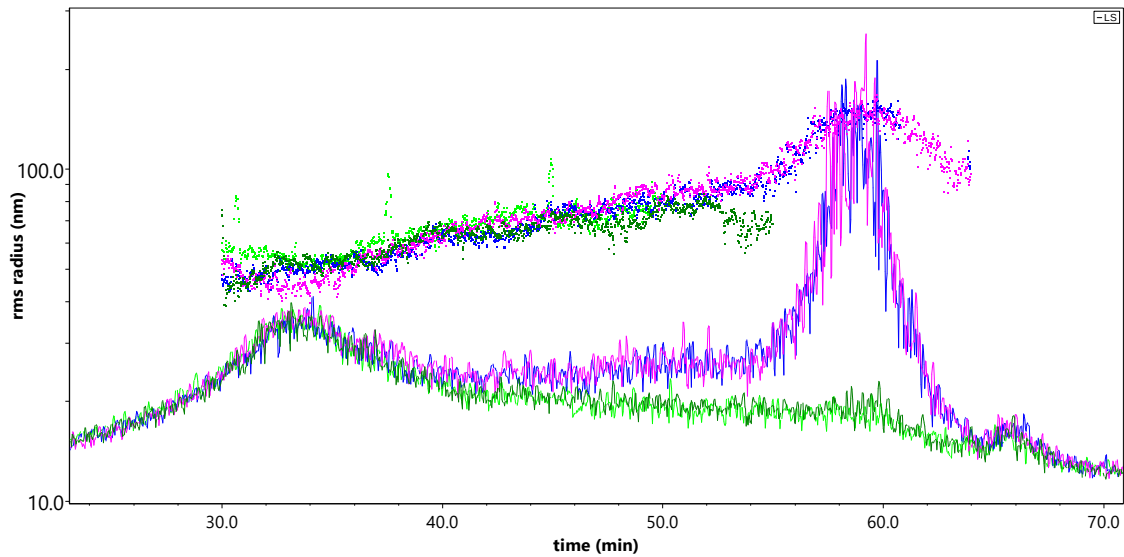


圖 40 M 水庫水樣，前處理 0.22 μm 濾膜條件下

4-4 動態光散射儀(DLS)與不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀(AF4-MALS)兩系統分析之奈米物質粒徑尺寸

動態光散射儀是透過粒子本身的布朗運動來計算擴散係數(Diffusion Coefficient)，進而推導粒子粒徑尺寸，又稱 Hydrodynamic radius (Rh) 水合半徑；而多角度靜態光散射儀則是藉由偵測單位時間內散射光之平均訊號強度，計算分子量、第二維里係數及粒子之均方根半徑 Root Mean Square Radius (rms radius)，或以 Rg 表示。Rg 與 Rh 除科學定義上之差異外，兩者間之比例可提供樣品構型上之訊息；Rg/Rh 可以 ρ 值呈現， ρ 值越小，意味粒子結構越緊密，一般而言， ρ 值約可分為三個區間：

Structure	$\rho = Rg/Rh$
1. Solid Sphere	0.7
2. Empty Sphere	1.0
3. Star Polymer	1.5
4. Looseness	1.8

構型中說明之球體、螺旋狀或是星狀聚合物結構原則上為相對狀態；例如裝載藥物後的微脂體(Liposome)相對於空心的微脂體而言， ρ 值則會降低，透過動態光散射儀(DLS)與多角度靜態光散射儀(MALS)兩系統分析而得之半徑資訊，可協助製程上之研發及控管。

表 5 整理現階段前處理 0.1 μm 濾膜條件下，十件水樣之多角度靜態光散射儀(MALS)：均方根半徑(Rg)、動態光散射儀(DLS)：水合半徑(Rh)與 ρ 值 (Rg/Rh)。

K 湖之 Rg 與 Rh 值皆明顯偏大；動態光散射(DLS)之 Rh 值，除 E 廠放流水及 K 湖水樣外，水合半徑 Rh 值皆小於 50 nm。

而十件水樣中除 E 廠放流水外， ρ 值皆大於 1，可見目前測試水樣中之奈米粒子多數為結構較鬆散的型態；而 E 廠放流水 ρ 值為 0.6 至 0.8，構型接近實心之圓球體；C 園區放流水中，部分粒子 ρ 值約為 1.0，構型上為空心的圓球體。

表 5 九件水樣之多角度靜態光散射儀(MALS)-均方根半徑(Rg)、動態光散射儀(DLS)-水合半徑(Rh)與 ρ 值(Rg/Rh)，前處理 0.1 μm 濾膜條件下

地點	A 廠進流水		A 廠放流水		B 廠進流水	B 廠放流水	C 園區進流水		C 園區放流水	
MALS - Rg(nm)	40	69	50	67	66.5	52.1	47	66	41	69
MALS - S.D.(nm)	1.4	5.2	2.0	2.9	1.5	2.0	0.5	4.1	0.2	1.9
DLS - Rh(nm)	34.3		36.0		48.8	41.1	41.2		40.0	
DLS - S.D.(nm)	1.8		2.7		4.1	1.7	0.9		3.1	
$\rho = \text{Rg/Rh}$	1.2	2.0	1.4	1.9	1.4	1.3	1.1	1.6	1.0	1.7
Conformation	3	4	3	4	3	3	3	4	2	4

地點	D 園區進流水		E 廠放流水		K 湖		L 溪	
MALS - Rg(nm)	46	75	49	67	106	97	55	72
MALS - S.D.(nm)	2.9	4.2	1.1	1.1	2.7	7.9	0.8	0.5
DLS - Rh(nm)	43.1		85.9		72.2		36.8	
DLS - S.D.(nm)	4.7		3.2		1.6		2.7	
$\rho = \text{Rg/Rh}$	1.1	1.8	0.6	0.8	1.5	1.3	1.5	2.0
Conformation	3	4	1	1	3	3	3	4

注：Conformation 1. Solid Sphere；2. Empty Sphere；3. Star Polymer；4. Looseness

4-5 無機組成分析-重金屬含量

經動態光散射儀(DLS)初篩，不對稱流場流分離系統-多角度靜態光散射儀分析後之十件水樣，依據各水樣所得之光散射圖譜及粒徑分布趨勢，決定各件水樣分液收集之區段。

本期計畫著重於 100 nm 以下之奈米粒子，故主要收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區間；針對 E 廠放流水、K 湖及 L 溪三件水樣，額外收集粒徑尺寸 100 nm 以上之粒子做為參考及比較，原始數據請參考附錄三。表 4 為各水樣收集區段時間之整理。

表 4 各水樣於不同粒徑尺寸之分液收集時間

採樣點/粒子直徑	< 10nm	10 至 100nm	>100nm
A 廠 進流水	12.1 至 17.9 mins	18 至 38 mins	-
A 廠 放流水		18 至 30 mins	-
B 廠 進流水		18 至 28 mins	-
B 廠 放流水		18 至 36 mins	-
C 園區 進流水		18 至 38 mins	-
C 園區 放流水		18 至 38 mins	-
D 園區 進流水		18 至 36 mins	-
E 廠 放流水		18 至 38 mins	38.1 至 68 mins
K 湖		18 至 38 mins	38.1 至 58 mins
L 溪		18 至 38 mins	38.1 至 58 mins

分段收集下來之水樣，分別進行有機及無機物之成分分析。

無機部份將針對重金屬含量定量分析，利用感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)，委託檢驗單位進行分析，依據 NIEA W313.52B 方法針對砷(As)、鎘(Cd)、鉻(Cr)、銅(Cu)、鉛(Pb)、銀(Ag)、鋅(Zn)、鐵(Fe)八個重金屬/元素；另額外分析錳(Mn) / 鎳(Ni) / 硒(Se) / 鈣(Ca) / 鎂(Mg)。檢測數據如表 6，原始報告於附錄三。定量極限為 0.5 µg/L。

表 6 分液收集 100 nm 奈米物質後，各水樣之金屬濃度 (μg/L)

採樣點 / 濃度 (μg/L)	A 廠 進流水	A 廠 放流水	B 廠 進流水	B 廠 放流水	C 園區 進流水	C 園區 放流水
收集體積	26 mL	18 mL	16 mL	24 mL	26 mL	26 mL
砷(As)	< 0.5	4.84	27.9	15.2	< 0.5	6.91
鎘(Cd)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鉻(Cr)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
銅(Cu)	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 2.0	4.46	< 2.0
鉛(Pb)	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 2.0
銀(Ag)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鋅(Zn)	3.82	7.01	19.0	14.6	12.7	6.51
鐵(Fe)	5.37	8.52	2.4	2.9	5.42	3.21
錳(Mn)	< 0.5	< 0.5	0.79	0.5	< 0.5	< 0.5
鎳(Ni)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	0.93	< 0.5
硒(Se)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鈣(Ca)	7.27	9.07	18.4	13.6	17.8	8.62
鎂(Mg)	4.17	4.03	16.0	5.18	12.2	2.97

表 6 分液收集 100 nm 奈米物質後，各水樣之金屬濃度 (µg/L) (續)

採樣點 / 濃度 (µg/L)	D 園區 進流水	E 廠 放流水	K 湖	L 溪
收集體積	24 mL	26 mL	26 mL	26 mL
砷(As)	25.3	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鎘(Cd)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鉻(Cr)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
銅(Cu)	< 2.0	< 2.0	6.33	< 2.0
鉛(Pb)	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 2.0
銀(Ag)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鋅(Zn)	12.8	< 2.0	3.49	2.79
鐵(Fe)	2.2	5.07	3.76	3.36
錳(Mn)	0.63	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鎳(Ni)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
硒(Se)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
鈣(Ca)	49.1	10.3	10.1	8.98
鎂(Mg)	25.6	4.83	3.52	6.98

(一) A 廠進流水

A 廠進流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，檢測其金屬/元素含量。

13 種金屬/元素分析中，檢測到鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)及鎂(Mg)；由於 A 廠進流水為都市污水，以生活廢水為主，故檢測出之金屬相較於其他水樣，其分布含量較平均。

(二) A 廠放流水

A 廠放流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，檢測其金屬/元素含量。

13 種金屬/元素分析中，檢測到鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)、鎂(Mg)及砷(As)；一般而言，若污水處理過程中無特殊流程，多數金屬/元素含量應下降，進流水與放流水金屬/元素之含量差異，推估可能因水樣批次因素導致此現象。

(三) B 廠進流水

B 廠進流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，檢測其金屬/元素含量。

13 種金屬/元素分析中，檢測到鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)、鎂(Mg)、砷(As)及錳(Mn)；廠商引用地下水，故鈣鎂金屬成分較高；廠區以鈹金塗裝作業為主，因塗裝需求使用水性塗料、有機油性塗料及有色膠漿塗料等，因成色關係內含有特殊金屬/元素成分，故可能造成進流水中部分金屬/元素含量稍高。

(四) B 廠放流水

B 廠放流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，檢測其金屬/元素含量。

13 種金屬/元素分析中，如同進流水樣檢測到鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)、鎂(Mg)、砷(As)及錳(Mn)；進流水樣中含有大量沉積顆粒，廢水處理流程中含兩階段沉降槽/沉澱槽，每月生成 80 噸無機污泥。

(五) C 園區進流水

C 園區進流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，檢測其金屬/元素含量。13 種金屬/元素分析中，檢測到銅(Cu)、鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)、鎂(Mg)及鎳(Ni)；園區廠商以機械設備製造修配業及金屬製品製造業為最大宗，故於進流水中檢測出數種金屬成分。

(六) C 園區放流水

C 園區放流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，檢測其金屬/元素含量。13 種金屬/元素分析中，檢測到鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)、鎂(Mg)及砷(As)。

(七) D 園區污水處理廠進流水

D 園區污水處理廠進流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，檢測其金屬/元素含量。13 種金屬/元素分析中，檢測到鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)、鎂(Mg)、砷(As)及錳(Mn)。園區以積體電路產業為主，約佔總廢水量之 80%；蝕刻氧化製程中產生之氟酸系廢液，主要成分如氫氟酸(HF)、氟化銨(NH₄F)，常使用化學沉澱法處理，為利用化學藥劑與溶解的離子發生化學反應產生不溶解性沉澱物，含氟廢水的處理即利用鈣離子與氟離子發生反應結合成氟化鈣粒子沉澱去除之。推估因此造成水樣中鈣含量稍高。

(八) E 廠放流水

E 廠放流水水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，分別檢測其金屬/元素含

量。13 種金屬/元素分析中，檢測到鐵(Fe)、鈣(Ca)及鎂(Mg)；紙製品製造程序中，相關機器設備多為金屬製品，如抄紙機、紙塑機、鍋爐等，長期使用下會釋出金屬離子或粒子；廠商因製程需求添加使用碳酸鈣，且引用地下水，故於水樣中檢測出鈣鎂金屬。

(九) K 湖

K 湖水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，分別檢測其金屬/元素含量。13 種金屬/元素分析中，檢測到銅(Cu)、鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)及鎂(Mg)；K 湖為封閉水源，受蒸散及水源溢流現象造成水量減少，負責單位便引進地下水源來補充 K 湖散失的水分，因此可解釋水樣中鈣鎂金屬的來源。

(十) L 溪

L 溪水樣收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區段，分別檢測其金屬/元素含量。13 種金屬/元素分析中，檢測到鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)及鎂(Mg)；於 L 溪流域土壤分析發現，中下游地區主要為砂頁岩及石灰性沖積土，故因此於水樣中含有較高含量之鈣鎂成分。

4-6 總有機碳 Total Organic Carbon (TOC)分析 - 自行補充分析

總有機碳(TOC)是以碳的含量表示有機物總量的一個指標，常用於檢測水質。總有機碳利用燃燒法，能將有機物全部氧化，比生化需氧量或化學需氧量更能反映有機物的總量。以過硫酸鈉當氧化劑，再加熱至 100°C，將有機碳氧化成二氧化碳，再以 NDIR(非擴散性紅外線)分析。且高低濃度皆可分析；操作簡單、保養容易；可靠性佳，也可同時分析 TIC(總無機碳)。

將十件水樣，直接經過 0.1 μm 濾膜後之濾液總有機碳及總無機碳分析，由表 7 得知，除 B 廠進流水外，總無機碳之濃度皆高於總有機碳；比較 A 廠及 C 園區污水處理廠之進流水與放流水，放流水之總有機碳與總無機碳濃度皆降低；而 B 廠放流水之總無機碳較進流水高，考慮其廢水處理流程的最後一步為活性碳吸附(廢活性碳 0.5 噸/月)，可能因部分活性碳粒子釋出於放流水中，導致其總無機碳檢測值較進流水樣高。

目前十件水樣中，B 廠進流水含有最高總有機碳(TOC)濃度 72.0 ppm，考慮其因鈹金塗裝使用各式水性塗料、有色油性塗料及有色膠漿塗料等，造成進流水中含有較高含量之總有機碳。L 溪水樣中含有最高總無機碳(TIC)濃度 100.0 ppm，考慮其石灰性土質及 ICP-MS 數據呈現高鈣鎂金屬含量，推估其無機碳來源應為碳酸鈣及碳酸鎂成分；而 B 廠進流水/放流水及 C 園區進流水也含有較高總無機碳含量。

表 7 前處理 0.1 μm 濾膜條件下之十件水樣之總有機碳(TOC)及總無機碳(TIC)濃度

地點	A 廠 進流 水	A 廠 放流 水	B 廠 進流 水	B 廠 放流 水	C 園 區進 流水	C 園 區放 流水	D 園 區進 流水	E 廠 放流 水	K 湖	L 溪
TOC (ppm)	25.1	15.5	72.0	11.2	21.8	4.0	24.9	4.0	13.7	16.0
TOC - RSD (%)	1.87	0.19	1.56	1.42	1.89	0.63	1.55	1.92	0.13	3.52
TIC (ppm)	29.2	19.2	40.6	62.5	45.9	15.8	34.1	35.1	25.7	100.0
TIC - RSD (%)	0.96	0.91	0.49	1.03	0.06	0.31	0.8	0.81	0.22	0.86

4-7 水中揮發性有機化合物(Volatile Organic Compound, VOC)檢測 - 自行補充分析

依照世界衛生組織的定義，如果在氣壓 101.32 kPa 下，該化合物的沸點在 50 °C 至 250 °C，就是揮發性有機物。它們會在常溫下以氣體形式存在。按其化學結構的不同，可以進一步分為八類：烷類、芳烴類、烯類、鹵代烴類、酯類、醛類、酮類和其他。VOC 的主要成分有：烴類、鹵代烴、氧烴和氮烴，它包括：苯系物、有機氯化物、氟里昂系列、有機酮、胺、醇、醚、酯、酸和石油烴化合物等。

其主要來源可來自於燃料燃燒和交通運輸產生的工業廢氣、汽車尾氣、光化學污染等；或是來自燃煤和天然氣等燃燒產物、吸菸、採暖和烹調等的煙霧，建築和裝飾材料、家具、家用電器、清潔劑和人體本身的排放等。

十件通過動態光散射儀初篩之水樣中，K 湖及 L 溪水樣因距採樣時間超過十四天，故排除於分析之外。參考環境檢驗所公告之方法，將採取之八件水樣先經前處理 0.1 μm 濾膜後，將水樣以自動進樣設備注入吹氣捕捉裝置的吹氣管中，於室溫下通以惰性氣體，將其中揮發性有機物導入捕捉管收集。待捕捉完成後，以瞬間加熱脫附並使用氮氣逆向通過捕捉管之方式，將有機物質導入氣相層析儀中。利用氣相層析管柱分離各個成分後，再以質譜儀作為偵測器，進行水中揮發性有機物之檢測。共檢驗 59 種成分，數據如表 8 所示。

表 8 各水樣中之揮發性有機物檢測值 (µg/L)

水樣 / 檢測項目(µg/L)	A 廠 進流 水	A 廠 放流 水	B 廠 進流 水	B 廠 放流 水	C 園 區進 流水	C 園 區放 流水	D 園 區進 流水	E 廠 放流 水
dichlorodifluoromethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
chloromethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
chloroethene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
bromomethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
chloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
trichloromethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1-dichloroethene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Methylene chloride	1.50	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.79	N.D.
cis-1,2-dichloroethene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1-dichloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
trans-1,2-dichloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
bromochloromethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
chloroform	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.99	N.D.
2,2-dichloropropane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2-dichloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1,1-trichloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1-dichloropropene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
benzene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Carbon tetrachloride	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
dibromomethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2-dichloropropane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

bromodichloromethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
trichloroethene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
cis-1,3-dichloropropene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
trans-1,3-dichloropropene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1,2-trichloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
toluene	6.58	N.D.	4.93	N.D.	10.29	N.D.	N.D.	N.D.
1,3-dichloropropane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
dibromochloromethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2-dibromoethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
tetrachloroethene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1,1,2-tetrachloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
chlorobenzene	2.30	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ethylbenzene	1.34	N.D.	44.20	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
m&p-Xylene	2.46	N.D.	86.54	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
bromoform	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
styrene	N.D.	N.D.	2.75	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1,2,2-tetrachloroethane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
o-Xylene	2.35	N.D.	82.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2,3-trichloropropane	N.D.	N.D.	2.25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Isopropylbenzene	N.D.	N.D.	8.80	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
bromobenzene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
n-propylbenzene	N.D.	N.D.	16.22	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2-chlorotoluene	N.D.	N.D.	16.22	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
4-chlorotoluene	N.D.	N.D.	45.41	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2,4-trimethylbenzene	N.D.	N.D.	93.26	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,3,5-trimethylbenzene	N.D.	N.D.	403.46	N.D.	3.74	N.D.	N.D.	N.D.
tert-butylbenzene	N.D.	N.D.	51.79	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,3-dichlorobenzene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

1,2-dichlorobenzene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
sec-butylbenzene	N.D.	N.D.	339.38	N.D.	3.16	N.D.	N.D.	N.D.
4-Isopropyltoluene	N.D.	N.D.	2.42	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,4-dichlorobenzene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
n-butylbenzene	N.D.	N.D.	3.25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2-dibromo-3-chloropropane	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2,4-trichlorobenzene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Napthalene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2,3-trichlorobenzene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexachlorobutadiene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

八件水樣中，以 B 廠進流水檢測出數種揮發性有機物，59 個檢測項目中測得 16 樣。如前述提及，B 廠主要業務包含鍍金塗裝，過程中使用水性塗料、有色油性塗料及有色膠漿塗料等；資料顯示，一般油漆中 VOC 含量約為每公升 30 至 70 克，而廠商於生產過程中此三類塗料每個月使用量約 130 噸，故進流水中可檢測到部分揮發性有機物，且於總有機碳(TOC)分析中，B 廠進流水測值也為十件水樣中最高(72.0 ppm)；因其整體 VOC 與 TOC 分析數值皆較其他水樣高，除粒子粒徑尺寸分布外，應注意此水樣是否可能造成較明顯之生物毒性影響。而進流水經過廠商之廢水處理廠後，放流水中 59 項揮發性有機物分析皆低於偵測值，且總有機碳含量也降低(11.2 ppm)。

4-8 有機組成分析-熱裂解氣相層析質譜儀

於不對稱流場場流分離下，分子量低於或相當於 10 kDa 之粒子均會被濾出分離系統外。於化學組成部分分為兩部分執行，第一部分為 EGA 分析，結果顯示質譜圖均為 m/z 44，無法得知其他化學資訊，若繼續進行熱脫附/熱裂解分析，亦無法獲得其他資訊。

本研究團隊過去曾針對腐植酸標準品進行相關研究。腐植酸(圖 41)及蛋白質(圖 42)的 EGA 質譜圖 m/z 值均為 44，而其進一步分析則需透過反應性熱裂解，將其具羧基之單體自高分子主體裂解出後，再以 TMSH (Trimethylsulfonium Hydroxide，三甲基氫氧化硫)衍生劑進行甲基化，因此可獲得腐植酸層析指紋圖譜圖。基於本項初步數據，本研究團隊決定採反應性熱裂解為第二部分分析方法，嘗試辨識有機粒子存在的可能性。

反應性熱裂解分析方法及儀器條件如下。

將含有累計 500 μL 水樣除水後殘存物之樣品添加 5 μL TMSH 放入熱裂解氣相層析質譜儀中，分析設定條件：

- 熱裂解儀：350°C，維持 5 mins
- 選擇性樣品進樣器：ON
- 熱裂解儀介面溫度：320°C

氣相層析儀

- 進樣口溫度：300°C，分流比 10：1
- 烘箱：50°C(維持 1 min) 以升溫速率 10°C/min 升溫至 320°C(維持 6 min)
- 管柱流速：固定流速 1 mL/min
- 質譜儀：掃描範圍 29 至 800 m/z
- 離子源溫度：250°C
- 四極柱溫度：150°C
- 分析管柱：UA-5，30 m x 250 μm x 0.25 μm

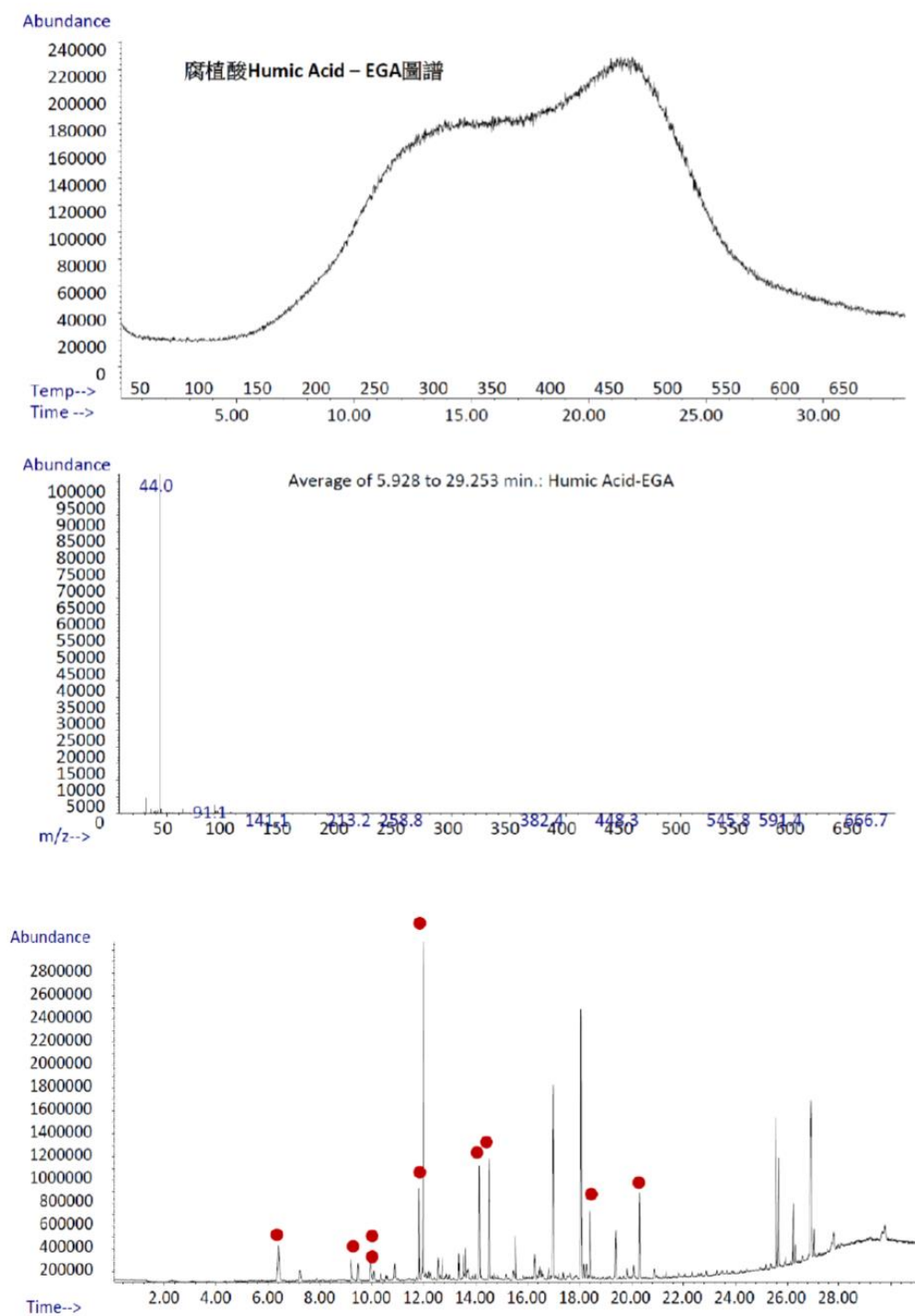


圖 41 腐植酸標準品之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

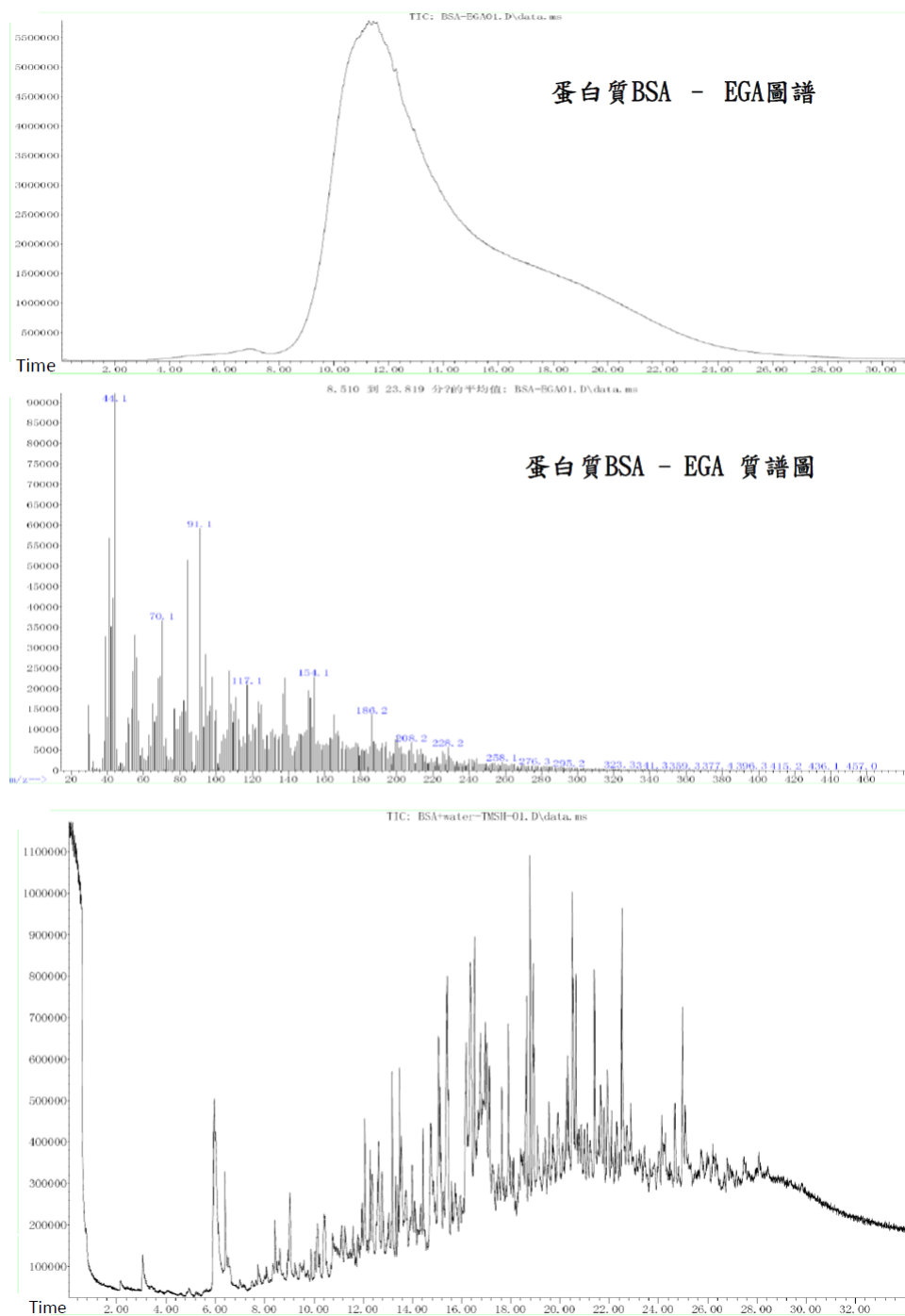


圖 42 蛋白質標準品牛血清白蛋白 BSA 之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

EGA 圖譜中，80 至 500°C 區間所產生之訊號為有機物所致，500 至 700°C 區間為無機物所致。經 0.1 μm 濾膜前處理後的水樣與經分液收集水樣相比，訊號皆為 m/z 44；內含 100 nm 以下奈米物質之分液收集水樣於反應性熱裂解中顯示，除系統背景外，無其他有機訊號，即無法辨識出任何有機性粒子存在之證據。

各水樣分析圖譜如下圖 43 至 52 所示。

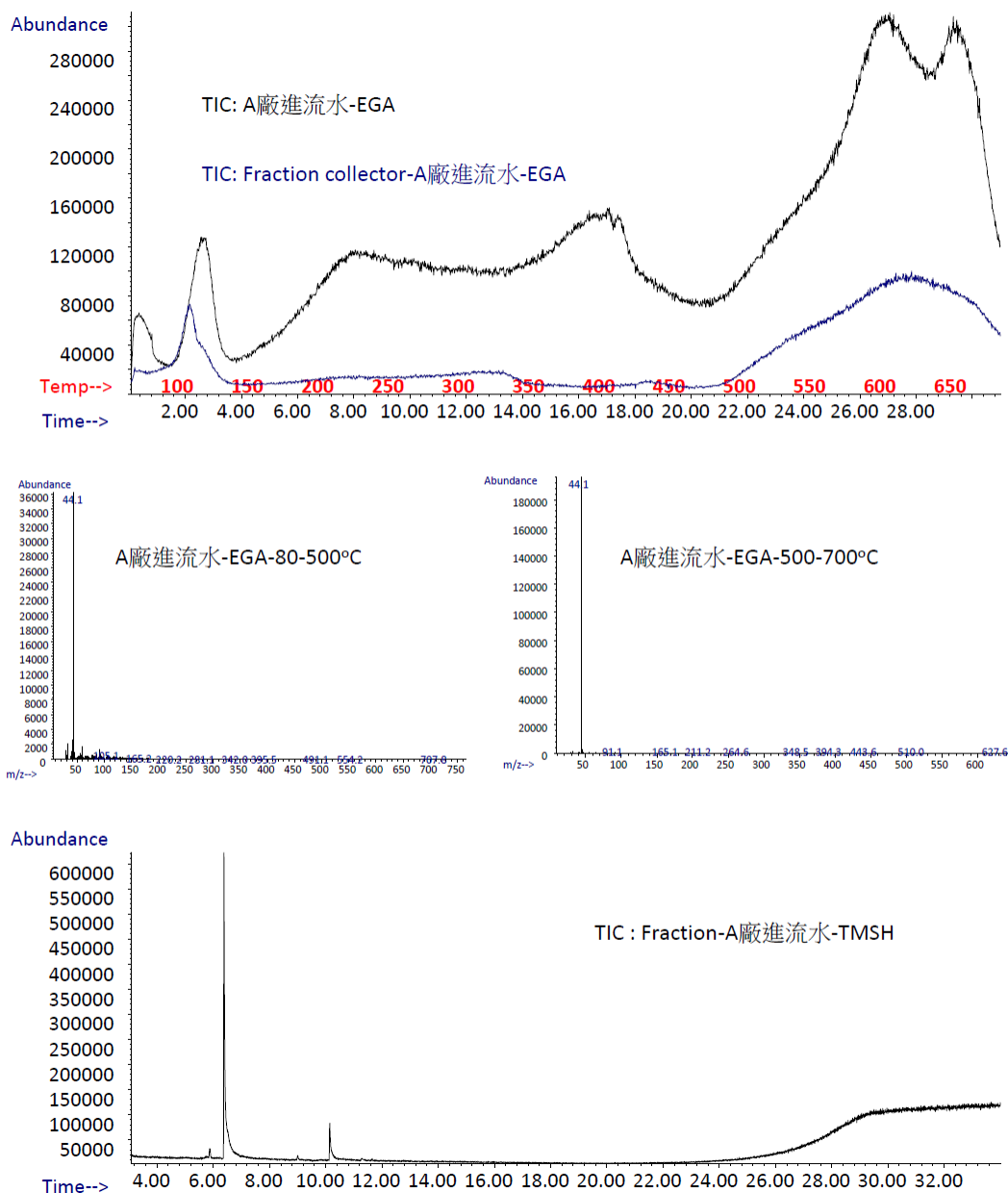


圖 43 A 廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

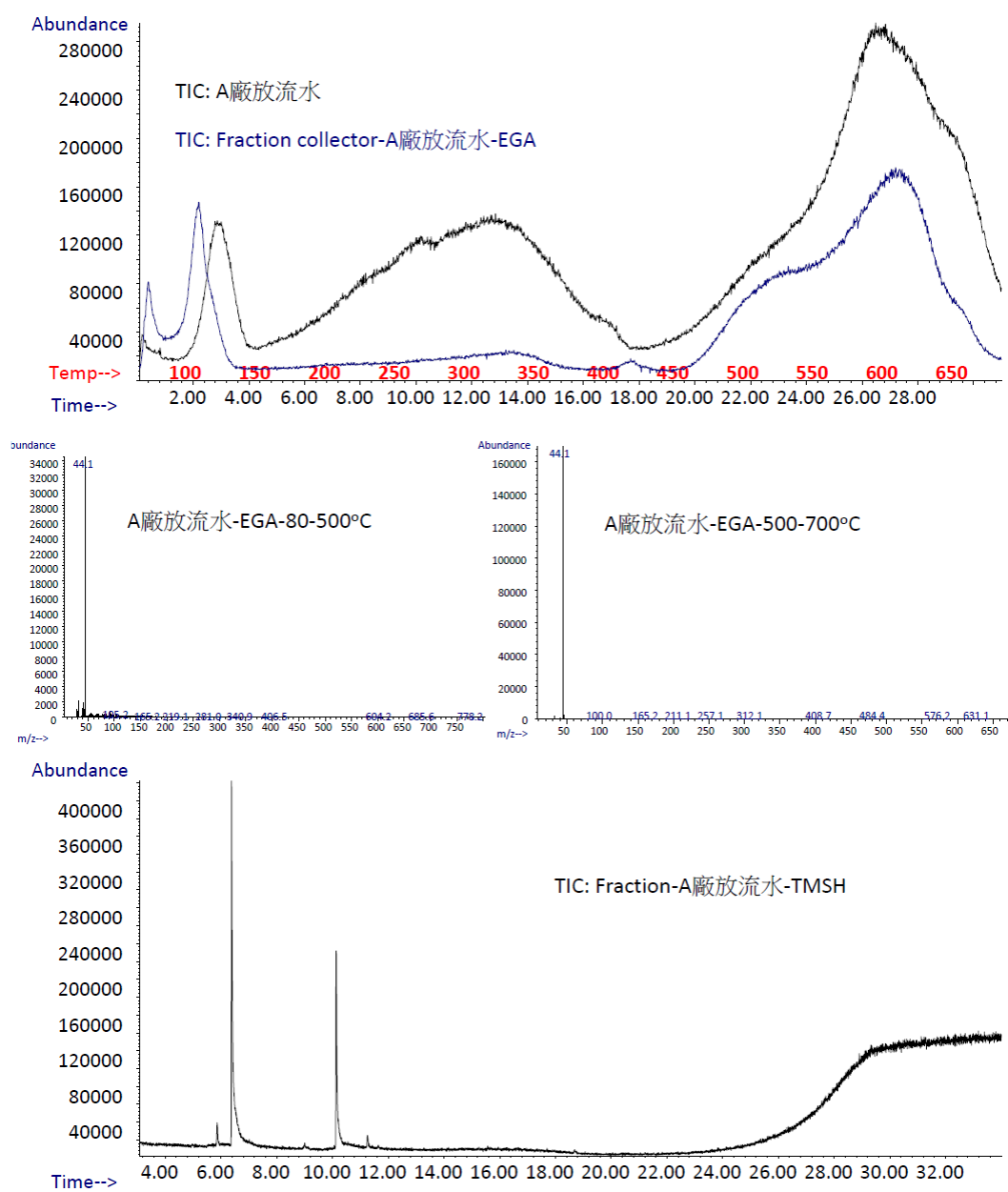


圖 44 A 廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

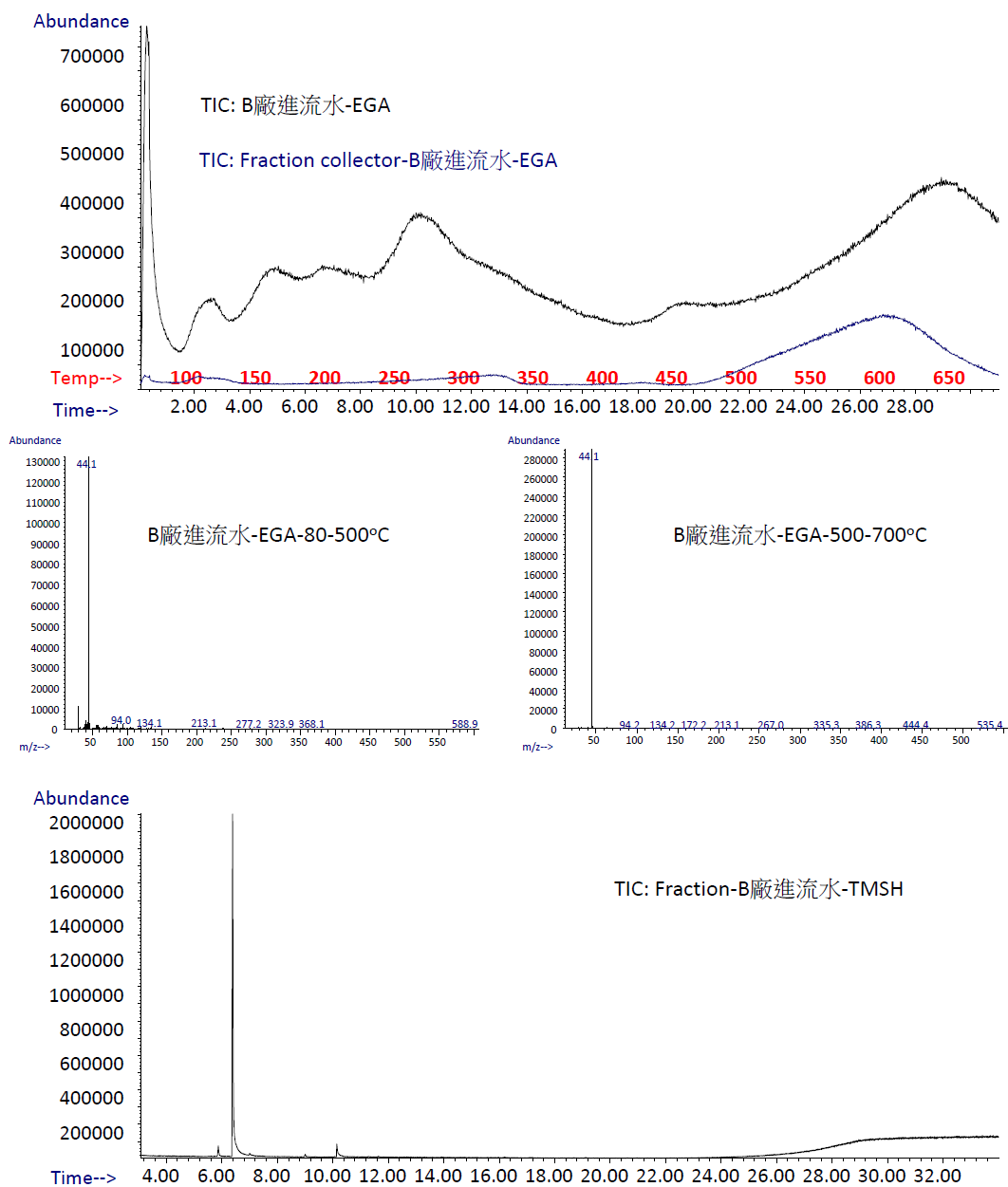


圖 45 B 廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

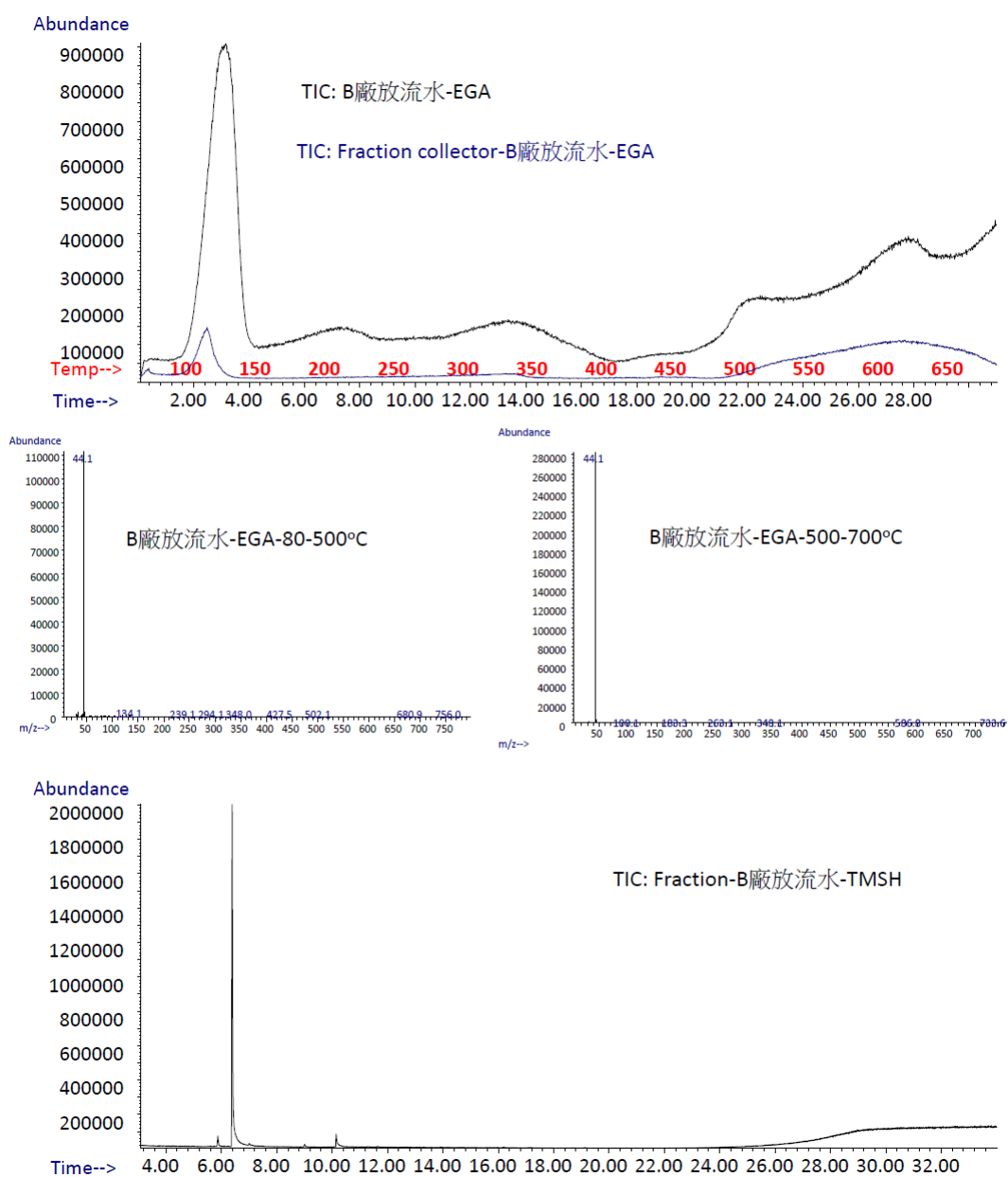


圖 46 B 廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

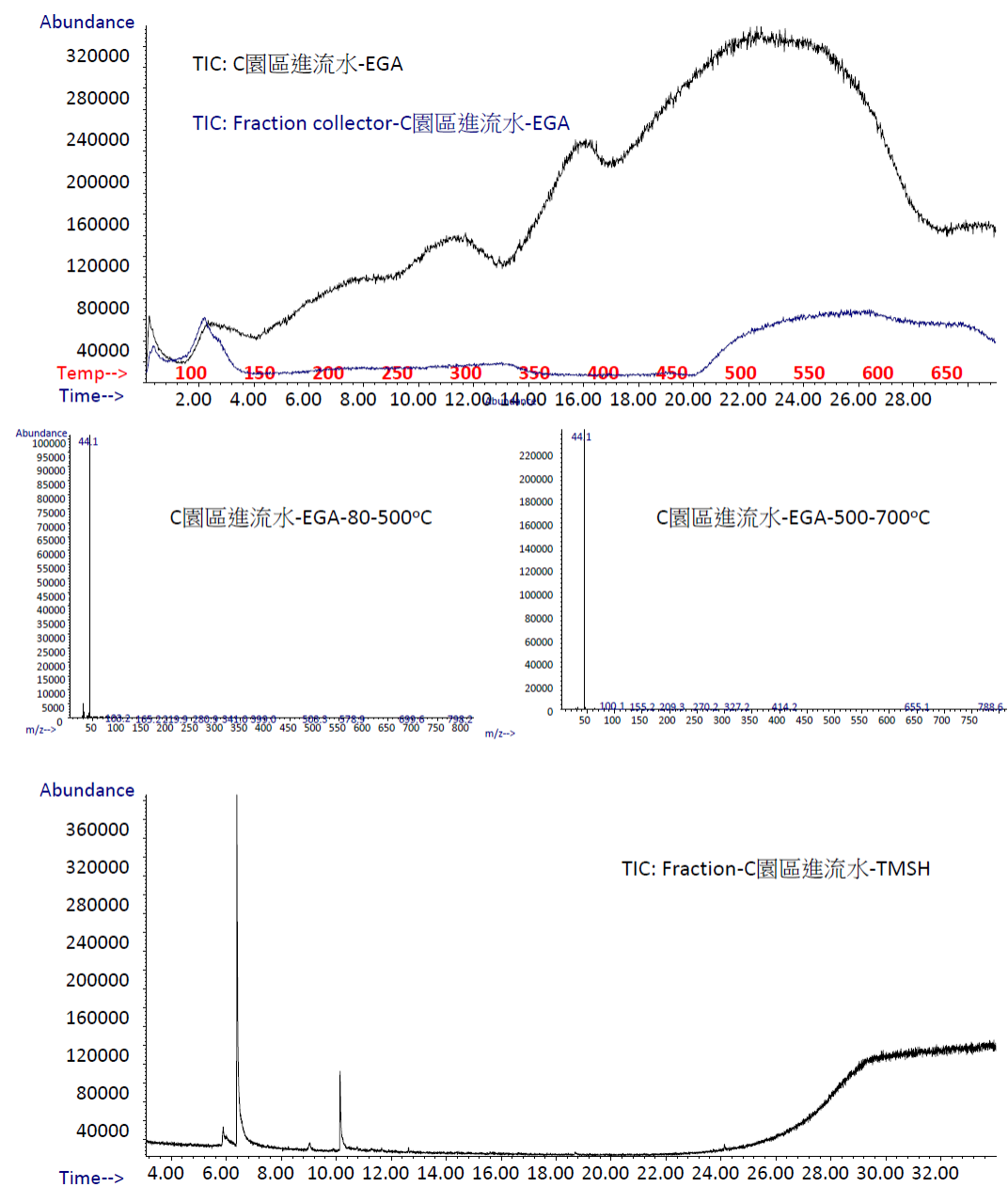


圖 47 C 園區污水處理廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

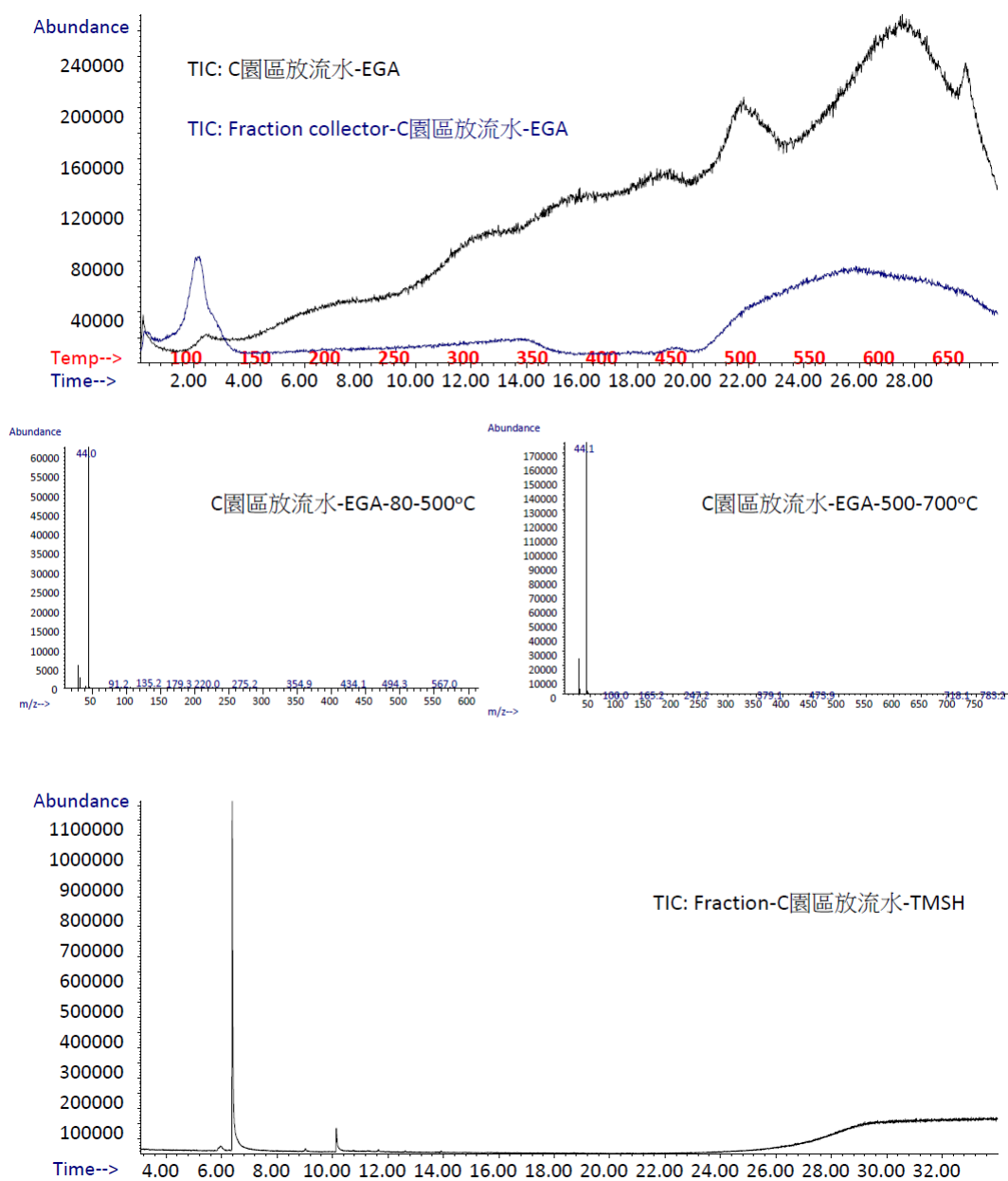


圖 48 C 園區污水處理廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

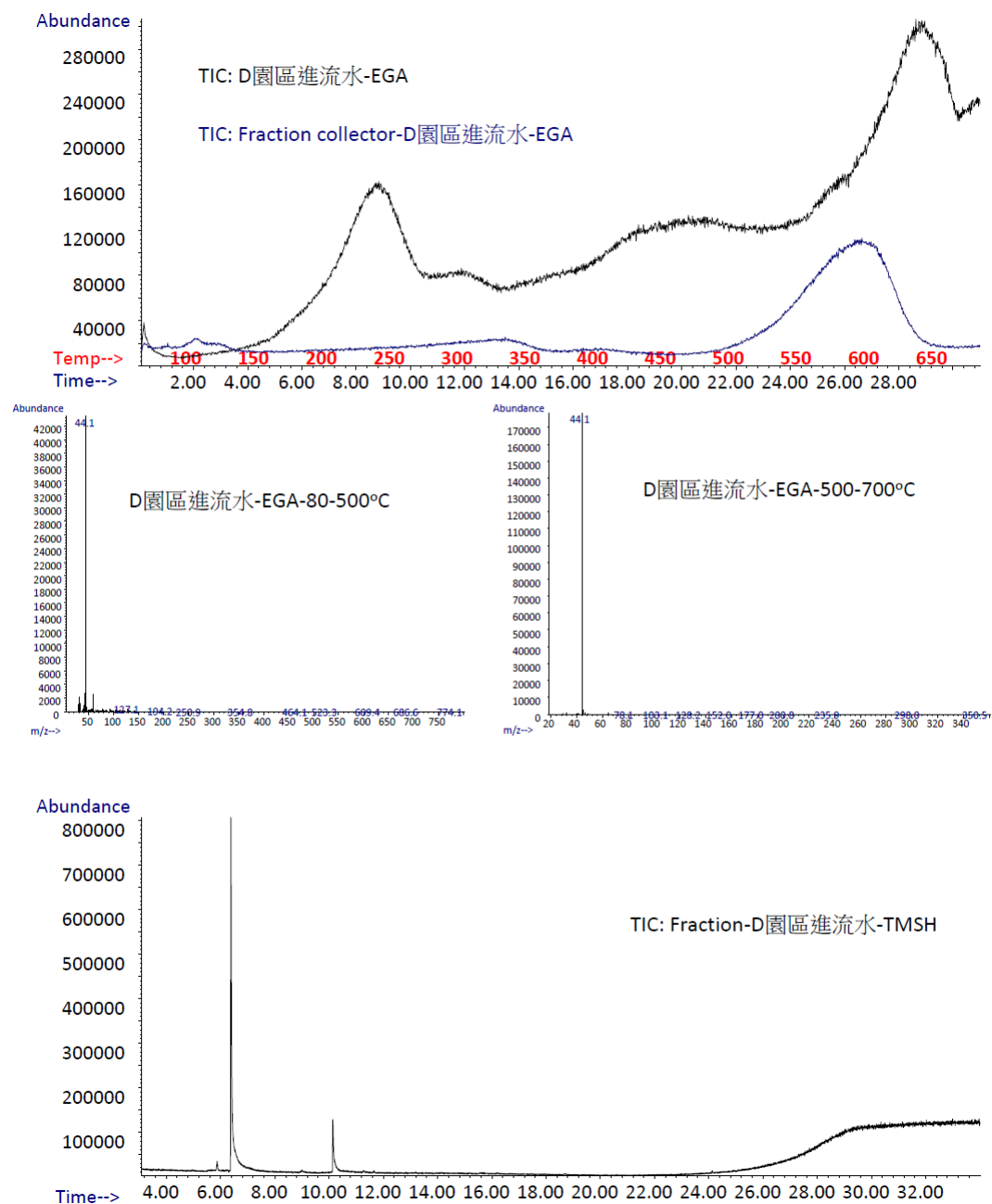


圖 49 D 園區污水處理廠進流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

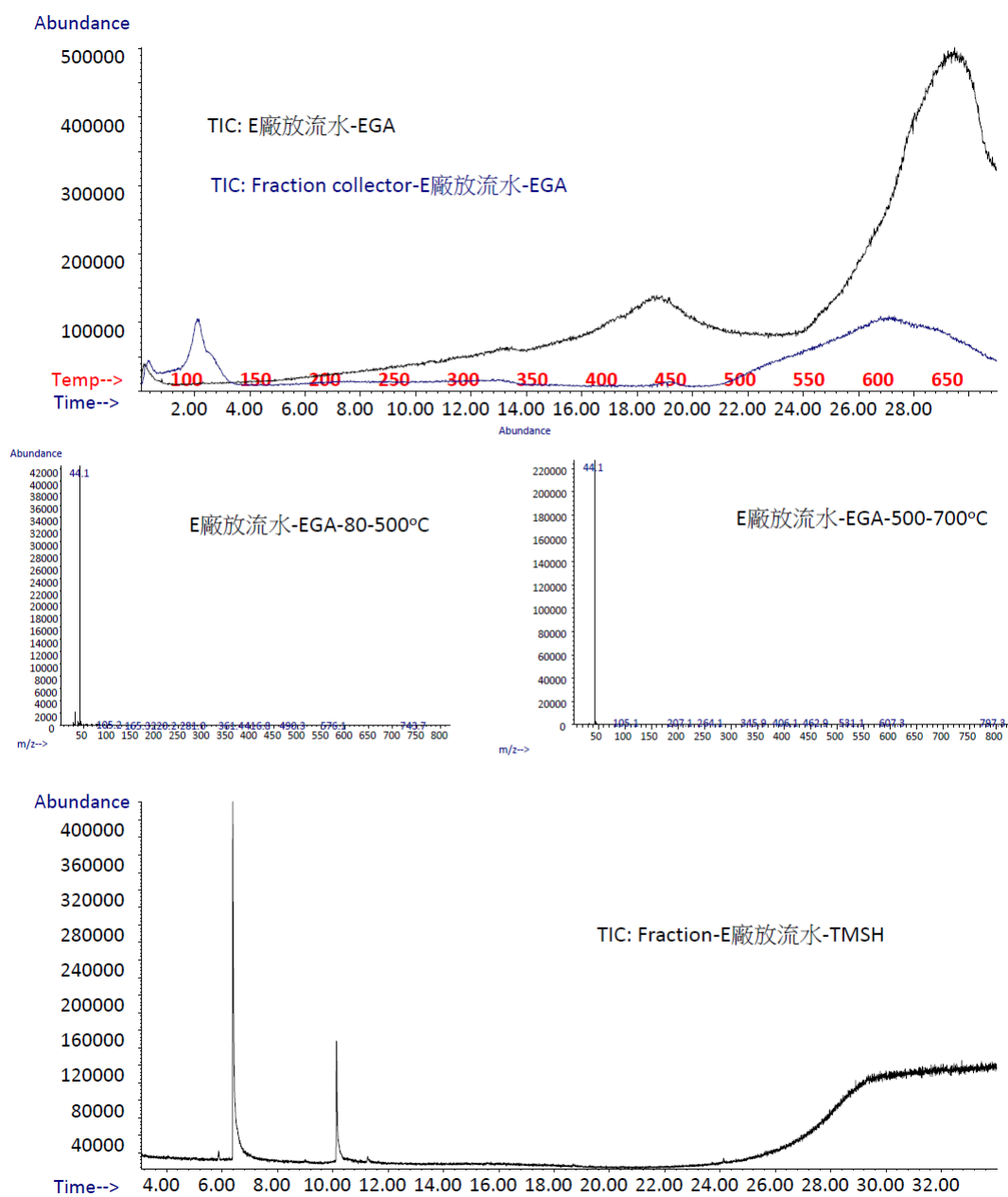


圖 50 E 廠放流水之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

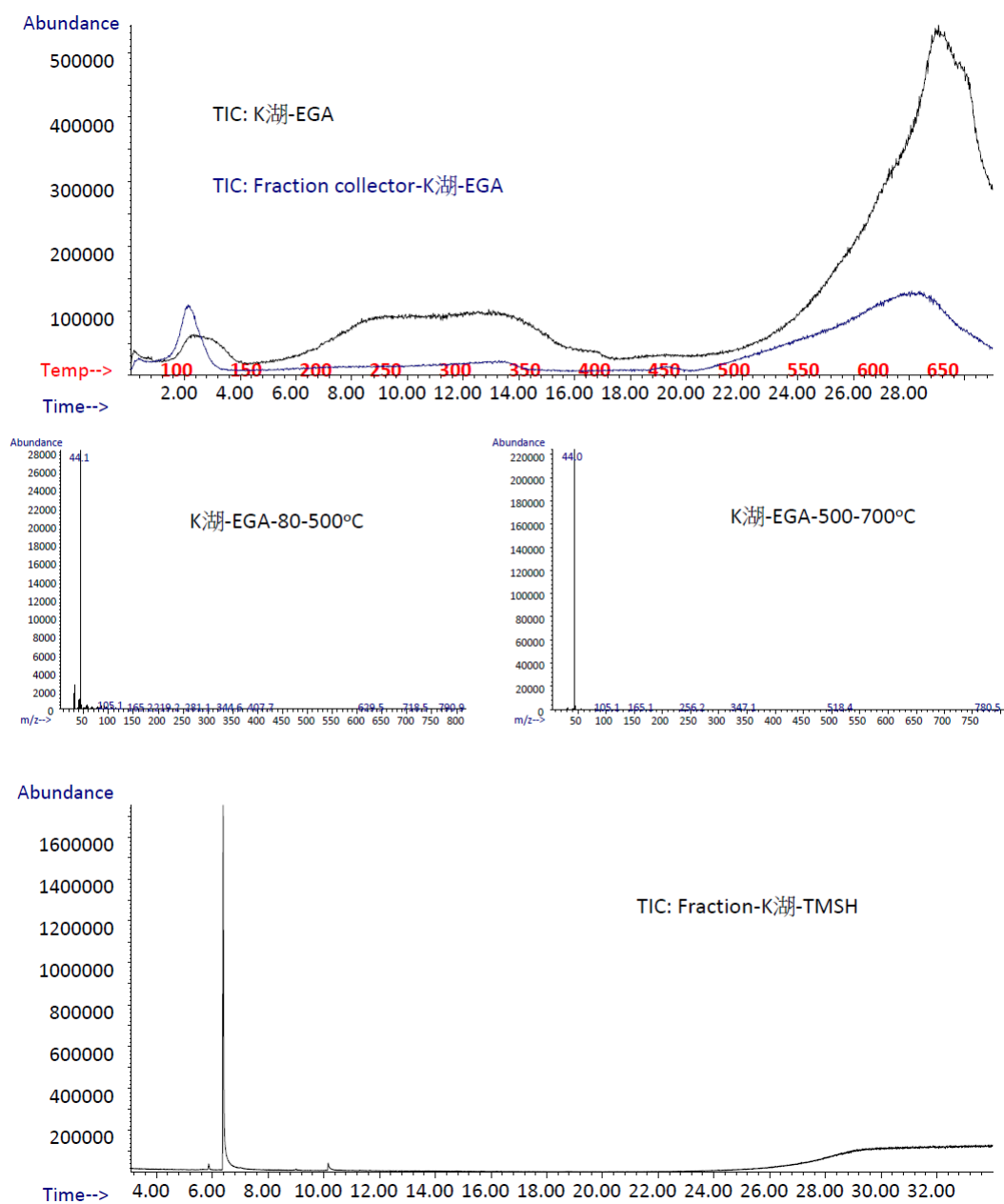


圖 51 K 湖之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

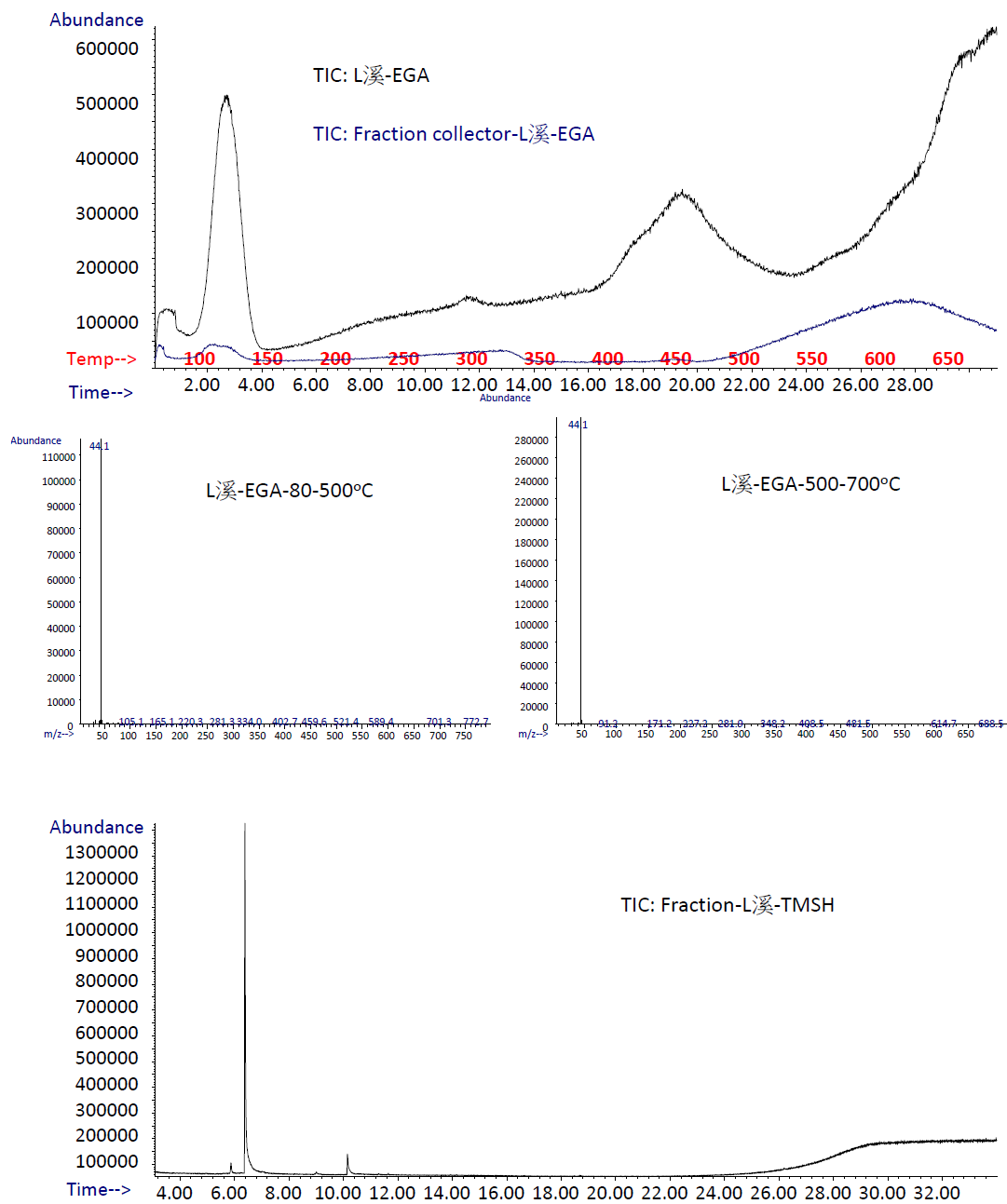


圖 52 L-溪之 EGA 圖譜、質譜圖及反應性熱裂解圖譜(由上至下)

4-9 分析數據總結與生物毒性試驗相關性初步探討

十八件水樣經 0.1 μm 濾膜前處理後，於動態光散射儀(DLS)初步篩選後，其偵測值高於 10,000 counts 之水樣則進行後續不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀系統分離分析、粒子構型探討、奈米物質包含之無機金屬含量檢測、總有機碳(TOC) / 水中揮發性有機物(VOC)分析及有機熱裂解氣相層析質譜鑑定其可能組成等工作。

十八件水樣中，D 園區放流水、F 廠進流水/放流水、G 廠放流水、H 廠放流水、I 廠放流水、J 廠放流水及 M 水庫共八件水樣之 DLS 測值未達初篩標準 10,000 counts 不予後續分析，其餘十件水樣將於以下逐一總結數據。

4-9-1 各水樣分析數據總結

4-9-1-1 A 廠進流水

- DLS 測值偏高，大於 50,000 counts (58,552 counts)
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 60 nm 至 200 nm。
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散
- 以城市廢水為主，相較於其他水樣各金屬含量分布較平均

4-9-1-2 A 廠放流水

- DLS 測值大於 10,000 counts (14,580 counts)
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 90 nm 至 200 nm。
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散
- 總有機碳(TOC)及總無機碳(TIC)皆較進流水低

4-9-1-3 B 廠進流水

- DLS 測值略高於初篩標準值，約 12,000 counts

- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 100 nm 至 200 nm。
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散
- 鈣(Ca)、鎂(Mg)來自於地下水使用；其餘金屬推測與塗料有關
- TOC 測值為 72.0 ppm 為各檢測水樣中最高值，應來自於塗料成分
- 59 項 VOC 測項中檢出 16 項，為各檢測水樣中最多
- VOC 及 TOC 測值相較於其他水樣高，需注意是否造成生物毒性影響。

4-9-1-4 B 廠放流水

- DLS 測值略高於初篩標準值，約 14,000 counts
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 90 nm 至 160 nm。
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散

4-9-1-5 C 園區進流水

- DLS 測值偏高，大於 50,000 counts (63,158 counts)
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 90 nm 至 220 nm。
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散
- 測得金屬銅(Cu)、鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈣(Ca)、鎂(Mg)及鎳(Ni)，種類較多

4-9-1-6 C 園區放流水

- DLS 測值大於 10,000 counts (21,271 counts)
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 80 nm 至 200 nm。
- 部分粒子 $\rho = R_g/R_h = 1$ ：構型為空心圓球體
- 總有機碳(TOC)及總無機碳(TIC)皆較進流水低

4-9-1-7 D 園區污水處理廠進流水

- DLS 測值略高於初篩標準值，約 12,000 counts

- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 85 nm 至 200 nm。
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散
- 高含量鈣(Ca)推估為使用碳酸鈣中和半導體製程中所需之氫氟酸(HF)

4-9-1-8 E 廠放流水

- DLS 測值大於 10,000 counts (29,554 counts)
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 90 nm 至 220 nm。
- R_g (rms)粒徑半徑大於 50 nm
- 粒子 $\rho = R_g/R_h = 0.6$ 至 0.8 ：構型為實心圓球體
- 鈣(Ca)、鎂(Mg)來自於地下水使用

4-9-1-9 K 湖

- DLS 測值最高，大於 50,000 counts (73,422 counts)。前一年度金門太湖也為同期水樣 DLS 測值最高，兩者皆為封閉水體，推估因封閉水體流動性較低，易於奈米物質生成積累。
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統分離奈米粒子效果仍需改善
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散
- 鈣(Ca)、鎂(Mg)來自於地下水補充封閉人工湖的水體蒸散

4-9-1-10 L 溪

- DLS 測值大於 10,000 counts (26,658 counts)
- 不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀分離分析系統可成功由小至大分離奈米粒子。主要奈米粒子粒徑範圍約為 100 nm 至 180 nm。
- $\rho = R_g/R_h > 1$ ：粒子構型較鬆散
- 鈣(Ca)、鎂(Mg)來自於 L 溪流域沿岸石灰性地質
- TIC 測值為 100 ppm 為各檢測水樣中最高值，應來自於沿岸石灰性地質

4-9-2 生物毒性試驗數據

A 廠進流水/放流水、B 廠進流水/放流水及 C 園區進流水/放流水共六件水樣提供細胞實驗室進行生物毒性試驗，實驗方法及初步結果如下：

- **方法：**利用「全時細胞培養即時分析系統」進行細胞存活率測定
使用人類肝癌細胞 hepG2 及人類皮膚角質細胞 HaCaT，以 25%及 50%環境水樣進行細胞毒性測試，並以 ddH₂O 去離子水作為陰性對照組，以確認水樣對細胞本身效應。
hepG2 及 HaCaT 分別接種於「全時細胞培養即時分析系統」(xCELLigence RTCA DP System™, ACEA Biosciences, USA) 專用之培養盤內，培養盤為 2*8 個 well，每個 well 接種 2×10^4 個細胞，將本儀器置於 CO₂ 細胞培養箱內之分析儀進行細胞連續監測。細胞貼附並生長穩定後（約 18 至 24 小時），除未處理之細胞組外，另包括去離子水、及水樣各 2 重覆細胞進行比對觀察，紀錄時間為 24 小時。實驗濃度分別為 25%（50 μ L+150 μ L）及 50%（100 μ L+100 μ L）等 2 組。以細胞電阻偵測儀分析細胞貼附在培養盤所產生的微量電阻，與電腦連線的分析儀可連續性並長時間的即時觀察，每 15 分鐘細胞電阻值將可被記錄下來，細胞電阻值變化可反應細胞數目變化。
- **初步結果**
細胞存活率的變化，在二種細胞都得到相似結果，全部 6 種樣品在 25%都與去離子水的生長曲線相似，無明顯變化(圖 53 及圖 54)。2 種細胞在曝露於 B 廠進流水在 50%的濃度下，皆有明顯的細胞存活率減少，其中皮膚角質細胞，B 廠進流水細胞相對於去離子水組，細胞減少為 49.1%；肝癌細胞組之細胞減少為 52.89 % (圖 55)。

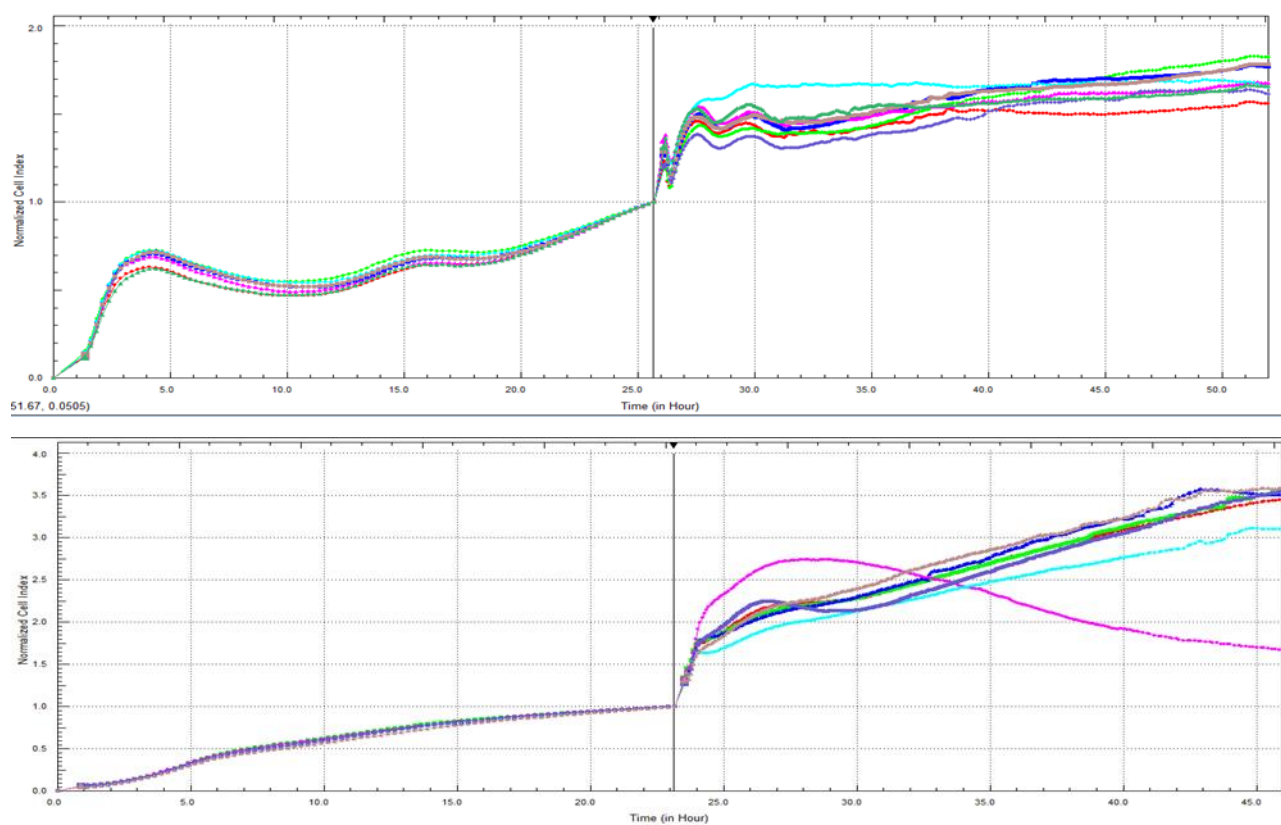


圖 53 人類皮膚角質細胞（上）25%水樣曝露 24 小時結果；（下）50%水樣曝露 24 小時結果。粉紫色下降曲線為 B 廠進流水之細胞生長曲線

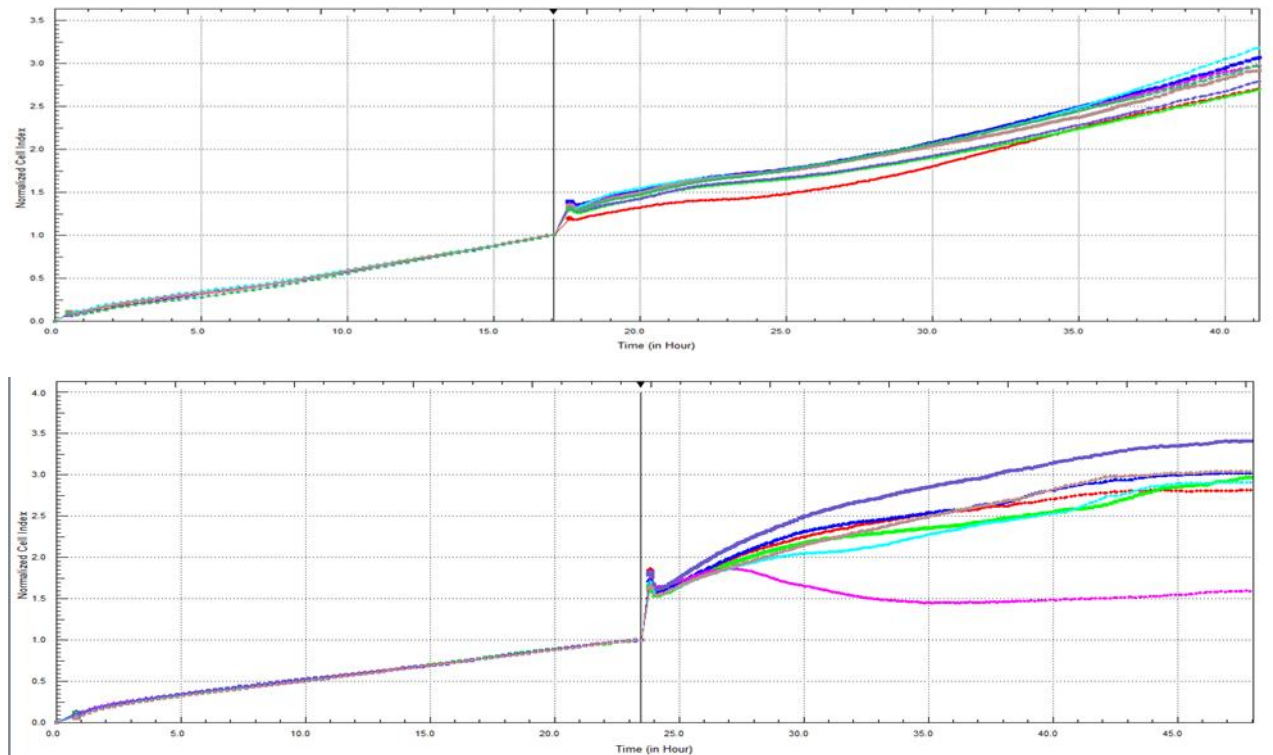


圖 54 人類肝癌細胞（上）25%水樣曝露 24 小時結果；（下）50%水樣曝露 24 小時結果。粉紫色線下降曲線為 B 廠進流水之細胞生長曲線

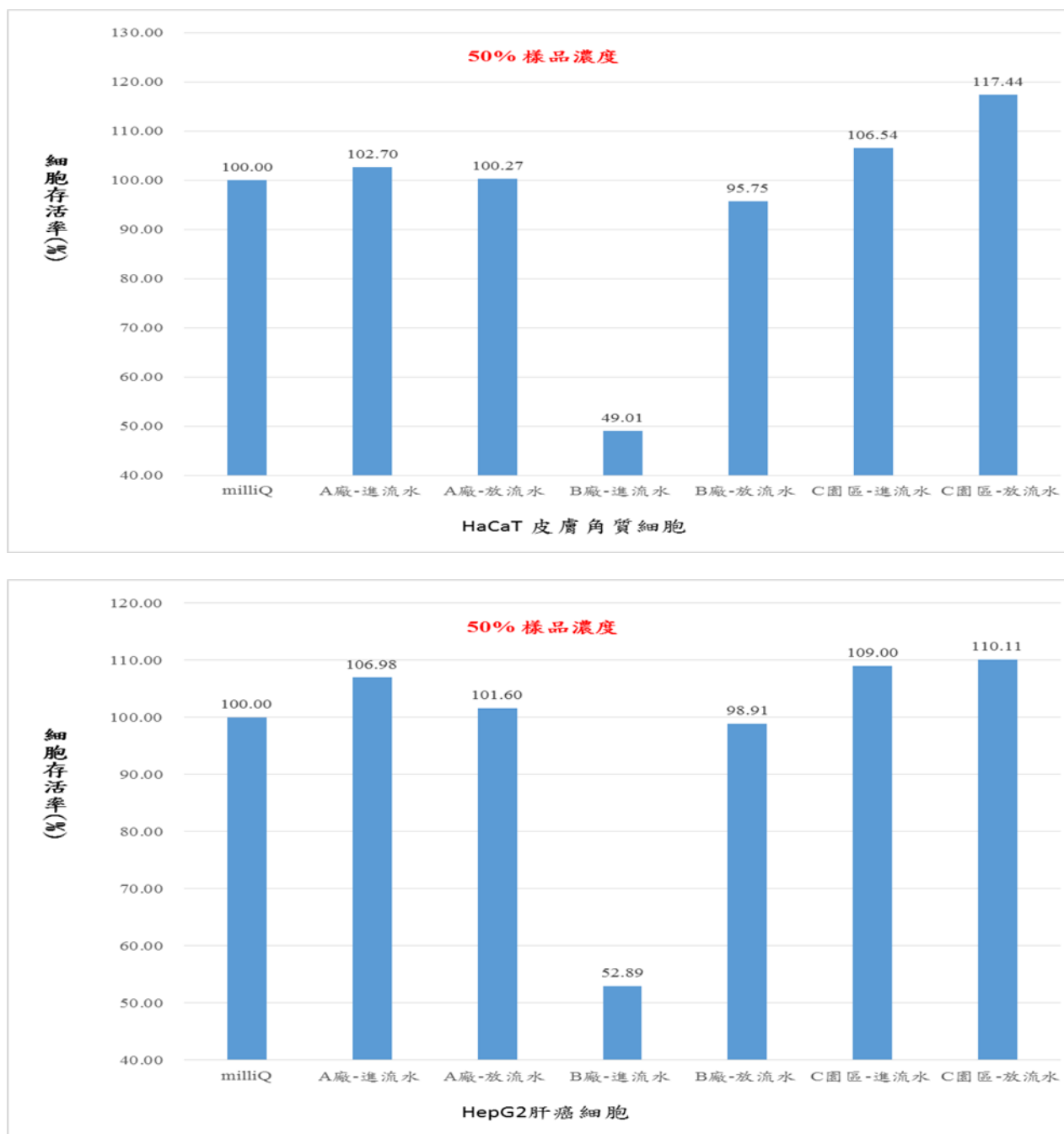


圖 55(上)人類皮膚角質細胞在 50%的 B 廠進流水下細胞存活率為 49.01%;(下)人類肝癌細胞 B 廠進流水下則為 52.89%

由以上初步的生物毒性試驗結果顯示，水樣影響細胞存活率的現象具有 Dosage dependent effect，6 種樣品在 25%水樣條件下都與去離子水的生長曲線相似，無明顯變化(圖 53 及圖 54)；而 2 種細胞在曝露於 B 廠進流水 50%的濃度下，皆有明顯的細胞存活率減少。

考慮各水樣間之奈米物質含量、有機及無機成分組成。A 廠進流水與 C 園區進流水皆有相對較高之動態光散射儀 DLS 偵測值，意味著奈米物質含量較多，但就目前生物毒性試驗數據並無明顯影響細胞存活率的現象；B 廠進流水雖然 DLS 偵測值低，但於 50%水樣條件下明顯降低兩種測試細胞之存活率，考慮 B 廠進流水之有機/無機分析數據，發現其 TOC 測值較高且於 VOC 分析中也檢測出 16 項有機分子的存在；但於 B 廠放流水部分，分析水樣已經過污水廠處理後，細胞存活率大幅提升，接近對照組及 A 廠、C 園區之水樣，以無明顯影響細胞存活率。因此於考慮奈米物質對生物毒性的影響，除了解奈米粒子的數量及分布外，其有機/無機成分組成也為關鍵因素之一。

第五章

第五章 結論及建議事項

本計畫使用不對稱流場場流分離法已成功建立分析方法且進行實際水樣檢驗。為發展適用於生物毒性檢驗之環境水體奈米物質的分離技術，於進行更深入的不對稱流場場流分離鑑定前，需先利用動態光散射儀初步篩選內含一定數量奈米物質之水樣；再利用場流分離技術確認奈米物質的尺寸分布，進行有機/無機成分組成，配合生物毒性試驗，探討真實水樣中的奈米物質對於生物體的影響。本期計畫欲延伸檢測水樣種類，將針對工廠製程廢水或放流水等與人口活動或特殊產業相關之水體進行奈米物質尺寸分布及化性研究。

目前參照國外公布資訊，尚未有關於環境水體中奈米粒子分離及分析之公告標準方法，在此提供方法草案以供參考。

本計畫採取十五件工廠製程廢水/放流水及補充三件自然環境水體，共十八件水樣，經前處理 0.1 μm / 0.22 μm 濾膜後，進行奈米粒子初篩，選取較具代表性之奈米物質水體。通過初篩後進行不對稱流場場流分離及後續有機/無機分析，採樣點如下：

- 都市廢水：A 污水處理廠進流水/放流水
- 板金噴漆加工業：B 廠進流水/放流水
- 機械加工區：C 園區污水處理廠進流水/放流水
- 半導體科學園區：D 園區污水處理廠進流水/放流水
- 造紙業：E 廠放流水
- 陶瓷業：F 廠進流水/放流水
- 化妝品原料製造業：G 廠放流水
- 電子廠：H 廠放流水
- 皮革廠：I 廠放流水
- 光電廠：J 廠放流水
- 自然水體：K 湖/ L 溪/ M 水庫

(一) 動態光散射儀(Dynamic Light Scattering, DLS)初篩標準建立及檢測分析

利用前兩年度共十一件自然水體水樣為測試，經前處理 0.1 μm / 0.22 μm 濾膜後，建立動態光散射初篩值為 10,000 counts；同時於此十一件水樣中，觀察到自來水及水庫水樣之測值皆與空白試樣去離子水之測值相近；而封閉水體如金門太湖及環檢所蓄水池之水樣則含有較多奈米物質，其動態光散射偵測值也偏高。

前處理 0.1 μm 濾膜條件下，共十八件水樣有十件水樣之偵測值高於初篩標準，將繼續進行後續不對稱流場場流分離及後續有機/無機分析。其中以 A 廠進流水、C 園區進流水及 K 湖之測值較高，大於 50,000 counts。

而於前處理 0.22 μm 濾膜條件下，共十八件水樣有十二件水樣之偵測值高於初篩標準。同樣也以 A 廠進流水、C 園區進流水及 K 湖此三點之測值較高，其中以 K 湖為最高值 520,520 counts。

(二) 於不對稱流場場流系統下之分析數據，前處理 0.1 μm 濾膜條件

多數水樣(七件)於水移動相條件下，不對稱流場場流系統皆可成功由小至大分離水樣中之粒子；而再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，部分樣品因不同樣品瓶而有些許訊號強度的差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

十件水樣中，B 廠進流水/放流水因整體奈米物質含量較少(DLS 約 12,000 至 14,000 counts，略高於初篩標準值 10,000 counts)，故粒徑分布稍不穩定；而 K 湖水樣則再現性佳，但整體粒徑分離效果仍需改善。

(三) 於不對稱流場場流系統下之分析數據，前處理 0.22 μm 濾膜條件

多數水樣(九件)於水移動相條件下，不對稱流場場流系統可成功由小至大分離水樣中之粒子；而再現性部分，同一樣品瓶再現性佳，部分樣品於不同樣品瓶中仍有些許差異，但不影響粒徑分離分布趨勢。

十二件水樣中，B 廠進流水因整體奈米物質含量較少(DLS 約 13,000 counts，略高於初篩標準值 10,000 counts)，故粒徑分布稍不穩定；K 湖水樣如同前處理 0.1 μm 濾膜條件，再現性佳，但整體粒徑分離效果仍需改善；而 M 水庫水樣於不同樣品瓶中，於分離後段訊號強度不等，但不影響整體分離效果。

(四) 動態光散射儀(DLS)與不對稱流場場流-多角度靜態光散射儀(AF4-MALS)兩系

統分析之奈米物質粒徑尺寸

K 湖之均方根半徑 R_g 與水合半徑 R_h 值皆明顯偏大；動態光散射(DLS)之 R_h 值，除 E 廠放流水及 K 湖水樣外，水合半徑 R_h 值皆小於 50 nm。

而十件水樣中除 E 廠放流水外， ρ 值(R_g/R_h)皆大於 1，可見目前測試水樣中之奈米粒子多數為結構較鬆散的型態；而 E 廠放流水 ρ 值為 0.6 至 0.8，構型接近實心之圓球體。

(五) 無機組成分析-重金屬含量

經動態光散射儀(DLS)初篩，不對稱流場場流分離系統-多角度靜態光散射儀分析後之十件水樣，依據各水樣所得之光散射圖譜及粒徑分布趨勢，決定各件水樣分液收集之區段。本期計畫著重於 100 nm 以下之奈米粒子，故主要收集粒徑尺寸 100 nm 以下之區間。

利用感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)，委託檢驗單位進行分析，依據 NIEA W313.52B 方法針對砷(As)、鎘(Cd)、鉻(Cr)、銅(Cu)、鉛(Pb)、銀(Ag)、鋅(Zn)、鐵(Fe)八個重金屬；另額外分析錳(Mn) / 鎳(Ni) / 硒(Se) / 鈣(Ca) / 鎂(Mg)，共十三種金屬/元素成分。

- 銅(Cu)：C 園區進流水、K 湖
- 鋅(Zn)含量較高者：B 廠進流水/放流水、C 園區進流水、D 園區污水處理廠進流水
- 鐵(Fe)含量較高者：A 廠進流水/放流水、C 園區進流水及 E 廠放流水
- 砷(As)：A 廠放流水、B 廠進流水/放流水、C 園區放流水及 D 園區污水處理廠進流水

(六) 總有機碳 Total Organic Carbon (TOC)分析 (自行補充測試)

- 除 B 廠進流水外，總無機碳之濃度皆高於總有機碳
- A 廠及 C 園區之進流水與放流水，放流水之總有機碳與總無機碳濃度皆降低
- B 廠放流水之總無機碳較進流水高，考慮其廢水處理流程的最後一步為活性碳吸附(廢活性碳 0.5 噸/月)，可能因部分活性碳粒子釋出於放流水中，導致其總無機碳檢測值較進流水樣高
- B 廠進流水含有最高總有機碳(TOC)濃度 72.0 ppm，考慮其因鈹金塗裝使用各

式水性塗料、有色油性塗料及有色膠漿塗料等，造成進流水中含有較高含量之總有機碳

- L 溪水樣中含有最高總無機碳(TIC)濃度 100.0 ppm，考慮其石灰性土質及 ICP-MS 數據呈現高鈣鎂金屬含量，推估其無機碳來源應為碳酸鈣及碳酸鎂成分

(七) 水中揮發性有機(Volatile Organic Compound, VOC)化合物檢測 (自行補充測試)

B 廠進流水檢測出數種揮發性有機物，59 個檢測項目中測得 16 樣。如前述提及，B 廠主要業務包含鍍金塗裝，過程中使用水性塗料、有色油性塗料及有色膠漿塗料等；資料顯示，一般油漆中 VOC 含量約為每公升 30 至 70 克，而廠商於生產過程中此三類塗料每個月使用量約 130 噸，故進流水中可檢測到部分揮發性有機物，且於總有機碳(TOC)分析中，B 廠進流水測值也為十件水樣中最高(72.0 ppm)；由於 B 廠進流水之 VOC 與 TOC 測值較其他水樣高，也於生物毒性試驗中觀察到的確影響細胞存活率，可知除了奈米粒子的含量及粒徑分布外，其成分組成也為造成生物毒性的因素之一。

而進流水經過廠商之廢水處理廠後，放流水中 59 項揮發性有機物分析皆低於偵測值，且總有機碳含量也降低(11.2 ppm)；也無明顯影響細胞存活率的現象。

(八) 有機組成分析-利用熱裂解氣相層析質譜儀

分液收集所得之各水樣，先經 EGA 分析後，質譜圖皆為 m/z 44，無法確認其有機組成；而後再利用衍生化試劑進行反應性熱裂解，顯示除系統背景外，大多無顯著訊號，即無法辨識出有機性奈米物質存在之證據。

(九) 與生物毒性試驗相關性初步探討

由初步的生物毒性試驗結果顯示，水樣影響細胞存活率的現象具有 Dosage dependent effect，於 25%水樣條件下都與去離子水的生長曲線相似，無明顯變化；而兩種細胞在曝露於 B 廠進流水 50%的濃度下，皆有明顯的細胞存活率減少。

A 廠進流水與 C 園區進流水皆有相對較高之動態光散射儀 DLS 偵測值，意味著奈米物質含量較多，但就目前生物毒性試驗數據並無明顯影響細胞存活率的現象；B 廠進流水雖然 DLS 偵測值低，但於 50%水樣條件下明顯降低兩種測試細胞之存活率，考慮 B 廠進流水之有機/無機分析數據，發現其 TOC 測值較高且於

VOC 分析中也檢測出 16 項有機分子的存在。因此於考慮奈米物質對生物毒性的影響，除了解奈米粒子的數量及分布外，其有機/無機成分組成也為關鍵因素之一。

(十) 建議事項

針對發展適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術於本計畫中已得到初步輪廓；委託單位未來若能更進一步持續與生物毒性試驗協同研究，以奈米物質粒徑大小/有機無機成分組成之物理性與化學性因素完整探討與毒性間之相關性，相信能更清楚奈米物質於生物體之作用。

現階段利用動態光散射儀 DLS 進行樣品初步篩選，以確認水樣中的確含有足量奈米物質，目前 DLS 為執行單位提供，未來若欲加速水樣中奈米物質的檢測分析，委託單位可考慮購置動態光散射儀，縮短分析時間，以達快速初篩的目的。

目前針對奈米物質之粒徑尺寸/分布及有機/無機成分組成分析著重於定性方面；定量部分現階段系統中僅有 UV 偵測器，僅可偵測具 UV 吸收的物質，未來若欲了解奈米物質之數量資訊，可考慮折射率 RI 偵測器，增添樣品含量分析範疇。

第六章

第六章 水中奈米粒子分離技術方法草案

一、方法概要

欲分析水樣經適當前處理後；先利用動態光散射儀初步篩選水樣中之奈米粒子；再利用不對稱流場場流系統及多角度靜態光散射儀分離及偵測樣品水體中之奈米粒子尺寸。

二、適用範圍

本方法適用於粒徑 10 nm 以上，可均勻懸浮於液相基質中之環境水體奈米粒子分離及檢測。

三、干擾

- (一) 玻璃器皿所含之雜質，應經適當之清洗，避免污染並干擾分析結果。
- (二) 試劑及溶劑之純度請使用分析等級。
- (三) 當低濃度樣品緊接在高濃度樣品之後分析時，可能會有殘留污染的現象發生，因此在高濃度樣品分析完成後，必須分析溶劑空白樣品以確保沒有污染問題。
- (四) 水體採樣後，應盡快利用動態光散射儀進行粒徑初步篩選，以降低懸浮奈米微粒產生聚集或沉降的干擾。

四、儀器與設備

(一) 動態光散射儀(Dynamic Light Scattering, DLS)

樣品槽：1 公分 x 1 公分之石英或拋棄式樣品槽

樣品槽最小進樣量：石英(1.25 μ L)、拋棄式(4 μ L)樣品槽

波長：658 nm

粒徑偵測範圍：0.2 至 2500 nm

(二) 不對稱流場場流系統 Asymmetric Flow Field-Flow-Fractionation (AF4) System

粒徑分離範圍：1 至 1000 nm

分離匣道有效長度：Long channel，246 mm

分離匣道耐壓：30 bar

隔片(Spacer)厚度：350 μm

匣道濾膜：10 kDa cut off 再生纖維膜 Regenerated Cellulose (RC) membrane

(三) 多角度靜態光散射儀(Multi-Angle static Light Scattering, MALS)

波長：658 nm

粒徑偵測範圍：10 至 1000 nm

(四) 高效能液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

泵系統：單一泵等位沖提 (Isocratic elution) 即可

樣品進樣管：體積 900 至 1000 μL

偵測器:紫外光 UV 偵測器，選用 254 nm 波長

五、試劑

(一) 試劑水：以不含待測物之二次水配置，其電阻應大於 18.2 $\text{M}\Omega$

(二) 疊氮化鈉(NaN_3 , Sodium azide, $\geq 99\%$) ACS 試藥級

(三) 過濾孔徑為 100 nm 之針筒式過濾器 (Syringe filters)

六、採樣與保存

(一) 參照「事業放流水採樣方法」(NIEA-W109.51B)，以附有長柄之採樣容器或圓筒等伸縮式採樣器或相當功能之採水設備進行採樣，以適當容量之塑膠瓶或玻璃瓶收集水樣，瓶身應以標籤紀錄，紀錄採樣時之採樣點座標、樣品編號、日期及時間、樣品種類及數量、分析項目、採樣方式、採樣器材、樣品容器、保存方式、採樣人員及現場執行檢測項目之檢測結果等資訊。

(二) 水樣採集後至分析保存期間內，可能因聚集而改變奈米粒子之粒徑尺寸及分布。若條件許可，經前處理後之水樣應於採樣後 24 小時內開始分析，且採樣後即將水樣存放於 4 $^{\circ}\text{C}$ 暗處，最晚應於採樣後 48 小時內進行分析。

(三) 依據後續是否進行生物相關試驗，決定是否添加疊氮化鈉於採樣水體中。若後續需進行生物試驗則不可添加疊氮化鈉保存劑；若試樣無須經

生物試驗且疊氮化鈉成分不影響分析鑑定時，則可添加 200 ppm 的疊氮化鈉於採樣水體中，以利試樣保存。

七、測量方法

(一) 動態光散射儀(DLS)樣品製備與量測過程

- (1) 水體採樣後，可使用孔徑 100 nm 之針筒式過濾器進行前處理過濾，或依照其需求選用適當之前處理方式。
- (2) 避免各樣品間可能相互污染，動態光散射儀 DLS 採用拋棄式樣品槽，使用前需先利用已過濾之二次水潤洗三次。
- (3) 將試樣載入樣品槽
 - (a) 將至少 4 μ L 的試樣載入拋棄式樣品槽內，載入試樣的過程中，避免產生氣泡於樣品槽中，影響雷射光束行經路徑造成數據偏差。
 - (b) 載入試樣時，注意不要接觸到樣品槽觀測視窗，並於需要時以拭鏡紙擦拭樣品槽外部。
 - (c) 蓋上防塵蓋於樣品槽上，避免灰塵污染或試樣蒸發。
 - (d) 將樣品槽置入儀器前，再次確認樣品槽內無產生氣泡；樣品槽光學視窗區域無沾染灰塵或指紋。再將樣品槽以正確方向置於儀器中。
- (4) 樣品槽置入儀器後，待數分鐘至樣品槽內外溫度平衡，誤差值應為 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 。
- (5) 每個試樣收集 5 組獨立測量，以確認數據再現性。每組獨立測量內含 10 筆數據，每筆數據收集時間依試樣特性調整，收集時間可為 1 至 3600 秒。

(二) 不對稱流場流分離及多角度靜態光散射儀量測過程

(1) 多角度靜態光散射儀校正

- (a) 串接上粒徑篩析管柱(Size Exclusion Column, SEC)，調流程速為 0.5 mL/min。
- (b) 背景值穩定後進樣牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA) 2 mg/mL，100 μ L 進行分析校正。
- (c) 依序於軟體中進行 Alignment、Band Broadening 及 Normalization，以

確認各偵測訊號分析波形一致。

(d) 經校正後即可卸除管柱，準備安裝不對稱流場場流分離匣道。

(2) 選用及安裝分離匣道

(a) 分離匣道：Long channel

隔片(Spacer)厚度：350 μm

匣道濾膜：10 kDa 再生纖維膜 Regenerated Cellulose (RC) membrane

(b) 分離匣道與零件皆以二次水潤洗後乾燥；將匣道濾膜潤濕後置於下匣道 Frit 上，濾膜亮面朝上。

(c) 依序蓋上隔片(Spacer)及上匣道。

(d) 旋緊螺絲時請注意扭力使用及順序。第一輪先以 5Nm 扭力扳手交叉對稱旋上中間四個螺絲，再旋外圈四個螺絲；第二輪改以 7Nm 扭力扳手，也是先交叉對稱旋上中間四個螺絲，再旋上外圈四個螺絲。

(3) 分離匣道濾膜測試

(a) 安裝上分離匣道所需通路管線 (Inlet、Outlet、Cross flow)。

(b) 於模式 Elution + Inject mode 下，設定 Detector flow 為 0.5 mL/min。

(c) 檢查確認管線及分離匣道皆安裝正確無滲漏；匣道內是否有明顯可見之氣泡，若有氣泡可嘗試重新連結 Outlet 管線。

(d) 待匣道壓力(Channel pressure)及垂直向流壓力(Cross flow pressure)穩定，約需 15 分鐘。

(e) 待系統壓力穩定後，可先分析一針空白試樣以移除系統內之微小氣泡。

(f) 穩定匣道濾膜狀態。測試數針牛血清白蛋白(BSA)，建議進樣量 200 μg ，直至回收率值穩定。

(g) 不對稱流場場流系統參考設定值

移動相：PBS buffer

Detector Flow：0.5 mL/min

Focus Flow：1.5 mL/min

Mode	Cross Flow	Focus Flow	Time
1. Elution + Inject	1.5 mL/min	-	1 min
2. Focus	-	1.5 mL/min	2 mins
3. Focus + Inject	-	1.5 mL/min	5 mins*
4. Elution	2.0 mL/min	-	10 mins
5. Elution + Inject	0 mL/min	-	10 mins

*若進樣體積較大，可延長 Focus Time 至 10 分鐘。

(4) 不對稱流場場流系統串接多角度靜態光散射儀進行再次校正

由於串接不對稱流場場流分離匣道之管線長度與串接管柱條件下不同，故需再次進行校正。

- (a) 設定 Detector flow 0.5 mL/min
- (b) 待多角度靜態光散射儀之散射光背景變化值於 20 至 50 μV 。
- (c) 背景值穩定後進樣牛血清白蛋白(BSA) 50 至 100 μL 進行分析校正，可參考上述設定值。
- (d) 依序於軟體中進行 Alignment 及 Band Broadening，以確認各偵測訊號分析波形一致(無須進行 Normalization)。

(5) 分析試樣

- (a) 先以試樣潤洗 1.5 mL 樣品瓶三次，再將試樣置於樣品瓶中；完成後放入 4°C 控溫自動進樣器中待分析。
- (b) 不對稱流場場流系統參考設定值
移動相：水 (200 ppm NaN_3)
Detector Flow：1.0 mL/min
Focus Flow：2.5 mL/min

Mode	Cross Flow	Focus Flow	Time
1. Elution + Cross Flow	1.0 mL/min	-	1 min
2. Focus	-	2.5 mL/min	1 min
3. Focus + Inject	-	2.5 mL/min	10 mins
4. Elution + Cross Flow	2.5 -> 1.5 mL/min	-	10 mins
5. Elution + Cross Flow	1.5 -> 0.5 mL/min		10 mins
6. Elution + Cross Flow	0.5 -> 0 mL/min		40 mins
7. Elution + Cross Flow	0 mL/min		8 mins
8. Elution + Inject	0 mL/min	-	10 mins

總分析時間 90 分鐘

八、結果處理

- (一) 建立光散射及 UV 訊號之基線
- (二) 選取欲分析之時間區段
- (三) 確認各角度下之靜態光散射訊號；低角度之光散射訊號若與回歸曲線偏差較大，可考慮移除。
- (四) 可從 Results fitting (Display：rms radius)中得知光散射訊號與粒徑尺寸之相關圖。

九、品質管制

- (一) 多角度靜態光散射儀之散射光背景變化值應於 20 至 50 μ V。
- (二) 穩定匣道濾膜狀態：初次安裝或更換匣道濾膜後，需測試數針牛血清白蛋白(BSA)，建議進樣量 200 μ g，直至回收率值穩定。

十、參考資料

1. M. Baalousha, F. Kammer, M. Motelica-Heino, M. Baborowski, C. Hofmeister, Size-Based Speciation of Natural Colloidal Particles by Flow Field Flow Fractionation, Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy, and Transmission Electron Microscopy/X-ray Energy Dispersive Spectroscopy: Colloids-Trace Element Interaction, P. Lecoustumer, Environ. Sci. Technol. 40 (2006) 2156.
2. E. Alasonati, V.I. Slaveykova, H. Gallard, J.P. Croue, M.F. Benedetti, Characterization of the colloidal organic matter from the Amazonian basin by asymmetrical flow field-flow fractionation and size exclusion chromatography, Water Res. 44 (2010) 223.
3. B. Stolpe, L. Guo, A.M. Shiller, M. Hassellöv, Size and composition of colloidal organic matter and trace elements in the Mississippi River, Pearl River and the northern Gulf of Mexico, as characterized by flow field-flow fractionation, Mar. Chem. 118 (2010) 119.
4. M. Baalousha, et al., Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: A critical review, Journal of Chromatography A. 2011, 1218, 4078-4103.
5. H. Hadri, J. Gigault, P. Chéry, M. Potin-Gautier, G. Lespes. Optimization of flow field-flow fractionation for the characterization of natural colloids, Analytical and Bioanalytical Chemistry 2014, 406, 1639-1649.

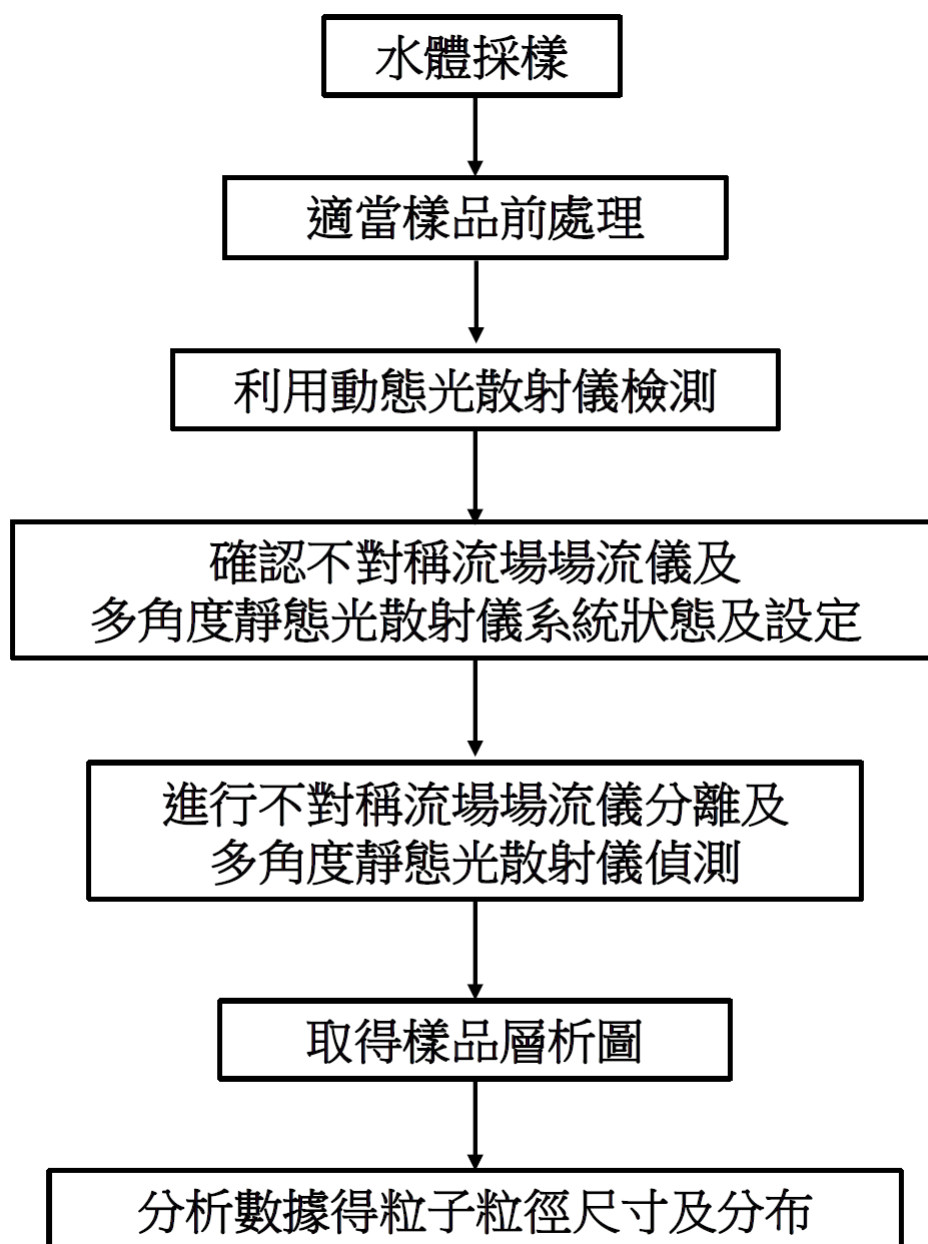


圖 56 分離技術方法草案流程圖

第七章

第七章 參考文獻

1. Fadri Gottschalk, Tobias Sonderer, Roland W. Scholz and Bernd Nowack. *Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions*. Environ. Sci. Technol., 2009, 43 (24), 9216 – 9222.
2. Jamie R. Lead, Kevin J. Wilkinson, Konstantin Starchev, Silvio Canonica, Jacques Buffle. *Determination of Diffusion Coefficients of Humic Substances by Fluorescence Correlation Spectroscopy: Role of Solution Conditions*. Environ. Sci. Technol., 2000, 34 (7), 1365 – 1369.
3. Montserrat Filella, Jingwu Zhang, Meredith E. Newman, Jacques Buffle. *Analytical applications of photon correlation spectroscopy for size distribution measurements of natural colloidal suspensions: capabilities and limitations*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1997, 120 (1-3), 27-46.
4. N.M. Thang, H. Geckeis, J.I. Kim, H.P. Beck, *Application of the flow field flow fractionation (FFFF) to the characterization of aquatic humic colloids: evaluation and optimization of the method*, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 181 (2001) 289.
5. M. Baalousha, F. Kammer, M. Motelica-Heino, M. Baborowski, C. Hofmeister, *Size-Based Speciation of Natural Colloidal Particles by Flow Field Flow Fractionation, Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy, and Transmission Electron Microscopy/X-ray Energy Dispersive Spectroscopy: Colloids-Trace Element Interaction*, P. Lecoustumer, Environ. Sci. Technol. 40 (2006) 2156.
6. M. Baalousha, J.R. Lead, *Characterization of Natural Aquatic Colloids (<5 nm) by Flow-Field Flow Fractionation and Atomic Force Microscopy*, Environ. Sci. Technol. 41 (2007) 1111.
7. E. Alasonati, V.I. Slaveykova, H. Gallard, J.P. Croue, M.F. Benedetti, *Characterization of the colloidal organic matter from the Amazonian basin by asymmetrical flow field-flow fractionation and size exclusion chromatography*, Water Res. 44 (2010) 223.

8. B. Stolpe, L. Guo, A.M. Shiller, M. Hassellöv, *Size and composition of colloidal organic matter and trace elements in the Mississippi River, Pearl River and the northern Gulf of Mexico, as characterized by flow field-flow fractionation*, Mar. Chem. 118 (2010) 119.
9. 林俊德, 陳怡如, 陳麗霞, 翁英明, 阮國棟 **環境分析評論** 第三期 環保署環境檢驗所
10. Frank von der Kammer, et al., *Separation and characterization of nanoparticles in complex food and environmental samples by field-flow fractionation*, Trends in Analytical Chemistry, 2011, 30, 425-436.
11. M. Baalousha, et al., *Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: A critical review*, Journal of Chromatography A. 2011, 1218, 4078-4103.
12. Hind El Hadri & JuLien Gigault & Philippe Chéry & Martine Potin-Gautier & Gaëtane Lespes. *Optimization of flow field-flow fractionation for the characterization of natural colloids*, Analytical and Bioanalytical Chemistry 2014, 406, 1639-1649.
13. Hind El Hadri & Gaëtane Lespes & Philippe Chéry & Martine Potin-Gautier *Asymmetric flow-field flow fractionation-multidetector coupling for assessing colloidal copper in drain waters from a Bordeaux wine-growing area*, Anal Bioanal Chem. 2014, 406, 1111-1119.
14. E. Neubauer, F. v.d. Kammer, T. Hofmann. *Influence of carrier solution ionic strength and injected sample load on retention and recovery of natural nanoparticles using Flow Field-Flow Fractionation*, Journal of Chromatography A 2011, 1218, 6763 – 6773.
15. Franz Jirsa, Elisabeth Neubauerb, Richard Kittingera, Thilo Hofmannb, Regina Krachlera, Frank von der Kammerb, Bernhard K. Kepplera, *Natural organic matter and iron export from the Tanner Moor, Austria*, Limnologica 2013, 43, 239-244.
16. Elisabeth Neubauer, Frank v.d. Kammer, Thilo Hofmann, *Using FLOWFFF and HPSEC to determine trace metal-colloid associations in wetland runoff*, Water Research 2013, 47, 2757-2769.
17. Isabelle A.M. Worms, Jacqueline Traber, David Kistler, Laura Sigg, Vera I. Slaveykova, *Uptake of Cd(II) and Pb(II) by microalgae in presence of colloidal organic*

- matter from wastewater treatment plant effluents*, Environmental Pollution 2010, 158, 369 – 374.
18. Isabelle A.M. Worms, Zsofia Al-Gorani Szigeti , Stephane Dubascoux , Gaetane Lespes, Jacqueline Traber , Laura Sigg , Vera I. Slaveykova, *Colloidal organic matter from wastewater treatment plant effluents: Characterization and role in metal distribution*, Water Research 2010, 44, 340-350.
 19. S. Dubascoux, I. Le Hécho, M. Potin Gautier, G. Lespes, *On-line and off-line quantification of trace elements associated to colloids by As-FI-FFF and ICP-MS*, Talanta, 2008, 77(1), 60-65.
 20. S. Dubascoux, F. Von Der Kammerb, I. Le Hécho, M. Potin Gautier a, G. Lespesa, *Optimisation of asymmetrical flow field flow fractionation for environmental nanoparticles separation*, Journal of Chromatography A, 2008, 1206, 160-165.
 21. Mark P. Petteys, Martin E. Schimpf, *Characterization of hematite and its interaction with humic material using flow field-flow fractionation*, Journal of Chromatography A, 1998, 816, 145-158.
 22. Zimm, B. H., *The scattering of light and the radial distribution function of high polymer solutions*. Journal of Chemical Physics 16, 1093-1099 Ibid.
 23. Zimm, B. H., *Apparatus and methods for measurement and interpretation of the angular variation of light scattering; Preliminary results on polystyrene solutions*. Journal of Chemical Physics, 1948, 16, 1099-1116.
 24. Wyatt, P. J., *Light scattering and the absolute characterization of macromolecules*. Analytica Chimica Acta, 1993, 272, 1 – 40.
 25. 經濟部投資業務處，*奈米科技及應用之產業分析與投資機會*，中華民國 97 年 2 月。

附錄一

**環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3) - 發展適用於生物毒性檢測之環境水
體奈米物質分離技術」評選會委員審查意見及回覆表**

時間：中華民國 106 年 3 月 20 日下午 3 時 00 分

地點：環檢所 1 樓 M110 會議室

審查意見	回覆意見
(一) 凌委員永健	
1、宜說明使用之多角度散射儀機型及測表面電荷能力。	感謝委員建議。本計畫使用之多角度靜態光散射儀為 Wyatt DAWN HELEOS II；本機型無檢測表面電荷之功能。
2、簡報書中提及 12 件樣品與投標須知補充規定之 15 件不一致。	感謝委員建議。總樣品數量為 18 件，包含額外補充 3 件環境水體水樣。
3、初篩以 DLS 篩選 100 nm 濾膜前處理之水樣，與得到 100 / 220 / 450 nm 分液之有效性。	感謝委員建議。由於奈米物質於定義上為粒徑尺寸 100 nm 以下之粒子，故於 DLS 初篩時以 100 nm 濾膜進行前處理。與生物毒性試驗合作之水樣，考慮分液收集 100 / 220 / 450 nm 之粒徑區間進行有機/無機成分組成分析，以提供生物毒性試驗數據之參考。
4、參考文獻宜更新，初步了解目標採樣點放流水樣中奈米物質的有無及種類。	感謝委員建議。補充參考文獻 25 以了解產業放流水中奈米物質相關性之資料。
(二) 柯委員富祥	
1、本案擬將過去兩年執行成果與本年度的 DLS 技術整合並比對方法可行性，這類研究是具有重要性。	感謝委員肯定。本期計畫將以前期水樣及數據為基礎，延伸至本期計畫水樣，並與 DLS 技術整合探討。
2、本年度計畫執行後，會在整合 FIFFF 與 DLS 等技術後，撰寫水相中奈米粒子分離技術方法草案，這	感謝委員肯定。本期計畫將基於不對稱流場場流分離系統撰寫水中奈米粒子分離技術方法草案，供單位參考。

對國家在執行相關奈米檢測，是相當重要的一步。	
3、服務建議書的第二頁第八行，請加入奈米銀線與石墨烯材料。同頁的奈米微粒分析技術，請加入掃描式電子顯微鏡。同頁的倒數第五行，請校正 filed 這個字。第 4 頁的第 14 行，請將「懸浮」改成「懸浮分散」。第 26 頁的第 1 與 2 行的 field，請改為 field。	感謝委員建議。已於背景資料中補充相關資料(p3)及文字修正。
4、本案的前處理分離方式，請畫出流程圖。	感謝委員建議。前處理流程(p144)如下： 1. 水體採樣，預計 1 公升 * 4 瓶。 2. 取適量水樣以 0.1 μm 濾膜過濾，再以 DLS 進行奈米物質含量初步篩選。 3. 若水樣符合需求。一部分添加 NaN_3 以進行不對稱流場場流系統分析；另一部分以原液狀態提供予單位進行生物毒性試驗。
(三) 巫委員月春	
1、分液收集粒子尺寸如何確認?三種尺寸分離後在分析前如何確認粒子仍保持原有尺寸?	感謝委員建議。不對稱流場場流分離儀將配合多角度靜態光散射儀偵測粒子尺寸，進而利用分液收集器回收不同尺寸之粒子。 於前期計畫中，水樣添加 NaN_3 置於 4°C 冰箱數月，於相同分析條件下再次分析水樣，粒子尺寸及分布趨勢相近，無明顯差異。

2、分液收集後移至後續生物毒性測試時樣品是如何保存?	分液收集後之水樣僅提供進行有機/無機成分組成分析。採集水樣經 DLS 初篩後，符合者將保存於 4℃ 條件下，直接提供原液予單位進行生物毒性試驗，不進行其他處理。
3、105 年前處理(樣品)研究結論最佳條件為 0.45 μm ，而本年度改用 0.1 μm 濾膜之理由為何?	感謝委員建議。前期計畫於探討不同前處理(0.45 μm / 1 μm 濾膜)條件下之差異；本期欲回歸針對奈米物質定義上之粒子尺寸(<100 nm)進行分析，故選用 0.1 μm 濾膜。
4、 樣品至少應為 15 件，且採樣工廠製程廢水或放流水應先篩選可能具有奈米微粒之水樣。	感謝委員建議。預計至少採取 15 件樣品，先經 DLS 動態光散射儀初步篩選奈米物質後，再進行不對稱流場場流系統分析。
(四) 翁委員英明	
1、理論上 0.1 μm 經大量樣品過濾程序後，0.1 μm 之孔徑會變小，樣品如經 0.1 μm 粗濾後，是否會影響 100 nm 以下之數量。	感謝委員建議。因無法完全排除 100 nm 以下粒子受 0.1 μm 濾膜干擾而影響過濾效果，將增加 0.22 μm 濾膜條件，並比較兩者之差異，相關粒徑分析數據可見第四章。
2、服務建議書拾、參考文獻請移至捌之前。	感謝委員建議，已調整參考文獻位置。

環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3) - 發展適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術」期中報告委員意見及回覆表

時間：中華民國 106 年 8 月 10 日下午 2 時 00 分

地點：環檢所 4 樓 M401 會議室

審查意見	回覆意見
(一) 張委員小萍	
1、本計畫由第一年的分析/前處理條件建立，第二年的天然樣品到第三年的廢污水樣品，漸進入實際應用層面。今年選用 K 湖為採樣點之理由為何？	感謝委員建議。今年採樣點主要以工業製程廢水或放流水為主；K 湖為補充環境水體水樣以供參考。
2、B 廠放流水之 DLS=14317 大於進流水 DLS=12051，不知其廢水處理方式是否影響到此種反常結果？	感謝委員建議。B 廠進流水濁度高，可知多為粒徑大之顆粒，而非奈米等級之粒子；放流水之 DLS 數據略大於進流水，但兩偵測值皆僅略高於篩選標準值 (10,000 counts)；考慮 B 廠污水處理過程中最後會經過活性碳吸附再排放，推估活性碳環境於此造成部分影響。
3、P22-P33 之"表 1:近年來環境水體奈米粒子研究系統及操作條件一覽表"，係文獻整理，建議移為附錄。	感謝委員建議，已將表格位置修正於附錄二。
4、初篩 Standard Value 10000 係如何訂定，建議說明。	感謝委員建議。初篩標準為利用上年度八個真實水樣偵測 DLS 數值，搭配不對稱流場流系統-多角度靜態光散射儀 (AF4-MALS) 分析圖譜，得知 DLS 與 AF4-MALS 趨勢一致； 水與石門水庫水樣訊號最低，DLS 偵測值約 6,000 至 7,000 counts，同時可視為

	基準線；其餘水樣 DLS 值皆高於 10,000 counts 且於 AF4-MALS 可得穩定可靠的粒徑分析數據，故將初篩標準值設定為 10,000 counts。
5、第 2 年報告中討論到由測得真實樣品 pH 值與導電度，決定適合分析使用之移動相。今年因去年結論中題到 pH 值及導電度對不對稱場流分離影響不明顯，故直接利用 Water 為移動相。	感謝委員肯定。本年度計畫將以水為移動相。
(二) 柯委員富祥	
1、在期中報告的基本摘要內容，所述及的「篩選標準設定為 10000」，此句子的表示不是很清楚，或是有科學根據呢？	感謝委員建議。此數值來自於現階段的實驗數據；初篩標準為利用上年度八個真實水樣偵測 DLS 數值，搭配不對稱流場場流系統-多角度靜態光散射儀(AF4-MALS)分析圖譜，得知 DLS 與 AF4-MALS 趨勢一致； 水與石門水庫水樣訊號最低，DLS 偵測值約 6,000 至 7,000 counts，同時可視為基準線；其餘水樣 DLS 值皆高於 10,000 counts 且於 AF4-MALS 可得穩定可靠的粒徑分析數據，故將初篩標準值設定為 10,000 counts。
2、本計畫使用的動態光散射儀與不對稱流場-多角度靜態光散射儀，這兩種技術對水中有微奈米氣泡的影響如何？微奈米氣泡對於訊號的產生如何解析？	感謝委員建議。若有微奈米氣泡於動態光散射儀中，可見收集數據呈現不規則跳動且無連續性；於樣品進樣時需注意避免產生氣泡；且於分析時收集五十組數據加以平均。 不對稱流場-多角度靜態光散射儀系統於

	更換濾膜安裝時，已將氣泡排除；若系統中仍有微奈米氣泡存在，多角度靜態光散射儀可見不正常的突發 peak 且粒徑分布不連續；此現象極少發生，若出現應檢查樣品或系統的狀態是否正常。
3、習知的看法，過濾親水性的試樣要用親水性的濾膜，而過濾非親水性的試樣要用疏水性濾膜，這樣的前處理法，可以避免氣泡的產生。若前題要避免氣泡對動態光散射儀與不對稱流場-多角度靜態光散射儀方法的干擾，是否未來要在水中奈米粒子分離技術草案中加入 degas 試樣的程序？這部分是另一個議題，可蒐集文獻資料來解釋說明即可。	感謝委員建議。關於氣泡的問題已於上題說明。動態光散射的部分，依照目前的操作流程，產生氣泡的現象不明顯。而不對稱流場場流儀-多角度靜態光散射儀系統已經於液相層析儀部分包含 degas 裝置，且於每次更換濾膜後皆先以水為空白試樣確認系統狀態，排除可能因氣泡產生的干擾。
4、回到比較基礎的觀念，報告中的圖 9 到圖 33 係為不對稱流場-多角度靜態光散射儀之測定結果，而相同尺寸的奈米材料其流出的時間並不一樣，表示其分離時之作用力是很複雜的，我們知道 size exclusion chromatography 是依尺寸來分離的方法，其原理是較小的微粒比較晚被流出，因為較小微粒會進入更小的樹脂孔洞內。以目前計畫書之結論，圖 9 到圖 33 間表示樣品在不對稱流場-多角度靜態光散射儀之作用力有哪些？	感謝委員建議。相較於 size exclusion chromatography，影響不對稱流場場流分離系統之分離效率的因素較複雜，故特定尺寸粒子之釋出時間會隨著樣品狀態不同而相異，因此可有更廣泛的應用。原則上基於流體力學的作用，粒子尺寸為由小至大依序釋出；除此之外，Cross flow 的設定、濾膜的選擇、移動相的離子強度等皆會影響分離的效果。依本年度目前分析之水樣，影響粒子釋出時間相異的主要因素應受粒子本身表面電荷或結構的影響，與上述提及之條件相互作用下而改變粒子釋出時間；故需要搭配多角度靜態光散射儀進一步確認釋出

	粒子的粒徑尺寸。
5、在草案中有論及 NaN_3 ，該如何定位此試藥的角色，以利實驗室操作本草案。	感謝委員建議。 NaN_3 於本草案中做為抗菌劑使用，避免系統產生污染而影響分析數據。操作上於配置移動相的同時，添加 200 ppm 之 NaN_3 即可；於樣品部分，若僅供粒徑分析使用，也可添加 200 ppm 之 NaN_3 ，抑制樣品中的生物生長，避免造成樣品中之粒子粒徑改變。
(三) 林委員俊德	
1、期中報告所包含不對稱場流分離 (AF4)圖譜頗多，所分析之環境水樣不論是量及種類均包含廣泛，可見執行單位之努力，及企圖心值得肯定。	感謝委員肯定。
2、期中報告內容之纂寫品質有待加強，不論是單位定義、文獻背景、使用方法儀器、形成結論之論述，仍有許多空間改進，例如： (1) 微米，在基本摘要、目錄及第五、七章中用“um”，第二、四及第六章則用“ μm ”，請小心及一致！ (2) 不同水樣 AF4 圖譜若使用黑白印刷，應以不同樣式虛線標示，否則同一張圖中無法區分何者為何者報告中。 (3) 報告中所使用之儀器，包括：「第四章工作方法」所提之動態光散射儀 (DLS)、「第二章、三、偵測系統」所提之熱裂解氣相層析質譜儀 (GC-MS)、感應耦合電漿質譜儀 (ICP-MS)、	感謝委員建議。 (1) 單位部分已再次確認及修改。 (2) 圖譜部分將調整格式。 (3) 實驗中使用之儀器分析條件已補充於期末報告第三章中。

多角度靜態光散射儀(MALS)、熱裂解氣相層析質譜儀(GC-MS)及「第五章、六、總有機碳 TOC 分析」，均應說明清楚所使用之儀器廠牌、型號及分析條件。	
3、文獻回顧表 1 中標題「近年來環境水體奈米粒子研究系統及操作條件一覽表」，僅有 AF4 單一儀器，缺乏與其他奈米粒子分析鑑定方法之比較，事實上許多儀器之偵測極限及在分析奈米粒子中均有其適用性及受不同儀器分析本身方法之限制，如：奈米粒子未必為接近圓形，三維只要有一維或兩維結構在 100 奈米以下均可視為“奈米物質”，如奈米碳管、石墨烯等，因此僅以 AF4 作為唯一之方法將有盲點、而未來恐引爭議！	感謝委員建議。附錄二表 9 為 AF4 系統近年來於環境水體奈米粒子研究系統及操作條件，用於前期移動相選擇之參考。而其他奈米粒子分析鑑定方法簡述於第一章前言背景中。
4、AF4 移動相之選擇，從原先低濃度(1 mM NH₄NO₃)提高到高濃度(10 mM)及改變為不同陰離子(Cl-)與陽離子(Na+)之組成，應在「第二章 五、結論」(p.39)中予以詳細說明，前期結果與本年度計畫所用之分析條件之銜接，如由表 2(p.40)與表 3(p.41)中，可以得到分析何種水質時適合使用何種移動相，方能凸顯出其實驗結果之價值。	感謝委員建議。基於前期試驗，由表 2 與表 3 中得知水移動相條件下，大部分樣品於 100 nm 以下之奈米粒子分離效果最佳，故選擇以水進行本期分析移動相。
5、執行單位所提之 DLS 初篩標準為 10,000，沒有單位亦缺乏學理根據，	感謝委員建議。針對不同廠牌及光源強度之動態光散射儀器，未來需進一步探

若未來公告為標準方法將有可能依據不同廠牌、光源強度及分析中所含環境基質不同，而有不一致之客觀判定標準。	討初篩標準於各廠牌儀器的差異；環境基質的影響，需測試更多類型之水樣。
6、DLS 之數據應加上分散係數(PDI)值以說明所量測奈米粒子粒徑之分散性。對於環境水樣，奈米粒子具有高度變異性(如:絮凝、錯合、水解、光解等)及多個奈米粒徑，與實驗室單純奈米材料之分析有諸多干擾及變數，不能僅為了方便只報告一個主要之奈米粒徑。因此建議所有 DLS 量測之分佈圖應加於附錄中，以了解實際所量測環境水樣中奈米粒子主要粒徑及其粒徑分佈。	感謝委員建議。分散係數(PDI)值及 DLS 量測之分佈圖將考慮補充於期末報告中。
7、對於所採之環境水樣，除了分析主要之目標物(奈米粒子)對應之 AF 圖譜(p.74-85)及 DLS 結果(p.88)，對於水樣之基本性質(如: pH、導電度、離子成分、懸浮固體量及有/無機成分)均應一併了解其水質背景成分及廢水處理程序用藥，以免瞎子摸象胡亂猜測。	感謝委員建議。pH、導電度考慮於後續報告補充；除 TOC 外，有機/無機成分將以熱裂解氣相層析質譜儀及重金屬組成分析數據呈現 (p94 至 117)。
8、本計畫之次標題為「發展適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術專案研究計畫」，應加強了解生物毒性檢測之需要以適度調整對應研究方向。	感謝委員建議。本期計畫成果與生物毒性試驗之關聯性補充於期末報告中(p121 至 125)，以提供可能造成生物毒性之原因參考。
(四) 翁委員英明	
1、以動態光散射所建立之篩選值	感謝委員建議。如前述提及，初篩標準

10000，其根據之基礎定義為何？	以利用上年度八個真實水樣偵測 DLS 數值，搭配不對稱流場流系統-多角度靜態光散射儀(AF4-MALS)分析圖譜，得知 DLS 與 AF4-MALS 趨勢一致； 水與石門水庫水樣訊號最低，DLS 約 6,000 至 7,000 counts，同時可視為基準線；其餘水樣 DLS 值皆高於 10,000 counts 且於 AF4-MALS 可得穩定可靠的粒徑分析數據，故將初篩標準值設定為 10,000 counts。
2、以動態光散射篩選出代表性的樣品，在文獻是否能提供直接應用於生物毒性效應之測試，其 LC50 或 EC50 的測試上，前處理的樣品如何建議？	感謝委員建議。由於文獻上的自然環境及產業水體與本地不盡相同，不易直接比較兩者應用於生物毒性試驗之效果；經與生物毒性試驗單位討論後，發現與本單位相同之前處理方式，以 0.1 μm 濾膜過濾後再進行試驗，數據再現性較佳。
3、除 A 廠及 C 園區外大部分水樣奈米均方根半徑大於 50 nm，如何調整系統能確實在 100 nm 以下之尺寸。	感謝委員建議。以 0.1 μm 濾膜前處理後，由數據得知多數水樣仍有 100 nm 以上之粒子存在；若以孔徑更小的濾膜進行過濾，應可減少 100 nm 以上粒子的數量。
4、蒐錄之參考文獻，建議能再提供摘要說明及應用評析。	感謝委員建議。已補充參考文獻之摘要說明及應用評析於附錄四。
5、系統建置及效能確認所提之分離度辨識及測試，建議所用參考物質之配製請補充。	感謝委員建議。系統裝置完成後，使用 BSA 牛血清白蛋白進行各偵測器訊號校正，操作方法描述於第六章分析草案中。分離度測試，可使用 30 nm 或 60 nm polystyrene 粒子進行測試，但前述提及

	影響粒子釋出的因素眾多，樣品之粒子表面電荷與 polystyrene 不盡相同，故釋出時間不一致為合理現象。
(五) 郭委員安甫	
1、動態光散射(DLS)單位(Counts)內文請補敘明。	感謝委員建議。動態光散射(DLS)之單位(Counts)已於報告內文中補上。
2、K 湖分離效果不佳，無法成功由小至大分離粒子，其原因宜再探究。	感謝委員建議。已補充於報告內文(p75 至 76)中。可能起因於樣品本身電荷數高或其他特性，目前已針對儀器設定部分(聚焦時間及進樣量)調整，仍無法有效改善，可能需要進一步測試及了解樣品狀況以嘗試改善封閉水體之分離效率。
3、比較圖 21 及 34 使用 0.1 μ m 濾膜和 0.22 μ m 濾膜，部分如 A 廠污水放流水百分比差異大，未來如何整體解釋或評估選擇濾膜尺寸。	感謝委員建議。0.1 μ m 濾膜前處理條件下，除 100 nm 以下之粒子，也包含部分 100 nm 以上之粒子；未來若欲針對 100 nm 以下之奈米粒子進行分析探討，0.1 μ m 濾膜應仍為較適選擇。
4、九處只有 B 廠 0~100 nm 粒徑統計比率，進流水小於放流水而進流水總無機碳之濃度小於總有機碳，請追究其原因。	感謝委員建議。B 廠進流水濁度高，可知多為粒徑大之顆粒，而非奈米等級之粒子，故於 0 至 100 nm 粒徑統計比率中，進流水之比值較小。 而進流水總無機碳之濃度小於總有機碳，其污水中包含溶劑、水性/油性/膠漿塗料等，多為有機小分子，推估因此造成總有機碳之濃度高於總無機碳。
5、本文未提供如何量測 TOC 和 TIC 濃度方式，請補充。	感謝委員建議。量測 TOC 和 TIC 之方法已補充於第三章 (p50 至 51)。

環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3) - 發展適用於生物毒性檢測之環境水體奈米物質分離技術」期末報告委員意見及回覆表

時間：中華民國 106 年 12 月 1 日上午 11 時 00 分

地點：環檢所 4 樓 M408 會議室

審查意見	回覆意見
(一) 張委員小萍	
1、此計畫標題是適用於生物毒性檢測之奈米分離技術，但就如成果報告前言中所說未能配合相關生物毒性檢測數據，無法探討與了解奈米物質的尺寸分布及成分組成與生物毒性間的關聯性？結論中卻提到配合生物毒性測試，探討真實樣品中奈米物質對生物體影響，實際上未執行？	感謝委員建議。本期計畫成果與生物毒性試驗之關聯性補充於期末報告中(p121 至 125)，以提供可能造成生物毒性之原因參考。
2、Chapter 五-結論只是整理檢測結果，須加強敘述。	感謝委員建議。補充與生物毒性試驗相關性之敘述說明 (p132，133)。
3、P97 污水處理廠中 Zn，Fe，Ca，Mg 之放流水濃度大於進流水，表示處理效率不夠好？	感謝委員建議。關於金屬濃度之數據，推估進流水與放流水非同一批次，可能造成分析數據上的差異，未來可能需要進一步確認。
4、P138-九.品管之重複管制範圍 80-120%係指奈米物質尺寸大小的分布還是 Counts？。	感謝委員建議。考慮這部分未必適用於所有水樣，將予以刪除。
(二) 柯委員富祥	
1、期末報告在資料表中或是中文摘要關鍵詞等處談到「環境奈米粒子」，但是在英文關鍵詞處卻只有寫	感謝委員建議。此部分已補充修正。

「Nanoparticle」，請改為 「Environmental Nanoparticle」比較一致性。	
2、在計畫期末報告基本摘要之第三項主要執行內容處，最後一行「同時提供水中奈米粒子分離技術方法草案」，建議修正為「期末報告中，亦將環境水體中之奈米粒子分離技術的方法草案擬出」。	感謝委員建議。此部分已依照委員建議修正。
3、計畫書第六章(第 133 頁)的第二項談到「污水下水道」，似乎要修正為「污水下水道」。第 135 頁的第七大項內之「汙染」，請改為「污染」。另外第七大項的編碼 5,6,7,8；請改為 1,2,3,4。	感謝委員建議。用字及編碼部分已修正。
4、第三項的第(二)點說到「使用殘量分析級或高純度的試劑及溶劑」應該修正為「試劑及溶劑之純度請使用分析等級」。第三項的第(三)點說到「因此在高濃度樣品分析完成時，可分析一溶劑空白」，應該修正為「因此在高濃度樣品分析完成後，必須分析溶劑空白樣品以確保沒有污染問題」。	感謝委員建議。文字部分已依照委員建議修訂 (p137)。
5、計畫書第六章(第 135 頁)的前二行談到「若後續無生物試驗且疊氮化鈉成分不影響分析鑑定則可添加 200ppm 於採樣水體中」，建議修正為「若試樣無須經生物試驗且疊氮化鈉成分不影響分析鑑定時，則可添加 200ppm 的疊	感謝委員建議。文字部分已依照委員建議修訂 (p138，139)。

氮化鈉於採樣水體中，以利試樣保存」。	
6、計畫書第六章(第 135 頁)的倒數第三行「Band Boarding」與第 137 頁倒數第九行的「Band Boarding」，請皆改為「Band Broad 或是 Broading」。	感謝委員建議，文章內用字已修改為 Band Broadening。
7、計畫書第 136 頁與第 137 頁在不對稱流場處之移動相所述之內容分別是「PBS buffer」與「水 + 200 ppm 疊氮化鈉」，請問這不同移動相之考量點為何？	原第 136 頁為利用牛血清白蛋白作為校正品，PBS buffer 為較適合之移動相；而原第 137 頁為針對樣品分析時之移動相，現階段測試真實水樣以水為移動相較為合適。故兩移動相所有不同。
8、計畫書在第六章方法草案之 138 頁有談到「Zimm Model」與「Berry Model」，但是方法草案並未定義此兩模式，是否合宜且不會造成操作方法的困惑？	感謝委員建議，為避免困擾將此部分敘述予以修正。
9、第 139 頁針對方法草案之參考文獻，請將格式一致性。另外這七篇參考文獻均來自期刊，是否國外的環保單位已有此計畫之標準方法草案？	感謝委員建議，格式部分已修正。目前針對此議題，國外環保單位尚未有正式標準方法公告。
10、第 173 頁的 FIFFF 與 AsFIFFF，是否能與英文摘要處的 AF4 有一致性敘述。	感謝委員建議，此部分已修正。
(三) 謝委員貞雄	
1、第 55 頁(二)氣相層析儀條件分離管柱漏列名稱。	感謝委員建議，名稱已補上 (p51)。
2、第 62 頁倒數第五行，…除 B 廠放流水外，此段文字建議刪除。因較圖 8(p.62)與圖 9(p.63)資料所有 15 件水	感謝委員建議。文字部分已刪除。

樣，前處理 0.22 μm 濾膜之測值皆高於 0.1 μm 濾膜。	
3、K 湖於本計畫中，水樣經 0.1 μm 濾膜或 0.22 μm 濾膜前處理後，再經 AF4-MALS 進行分離，兩者水樣整體粒徑分離效果不佳。換言之，是否本計畫之分離技術不適用於封閉水體(去年計畫金門太湖也是相同情形)，有無補救辦法。	感謝委員建議。現階段針對封閉水體分離結果不佳，可能起因於樣品本身電荷數高或其他特性，目前已針對儀器設定部分(聚焦時間及進樣量)調整，仍無法有效改善(p75, 76)，可能需要進一步測試及了解樣品狀況以嘗試改善封閉水體之分離效率。
4、A 廠放流水部分重金屬(砷、鋅、鐵)濃度大於進流水。報告稱可能因水樣批次因素導致。A 廠係處理民生廢水，理論上廢水經處理後，重金屬含量下降，結果不降反升，是否與處理方式有關？	感謝委員建議。關於金屬濃度之數據，由於僅單次進行水體採樣，如要確認放流水之金屬含量及趨勢，可能需要重複採樣及分析以了解是否與處理方式有關。
(四) 巫委員月春	
1、請提供本計畫具體可行之建議事項。	感謝委員建議。已補充建議事項於摘要及結論中。
2、請確認 15 件樣品是否符合採購合約規定。	感謝委員建議。目前共採取 15 件工廠廢水或放流水，及補充 3 件環境水體水樣。
3、檢測方法草案為奈米粒子分離技術，其適用範圍為適用之基質對於奈米粒子分離之粒徑範圍是否應明確，其他的步驟亦應依照驗證時實際操作撰寫具可實現之步驟，例如水樣過濾結果處理品質管制。	感謝委員建議。方法草案之適用粒徑範圍及操作步驟已修訂補充於第六章(p136 至 143)。
4、水樣粒徑分離 100 nm 以下後進行分析，與該樣品重金屬分析時是否亦	感謝委員建議。金屬分析數據及表格方面已重新安排整理，並修訂內容說明

為過濾 100nm 以後之樣品，若不是，各表(例表 7，8…等)並列進流水與放流水之結果是否可以比較濃度宜確認。	(p95 至 98)。
5、本案之驗證樣品來源表示可以使用代碼方式表示。	感謝委員建議。分析樣品名稱已全數修改為代號表示。
(五) 郭委員安甫	
1、水樣評析 TOC 及 TIC 之關係，對於有機組成分析-利用熱裂解氣相層析質譜儀，無法辨識有機奈米物質存在之根據是否再參考國際文獻之資料做一說明。	感謝委員建議。目前針對不對稱流場場流分離系統結合熱裂解氣相層析質譜儀兩者分析環境水樣中的奈米物質尚無公開之文獻資料；考慮各地環境差異，其有機組成也不盡相同。 目前於分液收集後之奈米粒子水樣，雖已經濃縮處理，但仍低於儀器偵測極限，可推估奈米粒子內含之有機成分不高；同時我們也將僅經 0.1 μm 濾膜前處理後的濾液進行分析，內含極少量待確認之有機物質。 故若要了解奈米物質中之有機成分，分析前可能需要更高比例的濃縮或嘗試其他前處理方式以提高測樣中實際的奈米物質含量。
2、4-9 總結部分建議增列各水體奈米尺寸範圍供參。	感謝委員建議。各水體奈米尺寸範圍已補充於內文中 (p118 至 120)。
3、第六章建議增列測試流程圖供參。	感謝委員建議。第六章已補充流程圖供參考 (p144)。
4、期中報委員意見回覆意見，補充或說明於報告本文建議加入章節或頁碼，以利查閱。.	感謝委員建議。期中及期末委員意見回覆表已補充頁碼，以利查閱。

5、結論宜呼應計畫題目主旨，重點摘敘。	感謝委員建議。結論部分已補充與生物毒性試驗之相關性說明 (p132，133)。
---------------------	---

附錄二

表 9 近年環境水體奈米子研究系統及操作條件一覽表

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Humic and fulvic acid in groundwater, clay pore water (Germany), isolated from natural water (UK). Commercial humic acid (Aldrich)	FIFFF (F-1000) UV254 1, 5 and 10 kDa RC (Schleicher and Schuell and Wyatt Technology)	Groundwater samples kept under anaerobic conditions Humic substances isolated on anion exchange column	0.01% Tween + 0.02% NaN ₃ 0.1 mM NaOH + 0 – 50 mM NaClO ₄ , pH 10 5 mM Tris, pH 9.1 (optimal) 50 mM Tris, pH 9.1	CF: 1.0 mL min ⁻¹ XF: 1/3/4/5 mL min ⁻¹	Develop method for optimal recovery for humic substances. Testing different membranes and carriers with different compositions and concentrations.	–
Commercial humic acid (Aldrich)	FIFFF (F-1000) UV254, ICP-MS 1 kDa RC (Postnova)	–	30 mM Tris, pH 7.5	CF 1.0 mL min ⁻¹ XF 2.0 mL min ⁻¹	Interaction between metal ions and humic substances.	Cd, Cu and Pb

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Loire River and its tributaries, France	FIFFF (F-1000) UV254, FLD250/430 , LS 90°, MALLS, ICP-MS, STEM-X-EDS 1 kDa RC	0.45 µm and 0.01 µm filtration Pre-concentration (25-fold) 1 kDa ultrafiltration	0.025% SDS + 0.02% NaN ₃	CF: 1.0 mL min ⁻¹ XF: 0.25 → 0.1 mL min ⁻¹ (50 min)	Size based speciation of river NPs and trace metals association to different colloidal phases.	Al, Fe, Mn, Cu, Ni and Pb
Vail Lake, Bailey Brook River and TerRiver, UK	FIFFF (F-1000) UV254 , AFM 1 kDa RC	0.025 µm filtration	1 mM NaNO ₃	CF 1.0 mL min ⁻¹ XF 3.0 mL min ⁻¹	Determination of colloidal particles sphericity and permeability by testing the hard sphere assumption of Stokes – Einstein equation.	–

表 9 近年環境水體奈米粒子研究系統及操作條件一覽表(續)

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Peat-draining rivers in northern Scotland	AsFIFFF (AF-2000) UV220 , ICP-MS, 1 kDa RC (Postnova)	0.2 μm . Samples stored 1 week before analysis	25 mM NaCl	NR	Determine size of nanoparticles iron in river water, and its behavior during mixing with seawater.	Fe
Rio Negro and small tributaries, Brazil Podsol water	AsFIFFF (AF-2000) UV254 , LS 7-angle 1 kDa RC (Postnova) 10 kDa RC (Postnova)	0.7 μm filtration. Some samples concentrated by reverse osmosis. Samples stored one year before analysis	10 mM NaNO_3 , pH 5.7	FF: 4/5 mL min^{-1} CF: 1.0 mL min^{-1} XF: 3.09/0.25 mL min^{-1}	Determine size distribution of UV-absorbing organic matter, variations with season and between small and large rivers and soil water. Comparison between AsFIFFF and SEC.	–

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
River water and coastal seawater, Mississippi and Pearl Rivers and Mississippi Bight, USA	FIFFF (F-1000) UV254 , FLD350/480 , FLD275/340 , ICP-MS 1 kDa PES (Pall Filtron)	0.45 μm filtration and concentration with 1 kDa ultrafiltration (50-fold)	10 mM NH_4Cl , pH 8 55 mM NH_4Cl , pH 8	FF: 4.5 mL min^{-1} CF: 0.5 mL min^{-1} XF: 3.0 mL min^{-1}	Determine size distributions of coloured organic matter and iron nanoparticles in river and seawater, and their binding of elements. Comparison between rivers with different water chemistries.	P, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb and U
Coastal seawater, Gullmarn Fjord, Sweden	AsFIFFF (AF-2000) UV270 , FLD350/450 , ICP-MS, AFM 1 kDa PES (Pall Filtron)	μm filtration	55 mM NH_4Cl , 2 mM $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, pH 8	FF: 2.0 mL min^{-1} CF: 0.5 mL min^{-1} XF: 2.0 mL min^{-1}	Characterize the different types of organic NPs binding trace elements in coastal seawater, their sources, formation and seasonal variations.	Fe, Cu, Ag, La, Er and Pb

表 9 近年環境水體奈米子研究系統及操作條件一覽表(續)

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Wastewater treatment plant effluent, Lake Geneva water, Switzerland	AsFIFFF (AF-2000)	0.45 μm filtration and concentration with 1 kDa ultrafiltration (12.6-20-fold)	10 mM NaNO_3 , pH 5.4	FF: 4.0 mL min ⁻¹ CF: 1.0 mL min ⁻¹ XF: 0.1/0.25/0.3/0.4/1/3/1 $\rightarrow$ 0 mL min ⁻¹	Characterization of NPs binding elements in waste water. Different conditions for determination of small (0 – 15 kDa) and large (10 – 10,000 kDa) NPs. Distinction between humic substances and biopolymers, based on fluorescence.	Al, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Ag, Cd and Pb

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Soil extract	AsFIFFF (Eclipse 2) UV280 , MALLS 10 kDa RC (Wyatt Technology)	Sieving (32 μm), dispersion in water 3 months, dialysis-cleaning of decantate, settling-removal of unstable colloids during 2 years	1/3/10 mM NH_4NO_3 , pH 8	FF: R CF: 1.0 mL min^{-1} XF: 0.3/0.5/0.8 mL min^{-1}	Method optimization for soil NPs, with respect to recovery and separation efficiency. Variation of cross flow and carrier composition and concentration.	–

表 9 近年環境水體奈米子研究系統及操作條件一覽表(續)

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Soil extract	AsFIFFF (Eclipse 2)	Leaching of soil in pure water during 16 h, centrifugation, 0.45 μm filtration of supernatant, spiking with trace metals	1 mM NH_4NO_3 + 0.1 mM SDS, pH 8	FF: 0.75 mL min ⁻¹ CF: 1.0 mL min ⁻¹ XF: 0.5 mL min ⁻¹	Development of AsFIFFF-ICP-MS for soil nanoparticles. Comparison between on-line and off-line quantification.	Pb, Sn, Se, Sb, Cd and As

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Compost leachate	AsFIFFF (AF-2000) UV190 – 520 , ICP-MS 1 kDa RC (Postnova) 1 kDa PES (Postnova)	Suspension of compost in ultrapure water, agitation, settling-removal of large particles, centrifugation of decantate, 0.45 µm filtration of supernatant	ultrapure water, pH 8	CF: 0.8 mL min ⁻¹ XF: 0.1/4/5 mL min ⁻¹	Method development for characterization of metal association to micro and nano-particles in compost. Combination of normal and steric elution mode.	Al, Si, Pb, Zn and Cu

表 9 近年環境水體奈米子研究系統及操作條件一覽表(續)

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
River sediment, Clark Fork River, USA.	AsFIFFF (AF-2000) UV220 , FLD350/45 0 , MALLS, ICP-MS 10 kDa PES (Pall Filtron)	Air-drying of sediment, disaggregation by mortar and 125 μm sieving, suspension in 0.1 M NaCl. Repeated sonication and centrifugation to remove >100 nm particles	0.5 mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	FF: 0.4 mL min ⁻¹ CF: 1.4 mL min ⁻¹ XF: 0.4 mL min ⁻¹	Determine binding of elements to nanoparticles in rivers sediment.	Mg, Al, Si, Ti, Cr, Mn, Co, Cu, Zn, Sr, In, Ba, La, Ce, Pr, Pb, Bi and Th

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
sub-surface drainage	AsFIFFF (Eclipse 3) UV254 10 kDa RC	the water samples were filtered using a 0.45 μm filter immediately after sampling and stored in the dark at 4 $^{\circ}\text{C}$ until analysis	NH_4NO_3 10^{-3} and 10^{-5} mol/L	FF: 3 times cross flow rate CF: 0.6, 0.8, and 1 mL min ⁻¹ XF: 0.3, 0.45, 0.6, 0.9; 0.4, 0.8, 1.2; 0.5, 0.75, 1.5 1.5 mL min ⁻¹	Optimize the characterization of the polydisperse colloidal phase of drain water with verifying cross flow and channel flow. Colloidal copper concentration in drain water was measured with ICPMS.	Cu

表 9 近年環境水體奈米子研究系統及操作條件一覽表(續)

Water type or location	Device, detectors, membrane	Pretreatment	Carrier solution	Operating conditions	Study objective	Chemical species
Exhaust from diesel and gasoline engines	FIFFF (homebuilt) UV254 10 kDa RC (Amicon)	Collection of particles on filter, sonication of filters in ethanol. Mixing with hexane and water with 0.05% Triton X- 100. Decantation of hexane and heating of water to remove hexane and ethanol residuals	0.05% Triton X-100 + 0.02% NaN ₃ , pH 8	CF: 4.63 mL min ⁻¹ XF: 0.60 mL min ⁻¹	Determine the size distribution of particles emitted from engines. Comparison between heavy and light-duty diesel engines and gasoline engines. Study variations in size with engine speed and load.	

FIFFF: flow field flow fractionation;

AsFIFFF: asymmetrical flow field flow fractionation, AF4;

RC: regenerated cellulose;

CF: channel flow;

XF: cross flow;

FF: focus flow rate;

DL: detection limit;

PSS: polystyrene sulfonate;

SDS: sodium dodecyl sulfate;

LS: light scattering;

SEM: scanning electron microscopy;

kDa: kilo Dalton;

VPD: volume particle size distribution;

NPSD: number particle size distribution;

STEM: scanning transmission electron microscopy;

X-EDS: X-ray energy dispersive spectroscopy;

PES: polyether sulfone;

NR: not reported.

出處：文獻 11 與文獻 12

附錄三

樣品編號	水質採樣點	粒徑範圍
No.1	K 湖	< 100nm
No.2		>100nm
No.3	E 廠放流水	< 100nm
No.4		>100nm
No.5	A 廠放流水	< 100nm
No.6	A 廠進流水	< 100nm
No.7	C 園區放流水	< 100nm
No.8	C 園區進流水	< 100nm
No.9	L 溪	< 100nm
No.10		>100nm
No.11	B 廠放流水	< 100nm
No.12	B 廠進流水	< 100nm
No.13	D 園區進流水	< 100nm



上準環境科技股份有限公司

SUN DREAM ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CORPORATION

樣品檢驗報告

專案編號：ERSD106B0438

報告編號：R1060438B11

檢驗項目	樣品名稱/採樣位置(座標)/採樣時間/樣品編號				檢驗方法	單位	備註
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4			
	-	-	-	-			
	-	-	-	-			
	B1060721C	B1060721D	B1060721E	B1060721F			
檢 驗 值							
砷	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鎘	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 NIEA W313.53B	mg/L	
總鉻	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 NIEA W313.53B	mg/L	
銅	0.00633	<0.00200	<0.00200	<0.00200	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鉛	<0.00200	<0.00200	<0.00200	<0.00200	參 NIEA W313.53B	mg/L	
銀	<0.00050	<0.00200	<0.00050	<0.00050	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鋅	0.00349	0.00373	<0.00200	<0.00200	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鐵	0.00376	<0.00200	0.00507	0.00405	參 NIEA W313.53B	mg/L	
錳	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鎳	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 NIEA W313.53B	mg/L	
硒	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鈣	0.0101	0.0107	0.0103	0.00699	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鎂	0.00352	0.00596	0.00483	0.00484	參 NIEA W313.53B	mg/L	
以下空白							

報告專用章
上準環境科技(股)公司
負責人：江光華
檢驗室主任：江光華



上準環境科技股份有限公司

SUN DREAM ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CORPORATION

樣品檢驗報告

專案編號：ERSD106B0438

報告編號：R1060438B11

檢驗項目	樣品名稱/採樣位置(座標)/採樣時間/樣品編號				檢驗方法	單位	備註
	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8			
	-	-	-	-			
	-	-	-	-			
	B1060721G	B1060721H	B1060721I	B1060721J			
檢 驗 值							
砷	0.00484	<0.00050	0.00691	<0.00050	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
鎘	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
總鉻	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
銅	<0.00200	<0.00200	<0.00200	0.00446	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
鉛	<0.00200	<0.00200	<0.00200	<0.00200	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
銀	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
鋅	0.00701	0.00382	0.00651	0.0127	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
鐵	0.00852	0.00537	0.00321	0.00542	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
錳	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
鎳	<0.00050	<0.00050	<0.00050	0.00093	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
硒	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
鈣	0.00907	0.00727	0.00862	0.0178	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
鎂	0.00403	0.00417	0.00297	0.0122	參 考 NIEA W313.53B	mg/L	
以下空白							

報告專用章
上準環境科技(股)公司
負責人：江光華
實驗室主任：江光華



上準環境科技股份有限公司

SUN DREAM ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CORPORATION

樣品檢驗報告

專案編號：ERSD106B0438

報告編號：R1060438B11

檢驗項目	樣品名稱/採樣位置(座標)/採樣時間/樣品編號				檢驗方法	單位	備註
	No. 9	No. 10	No. 11	No. 12			
	-	-	-	-			
	-	-	-	-			
	B1060721K	B1060721L	B1060721M	B1060721N			
檢 驗 值							
砷	<0.00050	<0.00050	0.0152	0.0279	NIEA 9313.53B	mg/L	
鎘	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	NIEA 9313.53B	mg/L	
總鉻	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	NIEA 9313.53B	mg/L	
銅	<0.00200	<0.00200	<0.00200	<0.00200	NIEA 9313.53B	mg/L	
鉛	<0.00200	<0.00200	<0.00200	<0.00200	NIEA 9313.53B	mg/L	
銀	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	NIEA 9313.53B	mg/L	
鋅	0.00279	0.00273	0.0146	0.0190	NIEA 9313.53B	mg/L	
鐵	0.00336	0.00313	0.00290	0.00240	NIEA 9313.53B	mg/L	
錳	<0.00050	<0.00050	0.00050	0.00079	NIEA 9313.53B	mg/L	
鎳	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	NIEA 9313.53B	mg/L	
硒	<0.00050	<0.00050	<0.00050	<0.00050	NIEA 9313.53B	mg/L	
鈣	0.00898	0.0104	0.0136	0.0184	NIEA 9313.53B	mg/L	
鎂	0.00698	0.00345	0.00518	0.0160	NIEA 9313.53B	mg/L	
以下空白							

報告專用章
上準環境科技(股)公司
負責人：江光華
檢驗室主任：江光華



上準環境科技股份有限公司

SUN DREAM ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CORPORATION

報告專用章
上準環境科技(股)公司
負責人:江光華
檢驗室主任:江光華

樣品檢驗報告

專案編號: ERSD106B0632
報告編號: R1060632B11

檢驗項目	樣品名稱/採樣位置(座標)/採樣時間/樣品編號				檢驗方法	單 位	備 註
	No. 13	-	-	-			
	-	-	-	-			
	-	-	-	-			
	B1060922A	-	-	-			
檢 驗 值							
砷	0.0253	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鎘	<0.00050	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
總鉻	<0.00050	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
銅	<0.00200	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鉛	<0.00200	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
銀	<0.00050	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鋅	0.0128	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鐵	0.00220	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
錳	0.00063	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鎳	<0.00050	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
硒	<0.00050	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鈣	0.0491	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
鎂	0.0256	-	-	-	參 NIEA W313.53B	mg/L	
以下空白							

附錄四

Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: A critical review

M. Baalousha, B. Stolpe, J.R. Lead

Journal of Chromatography A 2011, 1218 ,4078 – 4103 (文獻 11)

Abstract

The use of flow field flow fractionation (FIFFF) for the separation and characterization of natural colloids and nanoparticles has increased in the last few decades. More recently, it has become a popular method for the characterization of manufactured nanoparticles. Unlike conventional filtration methods, FIFFF provides a continuous and high-resolution separation of nanoparticles as a function of their diffusion coefficient, hence the interest for use in determining particle size distribution. Moreover, when coupled to other detectors such as inductively coupled plasma-mass spectroscopy, light scattering, UV-absorbance, fluorescence, transmission electron microscopy, and atomic force microscopy, FIFFF provides a wealth of information on particle properties including, size, shape, structural parameters, chemical composition and particle-contaminant association. This paper will critically review the application of FIFFF for the characterization of natural colloids and natural and manufactured nanoparticles. Emphasis will be given to the detection systems that can be used to characterize the nanoparticles eluted from the FIFFFsystem, the obtained information and advantages and limitation of FIFFF compared to other fractionation and particle sizing techniques. This review will help users understand (i) the theoretical principles and experimental consideration of the FIFFF, (ii) the range of analytical tools that can be used to further characterize the nanoparticles after fractionation by FIFFF, (iii) how FIFFF results are compared to other analytical techniques and (iv) the range of applications of FIFFF for natural and manufactured NPs.

Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: A critical review

M. Baalousha, B. Stolpe, J.R. Lead

Journal of Chromatography A 2011, 1218 ,4078 – 4103 (文獻 11)

摘要

運用場流分離系統(FIFFF)分離並表徵天然膠體與天然奈米在近幾十年來快速增加，並成為人工奈米粒子的常用表徵方法。與傳統過濾法不同，場流分離系統可基於奈米粒子的擴散係數函數，提供奈米粒子連續連續且高效之分離效果，從而造就以此量測粒子大小之應用。

此外併合到其他檢測器時，例如電感耦合漿光、光散射、紫外線吸光度、螢光，穿透式電子顯微鏡和原子力顯微鏡，FIFFF 提供了豐富的奈米粒子信息，包括尺寸、形狀、結構參數，化學組成和顆粒污染物關聯。本文將審慎檢討 FIFFF 對天然膠體和天然人工奈米粒子表徵的應用性。

重點放 FIFFF 系統後之偵測器系統，其所獲致之資料、優點及限制，並與其他分離與粒徑量測系統比較。本檢討將可協助使用者了解(1) FIFFF 理論及實驗量重點(2)於 FIFFF 分離後可採用之分析工具以進一步特徵化奈米粒子(3)與其他分析技術的比較(4)天然及人工奈米粒子使用 FIFFF 的應用範圍。

Optimization of flow field-flow fractionation for the characterization of natural colloids

Hind El Hadri & Julien Gigault & Philippe Chéry & Martine Potin-Gautier &

Gaëtane Lespes.

Analytical and Bioanalytical Chemistry 2014, 406, 1639-1649 (文獻 12)

Abstract

The methodological approach used to robustly optimize the characterization of the polydisperse colloidal phase of drain water samples is presented. The approach is based on asymmetric flow field-flow fractionation coupled to online ultraviolet/visible spectrophotometry, multi-angle light scattering, and inductively coupled plasma mass spectrometry. Operating factors such as the amount of sample injected and the ratio between main-flow and cross-flow rates were considered. The evaluation of the injection and fractionation steps was performed considering the polydispersity index and the contribution to the polydispersity of the plate height, the recovery, the retention ratio and the size range of the fractionated colloids. This approach allows the polydispersity of natural colloid samples to be taken into consideration to achieve the most efficient and representative fractionation. In addition to the size characterization, elemental analysis was also evaluated using the recovery, precision, and limits of detection and quantification relative to a trace element of interest (copper) in drain water. To complete this investigation, the potential application of the methodology was assessed using several independent drain water samples from different soils. The contribution of the polydispersity to the plate height ranges from 4.8 to 8.9 cm with a mean precision of 6 %. The mean colloidal recovery was 81 ± 3 %, and the mean retention ratio was 0.043 – 0.062. The limits of detection and quantification for copper were 0.6 and 1.8 $\mu\text{g/L}$, respectively.

Optimization of flow field-flow fractionation for the characterization of natural colloids

Hind El Hadri & Julien Gigault & Philippe Chéry & Martine Potin-Gautier &

Gaëtane Lespes.

Analytical and Bioanalytical Chemistry 2014, 406, 1639-1649 (文獻 12)

摘要

本研究提出排放水樣分散膠體的表徵化優化方法。本方法由不對稱流場場流分離系統輔以線上紫外光/可見光偵測、多角度靜態光散射及感應耦合電漿質譜。操作因子如：樣品注入量、主要流量及縱軸流量比率都進行研究。樣品注入與分離效率由評估分布性指數及板高。對分布性之影響、回收狀態、分離膠體大小範圍與比率而定。本研究將自然膠體樣品分布作目標，以獲得最有效及代表性之分離。除了粒子大小表徵化外，元素分析結果亦用以評估排放水樣品分析回收狀態、精確度、偵測極限及定量特定微量元素(銅)。使用多個不同土壤之排放水樣為研究標的。在板高 4.8 ~ 8.9cm 時，分布性對平均精確度之影響度為 6%。平均膠體回收率為 $81 \pm 3\%$ ，平均殘留率為 0.043 ~ 0.062。銅之偵測極限為 0.6 及 1.8 $\mu\text{g/L}$ 。

Asymmetric flow-field flow fractionation - multidetection coupling for assessing colloidal copper in drain waters from a Bordeaux wine-growing area

Hind El Hadri & Gaëtane Lespes & Philippe Chéry & Martine Potin-Gautier

Anal Bioanal Chem. 2014, 406, 1111-1119 (文獻 13)

Abstract

The objective of this study was to show that online asymmetric flow-field flow fractionation (AFFFF)-multi-detection coupling is useful for studying environmental colloids in a qualitative and quantitative way. The utility of the technique was illustrated by assessing the colloidal fraction of the copper that was extracted from the soil, transferred to an aqueous phase and then transported by drain waters in a wine-growing area. To determine the size and composition of the colloids, AFFFF was coupled to UV, multi-angle light scattering and inductively coupled plasma mass spectrometry detectors. Colloidal copper represents between 20 and 60 % of the total copper in the sub 450 nm fraction of drain waters. Copper is mainly associated with organic-rich colloids with a size below 10 nm. It is also found in organo-mineral populations (as clay or (oxy) hydroxides), with sizes ranging between 10 and 450 nm.

Asymmetric flow-field flow fractionation - multidetection coupling for assessing colloidal copper in drain waters from a Bordeaux wine-growing area

Hind El Hadri & Gaëtane Lespes & Philippe Chéry & Martine Potin-Gautier

Anal Bioanal Chem. 2014, 406, 1111-1119 (文獻 13)

摘要

本研究顯示不對稱流場場流分離系統組合多種線上偵測器是環境膠體粒子定性與定量研究的有力工具。本研究透過研究銅由土壤萃取、經由水相傳輸再透過排水系統排放到整個葡萄種植區之現象了解。為定義膠體大小與組成，使用不對稱場流分離系統佐以紫外光偵測器、多角度靜態光散射偵測器及感應耦合電漿質譜儀進行研究。研究結果含銅膠體粒子佔經 450 nm 過濾後之水樣總銅量 20 ~ 60%。銅主要與膠體粒子小於 10 nm 之粒子產生作用。此外亦發現有機-無機物質族群(如粘土或氫氧化物)，分布大小自 10 至 450 nm 之間。

Influence of carrier solution ionic strength and injected sample load on retention and recovery of natural nanoparticles using Flow Field-Flow Fractionation

E. Neubauer, F. v.d. Kammer, T. Hofmann

Journal of Chromatography A 2011, 1218, 6763 – 6773 (文獻 14)

Abstract

Natural nanoparticles, including both natural organic matter (NOM) and inorganic mineral-like phases, have been broadly characterized using Flow Field-Flow Fractionation (FlowFFF). Calibration with polystyrene sulfonate (PSS) standards was generally carried out in order to determine the molecular weight distribution of the NOM, however if the analyzed sample has a different charge density compared to the PSS standards, the resulting molecular weight distribution may become meaningless. The presented study therefore investigates and compares the influences of ionic strength and sample load on the retention time and recovery of both PSS standards and natural nanoparticles from a variety of sources. The minimum ionic strength in the carrier solution and the maximum injected sample load required for satisfactory separation depend on the molecular weight of the PSS standards and on the nature of the NOM. The degree to which results depend on conditions and parameters within the FlowFFF varies significantly between the different natural nanoparticle samples. We found that it may be necessary to calibrate the channel under different conditions from the actual sample runs. Under well controlled and documented conditions this could represent an important move away from the paradigm of “same conditions for standards and sample”. From all conditions tested, the most reliable molecular weight calibrations were obtained at elevated ionic strengths in the carrier solution (>0.04 M) and low injected mass of PSS. However, even under these optimized conditions variations of up to 20% occur in the calculated molecular weights, and the recovery of NOM falls by up to 50% at high ionic strengths. Many applications aim for both correct molecular weight distribution and the measurement of low concentrations of elements bound to natural nanoparticles. We conclude, however, that finding conditions that are equally optimal for both of these analytical tasks is not always feasible.

Influence of carrier solution ionic strength and injected sample load on retention and recovery of natural nanoparticles using Flow Field-Flow Fractionation

E. Neubauer, F. v.d. Kammer, T. Hofmann

Journal of Chromatography A 2011, 1218, 6763 – 6773 (文獻 14)

摘要

天然奈米粒子包括天然有機物及無機類礦物物質已廣泛地用場流流場分離系統表徵化。通常使用聚苯乙烯磺酸鹽(PSS)標準品校正以獲得有機物分子量及分布。但是如果有機物與 PSS 帶電狀態不同，則所得分子量量測結果即變得毫無意義。

本研究探討並比較離子強度、樣品注入量與回收率對 PSS 及不同天然奈米粒子分析之影響性。形成滿意分離所需載流系統最小離子強度與最大樣品注入量係由 PSS 標準品與天然有機物分子量所決定。不同天然奈米粒子樣品在流場系統之需要程度均不同，因此需要透過分析真實樣品於不同狀態下之反應以獲得一共通標準。

由研究測試結果，最可靠之分子量校正需構築於移動相較高之離子強度(> 0.04M)及 PSS 低注入量。甚而在此優化條件下，分子量量測變異性仍達 20%，天然物在高離子強度條件下，回收率約 50%。許多應用之目的在於正確量測分子量分布並完成天然奈米粒子上含有之微量元素分析。然而，我們的結論為發現同樣為這兩種分析需求之最佳條件並不總是可行的。

Natural organic matter and iron export from the Tanner Moor, Austria

Franz Jirsa, Elisabeth Neubauerb, Richard Kittingera, Thilo Hofmannb, Regina Krachlera,

Frank von der Kammerb, Bernhard K. Kepplera

Limnologia 2013, 43, 239-244 (文獻 15)

Abstract

Samples from a pristine raised peat bog runoff in Austria, the Tannermoor creek, were analysed for their iron linked to natural organic matter (NOM) content. Dissolved organic carbon $< 0.45 \mu\text{m}$ (DOC) was 41 – 64 mg/L, iron 4.4 – 5.5 mg/L. Samples were analysed applying asymmetric field flow fractionation (AsFIFFF) coupled to UV – vis absorption, fluorescence and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The samples showed an iron peak associated with the NOM peak, one sample exhibiting a second peak of iron independent from the NOM peak. As highland peat bogs with similar climatic conditions and vegetation to the Tanner Moor are found throughout the world, including areas adjacent to the sea, we examined the behaviour of NOM and iron in samples brought to euhaline (35‰) conditions with artificial sea salt. The enhanced ionic strength reduced NOM by 53% and iron by 82%. Size exclusion chromatography (SEC) of the samples at sea-like salinity revealed two major fractions of NOM associated with different iron concentrations. The larger one, eluting sharply after the upper exclusion limits of 4000 – 5000 g/mol, seems to be most important for iron chelating. The results outline the global importance of sub-mountainous and mountainous raised peat bogs as a source of iron chelators to the marine environment at sites where such peat bogs release their run-offs into the sea.

Natural organic matter and iron export from the Tanner Moor, Austria

Franz Jirsa, Elisabeth Neubauerb, Richard Kittingera, Thilo Hofmannb, Regina Krachlera,

Frank von der Kammerb, Bernhard K. Kepplera

Limnologia 2013, 43, 239-244 (文獻 15)

摘要

樣品來自奧地利 Tannermoor 流域原始泥炭沼澤溢流水，量測其含鐵之天然有機物。< 0.45m 溶解有機碳為 41 ~ 64 mg/L，鐵含量 4.4 - 5.5 mg/L。運用不對稱流場場流分離系統(AsFIFFF)併同紫外-可見光吸收螢光及感應耦合電漿質譜儀分析樣品。分析結果顯示其中一個鐵峰與天然有機物峰相關，另一鐵峰則無關。基於 TannerMoor 高地泥炭沼澤之氣候與植被條件可廣見於全球。樣品以人工海鹽鹽化至 35%，並以此研究天然有機物與鐵的互動模式。強化離子強度使天然有機物降低 53%，鐵降低 82%。SEC 樣品分離結果顯示二個主要天然有機物峰含有不同濃度之鐵。較大峰似乎是鐵整合最重要部份。此研究結果顯現近山或山區含有泥炭沼澤對於溢流水中鐵整合作用之全球重要性。

Using FLOWFFF and HPSEC to determine trace metalecolloid associations in wetland runoff

Elisabeth Neubauer, Frank v.d. Kammer, Thilo Hofmann

Water Research 2013, 47, 2757-2769 (文獻 16)

Abstract

Natural organic matter (NOM) and iron colloids can coexist in surface water. These colloids might exhibit different affinities to metals and metalloids. Previously it has been shown, that organic and inorganic colloids in the low nanometer range can be fractionated using Flow Field-Flow Fractionation analyzes (FlowFFF), but it is not yet understood how the presence of inorganic colloids influences results obtained by High Performance Size Exclusion Chromatography (HPSEC). Studies that compare the use of these size-separation techniques for the analysis of organic and inorganic colloids and associated elements are needed in order to interpret results obtained by either of these methods. Therefore, associations between colloids from a small stream draining a wetland area and a selected range of elements (Fe, Al, Ti, Pb, Cu, Ni, As, U, and Rare Earth Elements (REE)) have been investigated. FlowFFF analyzes and HPSEC analyzes were combined with ultrafiltration, functional group titration and arsenic speciation analysis. NOM and, in a sample with a pH > 5.2, slightly larger iron organo-mineral colloids, were present in the < 0.2 μ m fraction in the surface water. Both exhibited notably different affinities for trace elements. Cu, Ni, Al, and the REE all showed similar modes (i.e. peak maxima) and size distributions to the NOM, while Pb and As showed a preferential association with iron organo-mineral colloids. It was not possible to differentiate between NOM and iron-organo mineral colloids with HPSEC. The differences in the results regarding the apparent molecular mass distributions obtained by FlowFFF and HPSEC are discussed.

Using FLOWFFF and HPSEC to determine trace metal-colloid associations in wetland runoff

Elisabeth Neubauer, Frank v.d. Kammer, Thilo Hofmann

Water Research 2013, 47, 2757-2769 (文獻 16)

摘要

天然有機物(NOM)與鐵膠體可共存於地表水中。這些膠體對於重金屬及準金屬有不同親和力。依先前研究，有機及無機膠體在粒徑小尺寸範圍可運用流場分離系統分析，但對於無機膠體如何影響 High Performance Size Exclusive Chromatography (HPSEC)仍不清楚。本研究將使用粒徑分離技術分析有機、無機膠體及相關之元素分析並進行比較。樣品取自溼地排放水，分析膠體及特定元素(Fe, Al, Ti, Pb, Cu, Ni, As, U,及稀土元素)。場流分離系統及 HPSEC 系統均併用超過濾。官能基滴定及砷形態分析。天然有機物，PH > 5.2 及稍大的鐵有機礦物質膠體存在於地表水下方 < 0.2mm 水層。二者對於微量重金屬之親和力不同。

Cu, Ni, Al 及稀土元素反應類似(即峰最大值)，在天然有機物粒徑中之分布狀態亦類似。鉛及砷則顯現出與鐵-有機-礦物質膠體結合之傾向。運用 HPSEC 系統無法區別出天然有機物及鐵-有機-礦物質膠體。

場流系統與 HPSEC 系統分析結果差異性由分子量分布進行討論。

Uptake of Cd(II) and Pb(II) by microalgae in presence of colloidal organic matter from wastewater treatment plant effluents

*Isabelle A.M. Worms a, Jacqueline Traber b, David Kistler b, Laura Sigg b,
Vera I. Slaveykova*

Environmental Pollution 2010, 158, 369 – 374 (文獻 17)

Abstract

The present study addresses the key issue of linking the chemical speciation to the uptake of priority pollutants Cd(II) and Pb(II) in the wastewater treatment plant effluents, with emphasis on the role of the colloidal organic matter (EfOM). Binding of Cd(II) and Pb(II) by EfOM was examined by an ion exchange technique and flow field-flow fractionation coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry in parallel to bioassays with green microalga *Chlorella kesslerii* in ultrafiltrate (<1 kDa) and colloidal isolates (1 kDa to 0.45 μ m). The uptake of Cd by *C. kesslerii* was consistent with the speciation analysis and measured free metal ion concentrations, while Pb uptake was much greater than that expected from the speciation measurement. Better understanding of the differences in the effects of the EfOM on Cd(II) and Pb(II) uptake required to take into account the size dependence of metal binding by EfOM.

Uptake of Cd(II) and Pb(II) by microalgae in presence of colloidal organic matter from wastewater treatment plant effluents

*Isabelle A.M. Worms a, Jacqueline Traber b, David Kistler b, Laura Sigg b,
Vera I. Slaveykova*

Environmental Pollution 2010, 158, 369 – 374 (文獻 17)

摘要

本研究著眼於研究廢水處理廠放流水中有機膠體物質(EfOM)吸附優先污染物 Cd(II) 及 Pb(II)之關鍵因子及路徑。EfOM 與 Cd(II) 及 Pb(II)之結合以離子交換技術及場流分離合併感應耦合電漿質譜儀並行以綠藻 *Chlorella kesslerii* 超濾液(<1 kDa)與膠體株(1 kDa 至 0.45 mm)作生物測定。Cd 被 *C. kesslerii* 攝入與物種分析及游離重金屬濃度分析一致。Pb 的吸收比從 speciation measurement 的量測大。要進一步了解 EfOM 對 Cd(II)及 Pb(II)攝入之差異性，需考量 EfOM 與金屬粒子鍵結與粒徑大小之關聯性。

Colloidal organic matter from wastewater treatment plant effluents: Characterization and role in metal distribution

Isabelle A.M. Worms, Zsofia Al-Gorani Szigeti, Stephane Dubascoux, Gaetane Lespes, Jacqueline Traber, Laura Sigg, Vera I. Slaveykova

Water Research 2010, 44, 340-350 (文獻 18)

Abstract

Colloidal organic matter from wastewater treatment plants was characterized and examined with respect to its role in metal distribution by using tangential flow ultrafiltration, liquid chromatography coupled with organic carbon and UV detectors, and an asymmetrical flow field-flow fractionation (AFIFFF) multidetection platform. Results revealed that a humic-like fraction of low aromaticity with an average molar mass ranging from 1600 to 2600 Da was the main colloidal component. High molar mass fractions (HMM), with molar mass ranges between 20 and 200 kDa, were present in lower proportions. Ag, Cd, Cu, Cr, Mn and Zn were found mainly in the dissolved phase (<0.45 μ m) and their distribution between colloidal and truly dissolved fractions was strongly influenced by the distribution of dissolved organic carbon. AFIFFF coupled to ICP-MS showed that Ag, Cd, Cu, Cr, Mn and Zn associate to the low molar mass fraction of the colloidal pool, whereas Al, Fe and Pb were equally bound to low and high molar mass fractions.

Colloidal organic matter from wastewater treatment plant effluents: Characterization and role in metal distribution

Isabelle A.M. Worms, Zsafia Al-Gorani Szigeti, Stephane Dubascoux, Gaetane Lespes, Jacqueline Traber, Laura Sigg, Vera I. Slaveykova
Water Research 2010, 44, 340-350 (文獻 18)

摘要

廢水處理廠放流水中有機膠體物質以切向流超過濾、液相層析、有機碳、紫外光檢測器及不對稱流場場流分離系統(AFIFFF)進行其上重金屬分布分析研究。研究結果顯示，低芳香性分子量約 1,600 至 2,600 Da 之類腐植質部份為膠體主要成份。高分子量物質，分子量自 20 至 200 kDa，含量低。Ag, Cd, Cu, Cr, Mn 及 Zn 主要存於溶解相(<0.45 μm)。其於膠體及溶解相之分布由溶解性有機碳所影響。AFIFFF 與 ICP-MS 的併用分析顯示 Ag, Cd, Cu, Cr, Mn 及 Zn 與膠體之低分子量部份有關；Al, Fe 及 Pb 被同樣結合於低與高分子量部份。

On-line and off-line quantification of trace elements associated to colloids by As-Fl-FFF and ICP-MS

S. Dubascoux, I. Le Hécho, M. Potin Gautier, G. Lespes

Talanta, 2008, 77(1), 60-65 (文獻 19)

Abstract

A quantification procedure of trace elements during colloid size fractionation was developed and validated. This procedure is based on the hyphenation between Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (As-Fl-FFF) and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS). The optimisation of the procedure was performed on a soil leachate spiked with six trace elements selected for their environmental and health impact (As, Cd, Sb, Se, Sn and Pb). The elements in the spiked sample were on-line monitored during the fractionation. The validation was carried out by comparison with a second off-line quantification procedure based on fraction collection and total element analysis by ICP-MS. This off-line one was previously validated using reference materials. Finally, the analytical performances of the two procedures were compared.

On-line and off-line quantification of trace elements associated to colloids by As-Fl-FFF and ICP-MS

S. Dubascoux, I. Le Hécho, M. Potin Gautier, G. Lespes

Talanta, 2008, 77(1), 60-65 (文獻 19)

摘要

本研究在於開發並驗證膠體粒徑分離與其微量元素分析定量方法。方法主要基於不對稱流場場流分離系統(As-Fl-FFF)及感應耦合電漿質譜儀。以土壤滲出液添加六種對環境及健康具影響之微量元素(As, Cd, Sb, Se, Sn 及 Pb)進行分析方法優化研究。在分離過程中，六種微量元素均作線上及時監測。再由分離後收集之樣品以感應耦合電漿質譜儀作離線定量分析以為驗證。最後比較二者差異。

Optimisation of asymmetrical flow field flow fractionation for environmental nanoparticles separation

S. Dubascouxa, F. Von Der Kammerb, I. Le Héchoa, M. Potin Gautier a, G. Lespesa

Jouranal of Chromatography A, 2008, 1206, 160-165 (文獻 20)

Abstract

The fractionation of natural nanoparticles by Asymmetrical FlowField FlowFractionation (As-Fl-FFF) was optimised by considering the following operating conditions: ionic strength, surfactant concentration and crossflow rate. The method performances such as fractionation recovery and fractionation efficiency were evaluated on a stable solution of colloidal-size natural inorganic particles. The online multi-detection by ultraviolet/visible spectrophotometer (UV) and multi-angle laser light scattering (MALLS) provided the monitoring of the sample during the separation and the evaluation of the fractionation efficiency. The lowest ionic strength and surfactant concentrations (i.e. 10^{-3} mol/L NH_4NO_3 and 3×10^{-4} mol/L SDS) allowed to obtain the highest sample recovery and lowest loss of the largest particles. The crossflow rate was investigated in order to avoid significant membrane – sample interaction. The applicability of the fractionation in optimised conditions was evaluated on a natural soil leachate, which was filtrated with different filter cut-offs. Filtration efficiency was stressed by the decrease of the large unfractionated particle influence in the void volume. For the first time, robust operating conditions were proposed to well size-fractionate and characterize soil nanoparticles within a single multi-detection analysis.

Optimisation of asymmetrical flow field flow fractionation for environmental nanoparticles separation

S. Dubascouxa, F. Von Der Kammerb, I. Le Héchoa, M. Potin Gautier a, G. Lespesa

Jouranal of Chromatography A, 2008, 1206, 160-165 (文獻 20)

摘要

不對稱流場場流分離系統進行天然奈米粒子分離最佳化研究所需考慮的操作條件。離子強度、界面活性劑濃度及縱向流流量。在分離度上，以穩定的膠體尺寸之天然無機粒子溶液作為樣品，評估回收率及分離效益以評斷方法優劣。線上多重偵測系統包括紫外/可見光光度計、多角度靜態光散射可隨時監看並評估分離效率。最低的離子強度與界面活性劑濃度(即 10^{-3} mol/L NH_4NO_3 及 3×10^{-4} mol/L SDS)可提供最高的樣品回收率及最少的樣品損耗。縱向流流速研究以避免薄膜-樣品的交互作用。優化後之分離方法以土壤滲出液測試可用性。

Characterization of hematite and its interaction with humic material using flow field-flow fractionation

Mark P. Petteys, Martin E. Schimpf

Journal of Chromatography A, 1998, 816, 145-158 (文獻 21)

Abstract

The ability of flow field-flow fractionation (FIFFF) to characterize the interaction of organic matter with mineral colloids is demonstrated. Colloidal hematite is first prepared and the size distribution is characterized by scanning electron microscopy, FIFFF, and multi-angle light scattering (MALS). Next, the interaction of well-characterized humic and fulvic acids with the colloidal hematite is studied by separating and quantifying the adsorbed and free acids using FIFFF. Both kinetic and thermodynamic information is obtained, including adsorption isotherms. The adsorptive capacity of hematite is greater for humic acid compared to fulvic acid, probably due to the formation of multiple adsorption layers.

Characterization of hematite and its interaction with humic material using flow field-flow fractionation

Mark P. Petteys, Martin E. Schimpf

Journal of Chromatography A, 1998, 816, 145-158 (文獻 21)

摘要

本研究驗證流場場流分離系統可表徵有機物與無機膠體之交互作用。三氧化二鐵膠體製備後，運用掃描式電子顯微鏡、流場場流分離系統及多角度靜態光散射分子大小分布。再運用流場系統分離並定量吸附游離酸以推導腐植酸與富里酸與三氧化二鐵膠體之交互作用關係，包括動力學、熱力學及吸附等溫線。三氧化二鐵膠體對腐植酸之吸附力大於富里酸，可能是由於多個吸附層所致。

The scattering of light and the radial distribution function of high polymer solutions

Bruno H. Zimm

J. Chem. Phys. 16, 1093 (1948)(文獻 22)

Abstract

A radial distribution function of polymer segments in a solution of a high polymer may be defined as a quantity proportional to the density of segments at a given distance from some given segment. An approximate expression is derived for this function for dilute solutions of chain molecules of moderate degrees of polymerization. By Fourier inversion a simple expression for the intensity of light scattering, as a function of angle and concentration, may be obtained.

The scattering of light and the radial distribution function of high polymer solutions

Bruno H. Zimm

J. Chem. Phys. 16, 1093 (1948)(文獻 22)

摘要

在高聚合物的溶液中聚合物鏈段之半徑分佈函數可以被定義為在某些特定鏈段之特定距離下與密度成正比。意指可利用此函數導出稀溶液中所含之聚合物的聚合程度。透過傅立葉轉換可得到簡單表達光散射強度之角度及濃度的函數。

Apparatus and methods for measurement and interpretation of the angular variation of light scattering; Preliminary results on polystyrene solutions.

Bruno H. Zimm

J. Chem. Phys. 16, 1099 (1948)(文獻 23)

Abstract

A photoelectric apparatus for the measurement of the angular dependence of light scattering from solutions is described in detail and its performance is discussed. Methods of calculation for the determination of the average extension of the scattering molecules from the data are described. Data are presented for two fractions of polystyrene in various solvents, showing the effect of changing solvent power and temperature, and also confirming a theoretically derived formula for the concentration dependence of the scattering.

Apparatus and methods for measurement and interpretation of the angular variation of light scattering; Preliminary results on polystyrene solutions.

Bruno H. Zimm

J. Chem. Phys. 16, 1099 (1948)(文獻 23)

摘要

將以光電裝置詳細說明溶液中之光散射的角度依賴性量測，並對其性能進行討論。敘述如何決定數據計算方法於散射分子的平均延伸上。數據呈現在各種溶劑條件下之聚苯乙烯的兩組分液樣品，顯示出改變溶劑及溫度的影響，並確認散射光理論推導式與濃度間的依存性。

Light scattering and the absolute characterization of macromolecules

Philip J Wyatt

Analytica Chimica Acta, 272 (1993) 1-40 (文獻 24)

Abstract

Light scattering (LS) has returned to the arsenal of analytical chemists with an impact scarcely imaginable a decade ago. Several important developments have restored this absolute measurement technique to its present status. The advent of HPSEC (high-performance size exclusion chromatography) and a variety of other techniques for macromolecular separation were of particular significance in stimulating the application of low angle laser light scattering (LALLS) for the determination of polymer molecular weights, their averages, and their distributions. However, it has been the more recent introduction of on-line scattering measurements over a broad range of scattering angles (differential LS) that has permitted many important deductions of light scattering theory to be extracted and applied for the *first time*. These include determination of the mean square radius and its various averages, molecular conformation and structure, branching ratios, better characterizations of co-polymers, as well as those polymers soluble only at high temperatures. In addition, some instrumental broadening effects now may be measured directly. Tremendous advances in personal computers, together with flexible and versatile data collection and processing software, have played significant roles as well. This paper summarizes the theoretical basis of the measurements and presents some examples of the application of this theory for the deduction of molecular parameters from unfractionated polymer solutions. In passing, the operating principles of differential refractive index detectors (the most important and commonly used detection system for HPSEC) are described, as well as their importance to differential LS measurements. The general operating characteristics of modern LS detectors / photometers with their associated software and, most importantly, the combination of on-line LS detection and HPSEC separation is discussed with numerous examples of its analytical capabilities.

Light scattering and the absolute characterization of macromolecules

Philip J Wyatt

Analytica Chimica Acta, 272 (1993) 1-40 (文獻 24)

摘要

光散射(LS)再次受到分析化學領域的重視，且於近十年來產生衝擊性的影響。數種針對絕對量測技術的重要發展已相當活躍。高效能粒徑篩析層析法 (high-performance size exclusion chromatography, HPSEC)和多種大分子分離技術的出現，促進小角度雷射光散射(low angle laser light scattering, LALLS)於分析聚合物的分子量、平均值及分佈上的應用。然而，將較廣範圍的散射角度(differential LS)引入線上光散射測量系統中，且符合眾多光散射理論推演，更為首次實際應用分析。這些包含共聚物及只在高溫下溶解的聚合物於均方半徑及其各種平均值、分子構型、分子結構、分支比例及特性鑑定。此外，一些儀器增寬效應現在可以直接量測。個人電腦的快速進展，配合靈活及通用的數據收集及分析軟體使用，皆於此領域扮演相當重要的角色。本文總結測量的理論基礎，及使用此理論量測推演聚合物分子參數的實際應用例子。同時敘述差示折射率檢測器的操作原理(高效能粒徑篩析層析法中最重要也最常使用的檢測系統)，及其對光散射量測系統的重要性。光散射偵測器/光度計的一般操作特性及相關軟體，更重要的是結合線上光散射偵測器及高效能粒徑篩析層析法於應用及分析實例的討論。