

環境用藥檢測方法－層析法

中華民國 109 年 12 月 11 日環署授檢字第 1091006795 號

自中華民國 110 年 3 月 15 日生效

NIEA D902.0bB

一、方法概要

環境用藥樣品經適當前處理方式進行萃取或稀釋後，以氣相層析儀火燄離子化偵測器（Gas chromatograph flame ionization detector, GC/FID）或液相層析儀紫外光偵測器（Liquid chromatograph ultraviolet detector, LCUV），檢測樣品中待測物的含量。

二、適用範圍

本方法適用於表一所列環境用藥有效成分之檢測。

三、干擾

- （一）當低濃度樣品緊接在高濃度樣品之後分析時，可能會有整個系統污染的現象發生，在高濃度樣品分析完成後，必須以溶劑清洗乾淨，必要時注入分析空白溶劑，可以確認並無殘留污染的情況。
- （二）對以氣相層析儀火燄離子化偵測器或液相層析儀紫外光偵測器分析法無法完全分離之化合物，必要時以層析質譜儀再鑑別之。

四、設備與材料

（一）氣相層析儀火燄離子化偵測器

1. 氣相層析儀：可控溫及具有微調流量控制器。
2. 層析管柱：可使用下列管柱：
 - （1）DB-1，長 30 m × 內徑 0.32 mm，膜厚 0.25 μm，或同級品。
 - （2）DB-5，長 30 m × 內徑 0.25 mm，膜厚 0.25 μm，或同級品。
 - （3）其他可有效分離待測物之層析管柱。

3. 火燄離子化偵測器

（二）液相層析儀紫外光偵測器

1. 液相層析管柱：依據待測物特性，選擇適當之管柱
 - （1）Lichrospher RP-18，5 μm（粒徑）250 mm（長）× 4.6

mm (內徑) 或同級品。

- (2) ABI Spheri-5, Amino, 5 μm (粒徑) 220 mm (長) \times 4.6 mm (內徑) 或同級品。
- (3) Lichrosorb CN, 5 μm (粒徑) 250 mm (長) \times 4 mm (內徑) 或同級品。
- (4) Lichrosorb Si, 7 μm (粒徑) 250 mm (長) \times 4 mm (內徑) 或同級品。
- (5) XBridge HILIC, 3.5 μm (粒徑) 100 mm (長) \times 2.1 mm (內徑) 或同級品。
- (6) Phenomenex, Gemini C18, 3 μm (粒徑) 100 mm (長) \times 2 mm (內徑) 或同級品。
- (7) XBridge C18, 3.5 μm (粒徑) 100 mm (長) \times 2.1 mm (內徑) 或同級品。
- (8) 其他適合分離之管柱。

2. 梯度泵送系統：移動相及流量參考如表二。

3. 過濾裝置：用以過濾移動相溶劑。

4. 除氣裝置：用以排除溶劑中之氣體用。

5. 紫外光偵測器。

(三) 天平：可精稱至 0.1 mg。

(四) 定量瓶：適當體積，硼矽玻璃材質，棕色瓶，附磨砂瓶塞。

(五) 微量注射器或自動注射器。

五、試劑

(一) 試劑水：不含待測物之去離子水或符合前述規格之市售純水。

(二) 甲醇、乙腈、異丙醇、正己烷、乙酸乙酯、乙醇：LC 級或 LC 以上。

(三) 丙酮、二氯甲烷及其它溶劑：殘量級。

(四) 氨水、磷酸、冰醋酸、醋酸、醋酸銨、甲酸、氫氧化鈉、三乙胺：試藥級。

(五) 待測物儲備標準溶液：依檢測需要稱量約為 0.01 g (精稱至 0.1 mg) 之已知純度待測物標準品，溶於丙酮或其他適當溶劑中，於 10 mL 定量瓶中稀釋至標線，並計算儲備標準溶液之濃

度約為 1 mg/mL；將標準溶液儲存於鐵氟龍密封的容器內，保存於 4°C ± 2°C，暗處；或使用市售標準品稀釋配製。

- (六) 內標準品儲備溶液：建議使用鄰苯二甲酸酯類，如鄰苯二甲酸二正丁酯 (Di-*n*-butylphthalate, DBP)、鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (Di-(2-ethylhexyl)phthalate, DEHP) 或其他鄰苯二甲酸酯類化合物。
- (七) 四正丁基硫酸氫銨緩衝液 (Tetrabutylammonium hydrogen sulfate, TBS)：稱取 1.73 g 之四正丁基硫酸氫銨溶於 900 mL 純水中，加入 8.97 g 之磷酸二氫鈉 (NaH₂PO₄·H₂O)，攪拌均勻使之完全溶解，以 10% 氫氧化鈉 (NaOH) 水溶液調 pH 至 7.5 後定容至 1000 mL。
- (八) 磷酸溶液，0.002 M：取 0.461 g 磷酸 (85%)，以試劑水定容至 2000 mL 或依比例配製。
- (九) 磷酸溶液，0.0025 M：取 0.576 g 磷酸 (85%)，以試劑水定容至 2000 mL 或依比例配製。
- (十) 檸檬酸溶液，0.05%：取 0.5 g 試藥級之檸檬酸，以試劑水定容至 1 L 或依比例配製。
- (十一) 氮氣：純度 99.999% 以上
- (十二) 空氣及氫氣。

六、採樣與保存

依 NIEA D901 採樣及前處理，萃取液應以瓶蓋附有鐵氟龍內襯之玻璃瓶密封後，保存於 6°C 以下冷藏，並在 40 天內完成分析。

七、步驟

經 NIEA D901 前處理後接續步驟

(一) 層析儀測定：依表一選擇適當之層析法

1. 氣相層析儀操作條件如下；亦可視實際需要適當調整：

升溫條件：初始溫度 160°C 保持 2 分鐘，隨後以每分鐘 10°C 升溫至 220°C 保持 3 分鐘，再以每分鐘 30°C 升溫至 240°C 保持 3 分鐘。

注射口溫度：280°C。

偵測器溫度：300°C。

載流氣體：氮氣，流量 6 mL/min。

輔助氣體：氮氣，流量 45 mL/min。

偵測器氣體：氫氣，流量 40 mL/min；空氣，流量 350 mL/min。

注射體積：1.0 μ L 至 2.0 μ L。

2. 以液相層析儀分析之待測物，可參考表二所列之各項條件，惟實際操作時，可視實驗室情況做適當之調整。

(二) 檢量線製備：

依 NIEA D901 執行前處理後配製。

1. 配製至少五種不同濃度之待測物的標準溶液，於樣品注入儀器前，可加入一定濃度之內標準品；標準溶液的濃度，可配合預期之真實樣品的濃度範圍作適當的調整。
2. 檢量線製備完成，即應以第二來源標準品配製接近檢量線中點濃度之標準溶液或獨立配製之標準溶液，進行分析確認，其分析結果相對誤差值應在 $\pm 10\%$ 以內。
3. 檢量線製備可使用線性迴歸法、校正因子 (Calibration Factor, CF) 或感應因子 (Response Factor, RF)。

(1) 線性迴歸法 (Linear regression)：

$$y=ax+b$$

其中

y ：訊號面積

a ：斜率

x ：濃度

b ：截距

(2) 校正因子法 (Calibration Factor, CF)：

$$CF = \frac{A_x}{W_x}$$

其中

A_x ：檢量線溶液中待測物之波峰面積。

W_x ：檢量線溶液注入儀器之待測物重量 (μ g)。

平均校正因子公式為

$$\overline{CF} = \frac{\sum_{i=1}^n CF_i}{n}$$

由上述求得之 CF 及 \overline{CF} 再算出每一待測物的校正因子標準偏差 (SD) 及相對標準偏差 (RSD%)，其計算如下：

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (CF_i - \overline{CF})^2}{n-1}}$$

$$RSD(\%) = \frac{SD}{\overline{CF}} \times 100$$

(3) 感應因子法 (Response Factor, RF)：

使用各內標準品儲備溶液約為 0.25 mg/mL 至約為 0.5 mg/mL，在同一分析條件下，分別注入層析儀內，比較待測物和各內標準品的滯留時間，選擇與待測有效成分滯留時間較接近且兩者波峰可完全分離之內標準品作為分析定量之用。

$$RF = \frac{A_s \times C_{is}}{A_{is} \times C_s}$$

其中

A_s ：檢量線溶液中待測物之波峰面積。

A_{is} ：檢量線溶液中內標準品之波峰面積。

C_s ：檢量線溶液中待測物之濃度 (mg/mL)。

C_{is} ：檢量線溶液中內標準品之濃度 (mg/mL)。

平均感應因子公式為

$$\overline{RF} = \frac{\sum_{i=1}^n RF_i}{n}$$

由上述求得之 RF 及 \overline{RF} 再算出每一待測物的感應因子標準偏差 (SD) 及相對標準偏差 (RSD%)，其計算如下：

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (RF_i - \overline{RF})^2}{n-1}}$$

$$RSD(\%) = \frac{SD}{\overline{RF}} \times 100$$

4. 線性係數(r)應大於等於 0.995，感應因子或校正因子之相對標準偏差(RSD%)應小於或等於 20%。
5. 完成初始檢量線後，另以標準溶液查核初始檢量線的續用性，校正查核程序為分析初始檢量線中間濃度的標準品，將此單個標準品之計算所得的濃度與配製濃度作比較，若其相對誤差值落在 ±10%以內，則初始檢量線仍然有效，否則應重新製作檢量線。
6. 以下列公式計算相對誤差值：

$$\text{相對誤差值}(\%) = \frac{\text{計算所得濃度} - \text{配製濃度}}{\text{配製濃度}} \times 100(\%)$$

(三) 樣品分析：

取適量經過前處理之環境用藥樣品，樣品中待測物之濃度宜於檢量線最高濃度之 20%至 80%間較為適當，若需要添加內標準品儲備溶液，則檢量線標準溶液及樣品中所加入之內標準品溶液的濃度需保持一致；將所得之樣品，以上述建立檢量線相同之層析條件分析。

八、結果處理

依 NIEA D901 執行前處理後

(一) 採用線性迴歸法：

待測物濃度計算公式

$$x = \frac{y-b}{a}$$

其中

x：待測物濃度
y：待測物波峰面積
b：截距
a：斜率

(二) 採用校正因子法：

待測物濃度計算公式

$$C(\text{mg/mL}) = \frac{A}{V_i \times \overline{CF}}$$

其中

A ：樣品中待測物之波峰面積。

V_i ：注入儀器之萃取液體積 (μL)

\overline{CF} ：平均校正因子 (面積/ μg)。

(三) 採用感應因子法：

待測物濃度計算公式

$$C(\text{mg/mL}) = \frac{A_x \times C_{is}}{A_{is} \times \overline{RF}}$$

其中

A_x ：樣品中待測物之波峰面積。

A_{is} ：樣品中內標準品之波峰面積。

C_{is} ：樣品中內標準品之濃度 (mg/mL)。

\overline{RF} ：平均感應因子。

(四) 環境用藥樣品含量計算公式

1. 一般樣品以重量百分比計量者：

$$\text{待測物}(\%, \text{w/w}) = \frac{C \times D \times V \times 10^{-3}}{M} \times 100$$

其中

C ：待測物之濃度 (mg/mL)。

D ：稀釋因子，若樣品或萃液在分析前稀釋。若未經稀釋，

$D=1$ 。

V：樣品製備總體積（mL）。

M：所取樣品重（g）。

2. 若樣品為噴霧劑時，修正公式為：

$$\text{待測物}(\%, w/w) = \frac{C \times D \times V \times 10^{-3}}{M} \times f \times 100$$

其中

f：重量校正因子 (f) = (W₂-W₀) / (W₁-W₀)

D：稀釋因子，若樣品或萃液在分析前稀釋。若未經稀釋，

D=1。稀釋因子沒有單位。

W₁：噴霧罐未洩壓前樣品總重。

W₂：噴霧罐洩壓後重量。

W₀：噴霧罐空罐重量。

記錄此校正因子，計算樣品含量時使用。

3. 樣品為片劑時，修正公式為：

$$\text{待測物}(mg/\text{片}) = \frac{C \times D \times V}{\text{片}}$$

其中

C：待測物之濃度 (mg/mL)

D：稀釋因子，若樣品或萃液在分析前稀釋。若未經稀釋，

D=1。稀釋因子沒有單位。

V：樣品製備總體積（mL）

片：所取片數。

九、品質管制

（一）空白樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行 1 次空白分析，空白分析值應小於檢量線最低點濃度之十分之一。

（二）重複樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行 1 次重複分析。

十、精密度與準確度

略。

十一、參考資料

（一）行政院環境保護署，醛酮類化合物檢測方法—高效能液相層

析法 NIEA R502.11C，中華民國 91 年。

(二) 行政院環境保護署，環境用藥檢測方法—樣品製備法 NIEA D901.02B，中華民國 108 年。

(三) 行政院環境保護署，環境用藥禁止含有成分檢測方法-氣相層析質譜法 NIEA D910.02B，中華民國 104 年。

註 1：本文引用之公告方法名稱及編號，以環保署最新公告者為準。

註 2：本檢測方法產生之廢液為含有機溶劑廢液，盛裝標準品之針劑瓶及上機分析後之樣品瓶，檢驗室應依相關規定妥善儲存、處理。

表一、環境用藥有效成分適用之建議層析法

中文名稱	英文名稱	CAS No.	建議層析法*
亞列寧	Allethrin	584-79-2	GC
亞滅寧	Alphacypermethrin	67375-30-8	GC
亞滅松	Azamethiphos	35575-96-3	LC
印棟素	Azadirectin	11141-17-6	LC
免敵克	Bendiocarb	22781-23-3	LC
畢芬寧	Bifenthrin	99267-18-2	GC
百亞列寧	Bioallethrin	584-79-2	GC
可滅鼠	Brodifacoum	56073-10-0	LC
撲滅鼠	Bromadiolone	28772-56-7	LC
克凡派	Chlorfenapyr	122453-73-0	GC
陶斯松	Chlorpyrifos	2921-88-2	GC
剋滅鼠	Coumatetralyl	5836-29-3	GC/LC
甲酚	Cresol	108-39-4	GC
賽飛寧	Cyfluthrin	68359-37-5	GC
賽滅寧	Cypermethrin	52315-07-8	GC
賽滅淨	Cyromazine	66215-27-8	GC
賽酚寧	Cyphenothrin	39515-40-7	GC
異亞列寧	d-Allethrin	231937-89-6	GC
敵避	Deet	134-62-3	GC
第滅寧	Deltamethrin	52918-63-5	GC/LC
雙滅鼠	Difenacoum	56073-07-5	LC
立滅鼠	Difethialone	104653-34-1	LC
二福隆	Diflubenzuron	35367-38-5	LC
1-二甲氨基-2-甲基-2-丙醇	1-Dimethylamino-2-methyl-2-propanol	14123-48-9	LC
達特南 (達特胺)	Dinotefuran	165252-70-0	LC

中文名稱	英文名稱	CAS No.	建議層析法*
得伐鼠	Diphacinone	82-66-6	LC
異治滅寧	d-Tetramethrin	548460-64-6	GC
益避寧	Empenthrin	54406-48-3	GC
賜百寧	Esbiothrin	584-79-2	GC
依芬寧	Etofenprox	80844-07-1	GC
撲滅松	Fenitrothion	122-14-5	GC
芬殺松	Fenthion	55-38-9	GC
芬化利	Fenvalerate	51630-58-1	GC
芬普尼	Fipronil	120068-37-3	GC/LC
伏滅鼠	Flocoumafen	90035-08-8	LC
蜚蠊對醌性費洛蒙	Gentisyl quinone isovalerate	849762-24-9	LC
戊二醛**	Glutaraldehyde	111-30-8	LC
六伏隆	Hexaflumuron	86479-06-3	LC
愛美松	Hydramethylnon	67485-29-4	GC/LC
益達胺	Imidacloprid	138261-41-3	LC
依普寧	Imiprothrin	72963-72-5	GC
因得克	Indoxacarb	144171-61-9	GC/LC
伊默寧	IR3535	52304-36-6	LC
剋特寧	Kadethrin	58769-20-3	GC
賽洛寧	Lambda-cyhalothrin	91465-08-6	GC
協力克	M.G.K-264	113-48-4	GC
馬拉松	Malathion	121-75-5	GC
苦參鹼	Matrine	519-02-8	LC
納乃得	Methomyl	16752-77-5	LC
美賜平	Methoprene	40596-69-8	GC/LC
美特寧	Metofluthrin	240494-70-6	GC
乃力松	Naled	300-76-5	GC

中文名稱	英文名稱	CAS No.	建議層析法*
萘	Naphthalene	91-20-3	GC/LC
諾福隆	Noviflumuron	121451-02-3	LC
鄰-苯甲基對氯酚	o-Benzyl-p-Chloro-phenol	120-32-1	GC
鄰-苯基苯酚	o-Phenylphenol	90-43-7	GC
對氯酚	p-Chlorophenol	106-48-9	GC
對-二氯苯	p-Dichlorobenzene	106-46-7	GC
百滅寧	Permethrin	52645-53-1	GC
酚丁滅寧	Phenothrin	26002-80-2	GC
派卡瑞丁	Picaridin	119515-38-7	GC
協力精	Piperonyl Butoxide	51-03-6	GC
亞特松	Pirimiphos-Methyl	29232-93-7	GC
普亞列寧	Prallethrin	23031-36-9	GC
安丹	Propoxur	114-26-1	GC/LC
對-第三戊酚	p-ter-Amylphenol	80-46-6	GC
地亞列寧	Pynamin D Forte	8064-25-3	GC
必列寧	Pyrethrins	8003-34-7	GC
必芬松	Pyridaphenthion	119-12-0	GC
百利普芬	Pyriproxyfen	95737-68-1	GC
列滅寧	Resmethrin	10453-86-8	GC
右亞列寧	S-Bioallethrin	28434-00-6	GC
亞培松	Temephos	3383-96-8	LC
治滅寧	Tetramethrin	7696-12-0	GC
賽速安	Thiamethoxam	153719-23-4	LC
特多寧	Tralomethrin	66841-25-6	LC
拜富寧	Transfluthrin	118712-89-3	GC
三福隆	Triflumuron	64628-44-0	LC
維生素D3	Vitamin D3	67-97-0	LC

中文名稱	英文名稱	CAS No.	建議層析法*
殺鼠靈	Warfarin	81-81-2	LC
家蠅費洛蒙	Z-9-Tricosene	27519-02-4	GC
四級銨鹽類***	Quaternary ammonium salts	121-54-0	GC
檸檬桉醇	<i>p</i> -menthane 3,8-diol	42822-86-6	GC

* GC：氣相層析儀，LC：液相層析儀。

** 戊二醛檢測方法參考「醛酮類化合物檢測方法－高效能液相層析法（NIEA R502）」。

*** 四級銨鹽類：為多組成混合物，定量時，以波峰面積總和定量。

表二、環境用藥液相層析法建議條件

中文名稱	建議層析管柱*	移動相	流量 (mL/min)	偵測波長 (nm)
亞滅松	3	甲醇：水 (85:15, v/v)	1.0	254
免敵克	1	甲醇：乙腈：水 (22.5:22.5:55, v/v/v)	2.0	254
第滅寧	1	甲醇:水 (85:15, v/v)	1.0	254
雙滅鼠	1	甲醇：水：TBS緩衝液 (70:28:2, v/v/v)	1.0	254
得伐鼠	1	甲醇：水：TBS緩衝液 (60:20:20, v/v/v)	1.0	285
愛美松	1	乙腈：異丙醇 (含0.01% (v/v) 氨水水溶液) (40:60, v/v)	1.0	254
因得克	1	乙腈：水 (先以磷酸調整 pH 值 為2.5) (80:20, v/v)	1.0	275
益達胺	1	乙腈：0.05% (w/v) 檸檬酸 (30:70, v/v)	1.0	270
納乃得	1	甲醇：水 (55:45, v/v)	1.3	228
美賜平	1	甲醇：水 (85:15, v/v)	1.0	254
安丹	1	乙腈：水 (60:40, v/v)	1.5	280
特多寧	4	正己烷：乙酸乙酯 (95:5, v/v)	1.5	278

中文名稱	建議層析管柱*	移動相	流量 (mL/min)	偵測波長 (nm)
亞培松	4	正己烷：乙酸乙酯 (95:5, v/v)	1.6	254
可滅鼠	1	甲醇：0.2% (v/v) 冰醋酸 (90:10, v/v)	1.0~1.5	254
撲滅鼠	1	甲醇：1% (v/v) 冰醋酸 (80:20, v/v)	1.0~1.5	254
立滅鼠	1	甲醇：0.002 M磷酸 (90:10, v/v)	2.0	254
伏滅鼠	1	甲醇：0.2% (v/v) 冰醋酸 (80:20, v/v)	1.0~2.0	254
戊二醛	1	乙腈：水 (55：45, v/v)	1.0	365
維生素D3	2	正己烷：乙醇 (99:1, v/v)	1.8	254
殺鼠靈	1	甲醇：0.0025 M磷酸 (70:30, v/v)	1.0	254
賽速安	1	0.1% (v/v) 磷酸水溶液：甲醇 (65：35, v/v)	1.2	254
1-二甲氨基-2-甲 基-2-丙醇	5	乙腈 (含0.1% (v/v) 醋酸銨) ：水 (含0.1% (v/v) 醋酸銨) (85：15, v/v)	0.4	254
蜚蠊對醌性費洛蒙	1	甲醇：0.1% (v/v) 醋酸水溶液 (85:15, v/v)	1	256
荼	1	甲醇：水 (80:20, v/v)	1	254
剋滅鼠	1	甲醇：1% (v/v) 醋酸水溶液 (80:20, v/v)	1	254

中文名稱	建議層析管柱*	移動相	流量 (mL/min)	偵測波長 (nm)
芬普尼	1	甲醇：乙腈：水 (40:30:30, v/v/v)	1	220
二福隆	1	乙腈：水：異丙醇 (75:20:5, v/v/v)	1	254
六伏隆	1	(1) 甲醇:水 (50:50, v/v) (2) 乙腈:水 (65:35, v/v)	0.5~1.0	(1) 230 (2) 254
伊默寧	1	乙腈：水 (40:60, v/v)	1	220
苦參鹼	7	甲醇：水：三乙胺 (45：55：0.02, v/v/v)	0.8	220
諾福隆	1	甲醇：0.1% (v/v) 甲酸水溶液： 乙腈 (5:37:58, v/v/v)	1	254
三福隆	6	水:乙腈 (15:85, v/v)	0.25	254
達特南 (達特胺)	1	甲醇:0.1% (v/v) 甲酸 (95:5, v/v)	0.5	270
印棟素	1	乙腈：水 (60:40, v/v)	1	215

*參見四、設備與材料中所列液相層析管柱編號