

水中氨基甲酸鹽類化合物檢測方法—液相層析／螢光偵測器法

中華民國103年9月19日環署檢字第1030077825號公告

自中華民國104年1月15日生效

NIEA W635.52B

一、方法概要

水樣經過濾後，取適當體積直接注入高效能液相層析儀，使用逆相層析管柱及梯度沖提法分離出各種氨基甲酸鹽及代謝物，在 95°C 下經氫氧化鈉溶液水解生成甲基胺，甲基胺再與鄰苯二甲醛 (o-phthalaldehyde, 簡稱 OPA) 及 2-巰硫乙醇 (2-mercaptoethanol) 或 N,N-二甲基-2-巰硫乙胺鹽酸鹽 (N,N-dimethyl-2-mercaptoethylamine hydrochloride) 反應，生成具強螢光性之衍生物，最後再以螢光偵測器測其螢光強度，以求得水樣中各種氨基甲酸鹽之濃度。

二、適用範圍

本方法適用於飲用水、地面水體、地下水體及放流水中納乃得 (Methomyl)、安丹 (Propoxur)、加保扶 (Carbofuran 與其代謝物 3-hydroxycarbofuran)、滅必蝨 (MIPC)、丁基滅必蝨 (BPMC)、加保利 (Carbaryl)、得滅克 (Aldicarb 與其代謝物 Aldicarb sulfoxide、Aldicarb sulfone)、滅賜克 (Methiocarb) 及歐殺滅 (Oxamyl) 之檢測，其他氨基甲酸鹽類化合物如符合本方法之品質規範亦適用之。

三、干擾

- (一) 本方法之干擾可能來自溶劑、試劑、玻璃器皿及其他處理過程所接觸器具之污染。這些干擾會導致液相層析圖基線之上移。因此，必須以試劑水進行系統空白試驗，以證實在此分析條件下，所有的物質及器具均未受污染。
- (二) 玻璃器皿必須徹底地清洗以避免干擾。使用過之玻璃器皿先用清潔劑浸泡清洗，再依次以自來水與試劑水淋洗，乾燥後密封其開口並放置於乾淨的環境中。
- (三) 使用高純度的試劑及溶劑可將干擾程度減至最小，必要時可使用全玻璃製之蒸餾系統將溶劑純化。
- (四) 使用高效能液相層析儀分析高濃度樣品後，緊接著分析另一低濃度樣品時，可能會造成干擾。必要時可分析高濃度樣品後注射一針或數針甲醇，以證實針頭未殘留污染物。

- (五) 水樣中極性與待測物類似之污染物可能造成干擾，其干擾程度依水樣來源之不同而改變。因此，必要時應使用質譜儀或不同靜相的層析管柱再予以確認。

四、設備及材料

- (一) 採樣瓶：棕色玻璃材質，50 mL 或其他適當體積，附螺旋瓶蓋，其內襯為鐵氟龍墊片。
- (二) 量瓶：棕色硼矽玻璃材質，10、25 mL 或適當體積。
- (三) 天平：可精稱至 0.1 mg。
- (四) 動相與管柱後衍生反應溶液過濾裝置：使用直徑 47 mm 且孔徑為 0.45 μm 之 Millipore Type HA 濾片，或同功能者。
- (五) 可拋棄式塑膠注射針：容量至少 5 mL。
- (六) 拋棄式過濾膜：Millipore 0.22 μm 之 PVDF 薄膜，Cat #：SLGV 013 NL 或其他功能相同者，用於過濾樣品與檢量線標準溶液。
- (七) 排煙櫃。
- (八) 高效能液相層析儀
1. 樣品自動注入裝置（選擇性）。
 2. 高壓幫浦：可耐壓力 4000 psi。
 3. 管柱溫控裝置：30 ~ 40°C。
 4. 層析管柱：Waters Carbamate Analysis Column，3.9 × 150 mm，粒徑 4 μm ；或同級品。
 5. 管柱後衍生反應器：
 - (1) 管路：為 Polyetheretherketone (PEEK) 或鐵氟龍 (PTFE) 材質
 - (2) 2 具輸送泵：流速範圍涵括 0.1 至 1.0 mL/min
 - (3) T 型接頭 (mixing tees)
 - (4) 2 套容積各為 1.0 mL 之滯留管 (delay coils)
 - (5) 恆熱器 (溫度可達 95°C)
 6. 螢光偵測器。
 7. 資料收集處理系統。

五、試劑

- (一) 試劑水：不含有機物之去離子水，或符合前述規格之市售純水。
- (二) 甲醇：HPLC 級。
- (三) 乙腈：HPLC 級。
- (四) 0.075N 氫氧化鈉溶液：溶解約 3 g 氫氧化鈉至 1 L，或以試劑水稀釋 4 mL 之 50% 氫氧化鈉溶液 (Fisher Cat. #: SS254-500 或同級品) 至 1 L。使用前需過濾及除氣。
- (五) 2-巰硫乙醇：液體，具惡臭，建議於抽氣櫃下操作。
- (六) 0.05N 四硼酸鈉 (sodium tetraborate) 溶液：溶解約 19.1g 十水合四硼酸鈉 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 於適量試劑水中，再稀釋至 1 L。若使用攪拌子攪拌，可於 2 小時內溶解。使用前需過濾及除氣。
- (七) N,N-二甲基-2-巰硫乙胺鹽酸鹽 (N, N'-dimethyl-2-mercaptoethylamine hydrochloride)：固體，建議於抽氣櫃下操作。
- (八) OPA 反應溶液：先溶解 100 ± 10 mg 鄰苯二甲醛 ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{CHO})_2$) 於 10 mL 甲醇中，再以 0.05N 四硼酸鈉溶液定容至 1 L，續加入 1 mL 之 2-巰硫乙醇或 2 ± 0.2 g 之 N,N-二甲基-2-巰硫乙胺鹽酸鹽，均勻混合之。本溶液對光敏感，應儲放於避光容器中，於使用前再配製，雖然此溶液在配製後至少 36 小時內穩定，但隨實驗室環境不同而有所改變，因此建議每次使用時重新配製。
- (九) 保存試劑水：加入適量檸檬酸二氫鉀 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{KO}_7$) 與硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 至 1 L 之試劑水，使其濃度分別為 9.2 ~ 9.5 g/L 與 80 ~ 320 mg/L。
- (十) 待測物儲備標準溶液：各別溶解約 0.01 g 標準品於適量甲醇中，分別定容至 10 mL，配得各標準品濃度約 1,000 mg/L。將儲備溶液移至棕色樣品瓶中，置於 -10°C 以下暗處貯存。市售之各種濃度儲備溶液若其濃度經認證，亦可使用。
- (十一) 中間儲備溶液：將各待測物儲備標準溶液混合後配得濃度皆為 10 mg/L 或其他適當濃度的中間儲備溶液，建議之稀釋溶劑為甲醇，置於 -10°C 暗處貯存，可放 6 個月。
- (十二) 檢量線標準溶液：使用保存試劑水稀釋中間儲備溶液，配製適當濃度後，再以 0.22 μm 拋棄式過濾膜過濾，置於避光樣品瓶。

六、採樣及保存

- (一) 採樣瓶預先添加適當之檸檬酸二氫鉀，依照採樣瓶體積計算，使檸檬酸二氫鉀濃度為 9.2 ~ 9.5 g/L，樣品之 pH 值約為 3.8，可防止 oxamyl、3-hydroxycarbofuran、carbaryl 以及 methiocarb 水解。若水樣中含有餘氯，則應預先於採樣瓶中添加硫代硫酸鈉，依照採樣瓶體積計算，使硫代硫酸鈉濃度為 80 ~ 320 mg/L，若水樣含有餘氯，則 aldicarb 與 methiocarb 將快速地分解。採樣時不可預洗採樣瓶，裝滿水樣後密封之，激烈搖盪 1 分鐘。
- (二) 採樣後、運送過程中及貯放冰箱之溫度須保持在 $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，則水樣中各種氨基甲酸鹽及代謝物穩定期可達 28 天，需在 28 天內完成分析。

七、步驟

- (一) 高效液相層析儀建議分析條件(可視需要調整)：

1. 管柱：Waters Carbamate Analysis Column， 3.9×150 mm，粒徑 4 μm ，溫度控制於 35°C ，流速 1.5 mL/min。

移動相與梯度：

0 分鐘 甲醇/水 = 12/88

4 分鐘 甲醇/水 = 12/88

4.1 分鐘 甲醇/水/乙腈 = 16/68/16

32.1 分鐘 甲醇/水/乙腈 = 35/30/35

33.5 分鐘 甲醇/水 = 12/88

38.0 分鐘 甲醇/水 = 12/88

2. 注射體積：200 μL 。
3. 螢光偵測器：激發波長 340 nm，發射波長 465 nm。
4. 管柱後衍生反應器：

(1) 水解反應：0.075 M 氫氧化鈉溶液之流速 0.5 mL/min，溫度 95°C 。

(2) 衍生反應：OPA 反應溶液之流速 0.5 mL/min。

- (二) 檢量線製備

1. 配製至少 5 種濃度之檢量線標準溶液，其中最低濃度宜與方法定量極限之濃度相當，且在偵測器的線性濃度範圍內。檢測飲用水及地下水體時，建議之檢量線濃度範圍為 2 到 20 ng/mL；檢測地面水體及放流水時，建議之檢量線濃度範圍為 20 到 200 ng/mL。
2. 分析完成後，繪製待測物濃度(ng/mL)對應波峰面積之檢量線圖，線性相關係數應大於或等於 0.995，或檢量線各點待測物面積相對於濃度之校正因子(Calibration Factor, CF)，其相對標準偏差(Relative Standard Deviation, RSD)小於或等於 30%。
3. 檢量線確認：檢量線製備完成，應即以第二來源標準品配製接近檢量線中點濃度進行確認（若無第二來源標準品時，至少應使用另一獨立配製之標準品），其相對誤差值應在 $\pm 30\%$ 以內。

(三) 水樣分析

1. 將約 2 mL 樣品置於可拋棄式塑膠注射針，下方接 0.22 μm 拋棄式過濾膜，過濾後將水樣置於避光樣品瓶中。上機方式同檢量線標準溶液之製作方式。
2. 水樣濃度超過檢量線之線性範圍時，以保存試劑水稀釋適當倍數後再上機分析。
3. 當無法確認待測物時，可使用質譜儀或其他層析管柱再確認。

八、結果處理

- (一) 由檢量線求得待測化合物之檢出濃度 A，依下列公式計算樣品濃度：

$$\text{水體中待測物濃度(ng/mL)} = A \times D$$

A：由檢量線求得之化合物檢出濃度(ng/mL)

D：水樣稀釋倍數

- (二) 水樣中加保扶濃度為加保扶及其代謝物 (3-hydroxycarbofuran) 之總合；水樣中得滅克濃度為得滅克及其代謝物 (Aldicarb sulfoxide、Aldicarb sulfone) 之總合。

九、品質管制

- (一) 檢量線：檢量線之相關係數應大於或等於 0.995，或校正因子之相對標準偏差(RSD)小於或等於 30%。

- (二) 檢量線查核：每批次或每 10 個樣品須查核檢量線之適用性，所測得濃度之相對誤差值不應超過 $\pm 30\%$ 。
- (三) 空白分析：每批次或每 10 個樣品至少執行一次空白分析，空白分析值應小於方法偵測極限之 2 倍。
- (四) 重複分析：每批次或每 10 個樣品至少執行一次重複分析，其相對差異百分比應在 30%。
- (五) 查核樣品分析：每十個或每批樣品至少執行一次查核樣品分析，其回收率應於 70~130%範圍內。
- (六) 添加標準品分析：每十個或每批樣品至少執行一次添加標準品分析，其回收率應於 60~140%範圍內。
- (七) 待測物之滯留時間須落在當天檢量線標準品（各點平均）或查核標準品的滯留時間之 $\pm 2.5\%$ 範圍之內。

十、精密度及準確度

試劑水及放流水中各種氨基甲酸鹽及代謝物之方法偵測極限詳如表一。單一實驗室分析不同類別水樣添加標準品之精密度與準確度詳如表二~表四。

十一、參考資料

- (一) U.S. EPA. Measurement of N-methylcarbamoxyloximes and N-methylcarbamates in water by direct aqueous injection HPLC with postcolumn derivatization. Method 531.2, 2001.
- (二) 張玉鈴、江木泳，水中氨基甲酸鹽農藥檢驗技術建立執行報告，環境檢驗所調查研究年報，中華民國 83 年。

表一 各種氨基甲酸鹽及代謝物之滯留時間及方法偵測極限

化合物	滯留時間 (min)	方法偵測極限(ng/mL)	
		試劑水	放流水
Aldicarb sulfoxide 得滅克代謝物	16.1	0.12	1.1
Aldicarb sulfone 得滅克代謝物	16.9	0.1	2.2
Oxamyl 歐殺滅	17.5	0.17	0.84
Methomyl 納乃得	18.5	0.13	1.7
3-hydroxycarbofuran 加保扶代謝物	23.5	0.46	5.1
Aldicarb 得滅克	26.7	0.25	1.9
Propoxur 安丹	29.4	0.2	2.4
Carbofuran 加保扶	29.7	0.2	5.4
Carbaryl 加保利	30.9	0.16	3.9
MIPC 滅必蝨	32.5	0.39	3.3
BPMC 丁基滅必蝨	34.8	0.72	2
Methiocarb 滅賜克	35.4	0.94	3.3

註：層析管：YMC-Park ODS-AQ，150 mm × 4.6 mm，粒徑 5 μ m，溫度 42 $^{\circ}$ C，梯度變化：0→3 分鐘，維持甲醇/水= 0/100，3→31.5 分鐘，甲醇 0→70%，31.5→32 分鐘，甲醇 70→100%，32→39 分鐘，維持甲醇 100%，39→50 分鐘，甲醇 100→0%，螢光偵測器：激發波長 230 nm，發射波長 450 nm，管柱後衍生反應器溫度：95 $^{\circ}$ C。(來自參考資料 2)

表二 單一實驗室試劑水添加不同濃度標準品之精密度與準確度(n=7)

化合物	添加濃度 (ng/mL)	平均回收率±標準偏差 (%)
納乃得	1.25	93.5 ± 3.3
安丹	2.50	95.7 ± 2.6
加保伏及代謝物	5.00	96.0 ± 3.8
滅必蝨	2.50	96.6 ± 5.2
丁基滅必蝨	2.50	101 ± 9.7
加保利	2.50	94.9 ± 2.1
得滅克及代謝物	6.25	96.4 ± 1.2
滅賜克	5.0	104 ± 6.3
歐殺滅	2.50	99.2 ± 2.3

化合物	添加濃度 (ng/mL)	平均回收率±標準偏差 (%)
納乃得	5.00	98.8 ± 1.5
安丹	10.0	96.3 ± 0.6
加保伏及代謝物	20.0	96.8 ± 0.9
滅必蝨	10.0	100 ± 2.4
丁基滅必蝨	10.0	99.8 ± 2.7
加保利	10.0	98.1 ± 1.4
得滅克及代謝物	25.0	99.1 ± 0.8
滅賜克	20.0	101 ± 1.1
歐殺滅	10.0	99.6 ± 1.6

化合物	添加濃度 (ng/mL)	平均回收率±標準偏差 (%)
納乃得	25	96.9 ± 0.9
安丹	50	97.1 ± 1.2
加保伏及代謝物	100	96.7 ± 1.3
滅必蝨	50	97.7 ± 1.3
丁基滅必蝨	50	98.3 ± 0.9
加保利	50	96.6 ± 1.3
得滅克及代謝物	125	97.0 ± 1.0
滅賜克	100	99.1 ± 0.8
歐殺滅	50	96.1 ± 8.0

註 1：加保扶及其代謝物：Carbofuran 及 3-hydroxycarbofuran；得滅克及其代謝物：

Aldicarb、 Aldicarb sulfone 及 Aldicarb sulfoxide。

註 2：層析管：YMC-Park ODS-AQ，150 mm × 4.6 mm，粒徑 5 μ m，溫度 42 $^{\circ}$ C，梯度變化：0 \rightarrow 3 分鐘，維持甲醇/水= 0/100，3 \rightarrow 31.5 分鐘，甲醇 0 \rightarrow 70%，31.5 \rightarrow 32 分鐘，甲醇 70 \rightarrow 100%，32 \rightarrow 39 分鐘，維持甲醇 100%，39 \rightarrow 50 分鐘，甲醇 100 \rightarrow 0%，螢光偵測器：激發波長 230 nm，發射波長 450 nm，管柱後衍生反應器溫度：95 $^{\circ}$ C。(來自參考資料 2)

表三 單一實驗室試劑水樣添加標準品之精密度與準確度(n=4)

化合物	添加濃度 (ng/mL)	平均回收率± 標準偏差 (%)
Aldicarb sulfoxide 得滅克代謝物	50	98.3 ± 4.7
Aldicarb sulfone 得滅克代謝物	50	97.1 ± 4.6
Oxamyl 歐殺滅	50	96.8 ± 2.9
Methomyl 納乃得	50	96.8 ± 1.0
3-hydroxycarbofuran 加保扶代謝物	50	97.0 ± 1.4
Aldicarb 得滅克	50	96.9 ± 1.2
Propoxur 安丹	50	98.0 ± 1.6
Carbofuran 加保扶	50	97.4 ± 1.4
Carbaryl 加保利	50	98.7 ± 2.3
MIPC 滅必蝨	50	97.7 ± 1.1
BPMC 丁基滅必蝨	50	97.7 ± 1.2
Methiocarb 滅賜克	50	101 ± 1.7

註：儀器條件同七、(一)

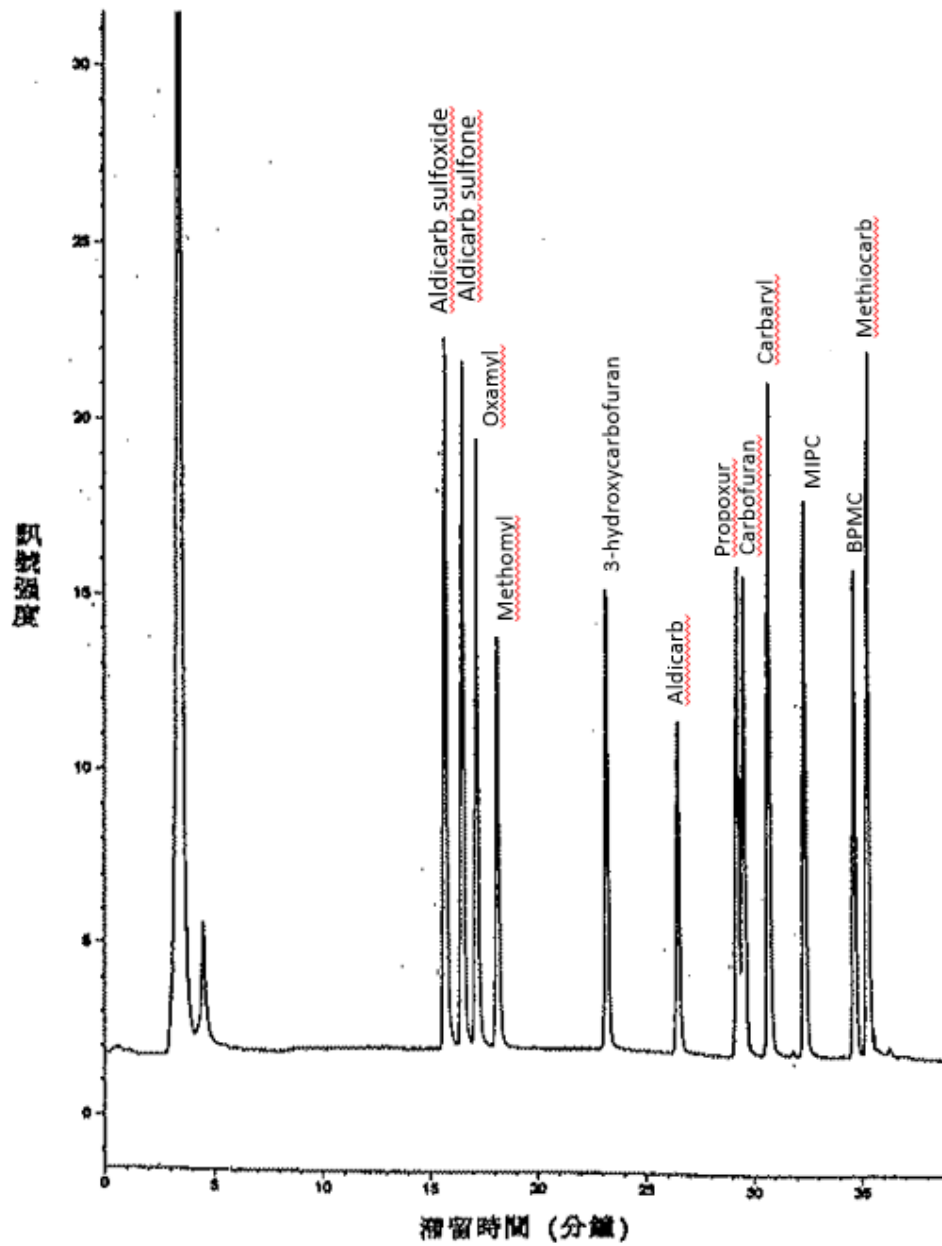
表四 單一實驗室放流水樣添加標準品之精密度與準確度(n=5)

化合物	水樣濃度 (ng/mL)	添加濃度 (ng/mL)	回收濃度 (ng/mL)	標準差 (ng/mL)	偏回收率±標準偏差 (%)
納乃得	119	50	38.4	2.2	76.8 ± 4.4
安丹	ND	100	101	1.9	101 ± 1.9
加保伏及代謝物	39.0	200	192	2.8	95.9 ± 1.4
滅必蝨	ND	100	103	1.5	103 ± 1.5
丁基滅必蝨	20.8	100	98.8	1.8	98.8 ± 1.8
加保利	ND	100	99.3	1.3	99.3 ± 1.3
得滅克及代謝物	ND	250	254	1.3	103 ± 3.3
滅賜克	ND	200	212	2.8	106 ± 1.4
歐殺滅	ND	100	98.4	1.4	98.4 ± 1.4

化合物	水樣濃度 (ng/mL)	添加濃度 (ng/mL)	回收濃度 (ng/mL)	標準差 (ng/mL)	偏回收率±標準偏差 (%)
納乃得	ND	50	49.5	0.56	99.0 ± 1.1
安丹	ND	100	100	0.81	100 ± 0.8
加保伏及代謝物	ND	200	199	3.1	99.4 ± 1.5
滅必蝨	ND	100	101	1.1	101 ± 1.1
丁基滅必蝨	ND	100	101	0.67	101 ± 0.7
加保利	ND	100	97.9	1.3	97.9 ± 1.3
得滅克及代謝物	ND	250	250	1.4	99.9 ± 0.5
滅賜克	ND	200	200	1.1	100 ± 0.5
歐殺滅	ND	100	98.5	0.28	98.5 ± 0.3

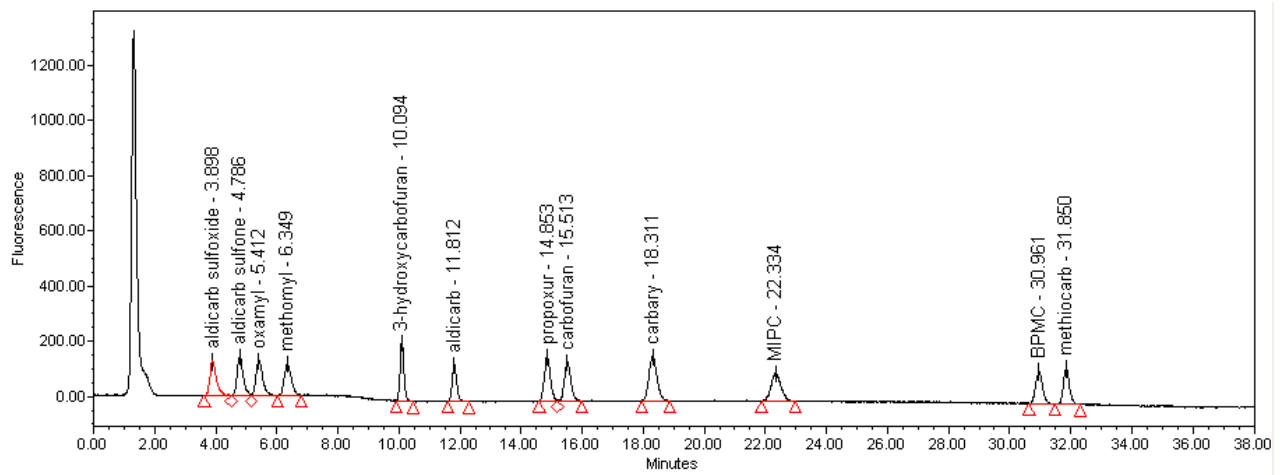
註 1：加保扶及其代謝物：Carbofuran 及 3-hydroxycarbofuran；得滅克及其代謝物：Aldicarb、Aldicarb sulfone 及 Aldicarb sulfoxide。

註 2：層析管：YMC-Park ODS-AQ，150 mm × 4.6 mm，粒徑 5 μ m，溫度 42 $^{\circ}$ C，梯度變化：0→3 分鐘，維持甲醇/水= 0/100，3→31.5 分鐘，甲醇 0→70%，31.5→32 分鐘，甲醇 70→100%，32→39 分鐘，維持甲醇 100%，39→50 分鐘，甲醇 100→0%，螢光偵測器：激發波長 230 nm，發射波長 450 nm，管柱後衍生反應器溫度：95 $^{\circ}$ C。(來自參考資料 2)



圖一 氨基甲酸鹽及代謝物之液相層析圖

註：層析管：YMC-Park ODS-AQ，150 mm × 4.6 mm，粒徑 5 μ m，溫度 42 $^{\circ}$ C，梯度變化：0→3 分鐘，維持甲醇/水= 0/100，3→31.5 分鐘，甲醇 0→70%，31.5→32 分鐘，甲醇 70→100%，32→39 分鐘，維持甲醇 100%，39→50 分鐘，甲醇 100→0%，螢光偵測器：激發波長 230 nm，發射波長 450 nm，管柱後衍生反應器溫度：95 $^{\circ}$ C。
(來自參考資料 2)



圖二 氨基甲酸鹽及代謝物之液相層析圖

註：儀器條件同七、(一)