

魚介類多氯聯苯檢測方法—氣相層析/電子捕捉偵測器法

中華民國89年3月17日(89)環檢字第14123號公告

自中華民國89年6月17日起實施

NIEA C611.01C

一、方法概要

魚介類(水生生物)樣品以鹼性溶液皂化處理,再以正己烷萃取,萃取液脫水濃縮後,經過酸性矽膠淨化管除去雜質,合併洗液並濃縮至一定體積後,注入氣相層析儀,利用電子捕捉偵測器,偵測其中之多氯聯苯(Polychlorinated Biphenyls, PCBs)含量。

二、適用範圍

本方法適用於環境中魚介類(水生生物)檢體內多氯聯苯之檢測,可偵測多氯聯苯含量多氯聯苯同屬物 IUPAC 5.0 ng/g 或 Arochlor 0.01 µg/g 以上之樣品。

三、干擾

- (一) 試藥、溶劑或玻璃器皿等所含之雜質,可能污染並干擾分析結果,故試藥及溶劑以使用農藥殘量分析級(Residue Grade)為原則,否則亦應使用純度最高級者,並依需要使用蒸餾方法純化之。為確保試藥或溶劑之適用性,必須執行空白試驗。玻璃器皿使用完畢,應立即以使用之溶劑淋洗後,先用洗液浸洗然後以清潔劑清洗,用水沖洗。繼之以去離子蒸餾水淋洗、晾乾,再以正己烷淋洗晾乾後,置於 400°C 烘箱中 15~30分鐘,再以鋁箔紙封口,放置於乾淨地點,避免污染。有刻度的吸管或量瓶晾乾即可,勿置於烘箱以免刻度不準。
- (二) 苯二甲酸酯類(Phthalate Esters)之污染,為分析上之嚴重干擾,此類污染常源自塑膠器皿,故在採樣、分析過程中,不得使用塑膠器皿。
- (三) 樣品中其他雜質亦可能一併萃出,雜質之種類及數量依個別之樣品而異,通常可以酸性矽膠淨化管移去,但特殊之樣品可能需特別之處理。
- (四) 樣品遭遇干擾問題,導致樣品的層析圖譜,無法和標準品的圖譜相符合或類似時,有時可以改變層析分離管柱或改變升溫程式改

善。

四、設備

(一) 前處理設備

1. 分液漏斗：250 mL 硼矽玻璃製，附鐵氟龍製活栓，且活栓不得使用潤滑油脂。
2. 去水玻璃管柱：200 mm (長度) × 20 mm (內徑) 附鐵氟龍製活栓，活栓不得使用潤滑油脂。
3. 皂化瓶：硼矽玻璃製平底圓瓶 250 mL。
4. 酸性矽膠淨化管：200 mm (長度) × 20 mm (內徑) 附鐵弗龍製活栓，且活栓不得使用潤滑油脂。
5. 濃縮瓶：硼矽玻璃製圓底瓶 250 mL。
6. 減壓濃縮裝置器。
7. 熱水浴：可加熱至 100°C，溫度可控制在 $\pm 2^\circ\text{C}$ 以內者。
8. 迴流裝置。
9. 量瓶：10.0 mL 硼矽玻璃製。
10. 天平：可精確秤量至 0.1 mg。
11. 均質攪拌器。
12. K-D 濃縮瓶。
13. 試管檢液濃縮器。
14. 烘箱：可加熱至 400°C。
15. 微量注射器：10.0 μL 。
16. 三角錐瓶：250 mL。

(二) 儀器設備

1. 氣相層析儀附電子捕捉偵測器與層析管上樣品注入器。

2. 層析分析管

(1) 毛細管柱：30 m (長度) × 0.53 mm (內徑)，1.5 μm (膜厚) 之毛細管柱，DB-1 或其他同等級毛細層析管，儀器操作條件如下 (供參考用，可視實際需要適當調整)。

注入口溫度：200~250°C

層析管溫度：初溫 150°C

初溫時間：0.5 min

升溫速率：5 °C/min

終溫：250°C

終溫時間：19.5 min

偵測器溫度：260-300°C

載送氣體：氮氣流速 10-12 mL/min

輔助氣體：氮氣流速 40-50 mL/min

(2) 毛細管柱：30 m (長度) × 0.53 mm (內徑)，1.5 μm (膜厚) 之毛細管柱，DB-5 或其他同等級毛細層析管，儀器操作條件如下 (供參考用，可視實際需要適當調整)。

注入口溫度：200~250°C

層析管溫度：初溫 170°C

初溫時間：3 min

升溫速率：5°C/min

終溫：290°C

終溫時間：18 min

偵測器溫度：320°C

載送氣體：氮氣流速10-12 mL/min

輔助氣體：氮氣流速40-50 mL/min

(3) 毛細管柱，內覆化學鍵結之 50% 苯基-甲基聚矽氧烷 (DB-1701或同級品)，30 m×0.53 mm內徑1.0 μm膜厚。

注入口溫度：200~250°C

層析管溫度：初溫150°C，升至190°C（保持2分鐘；再以每分鐘4°C升溫至275°C）

初溫時間：0.5 min

升溫速率：12 °C/min

終溫：275°C

終溫時間：10 min

偵測器溫度：320°C

載送氣體：氮氣流速10-12 mL/min

輔助氣體：氮氣流速40-50 mL/min

五、試劑

- (一) 試劑水：蒸餾水視需要以正己烷洗過，使不含有干擾檢驗之物質。
- (二) 異辛烷 (Isooctane)：殘量級或同等級品，視需要以玻璃器皿蒸餾保存之。
- (三) 正己烷：殘量級或同等級品，視需要以玻璃器皿蒸餾保存之。
- (四) 無水酒精：試藥特級。
- (五) 氫氧化鈉：試藥特級。
- (六) 無水硫酸鈉：試藥特級。
- (七) 矽膠PR級：(40/70 mesh)：使用前加熱至 130°C並保持 3 小時以上。

(八) 酸性矽膠：矽膠：濃硫酸 (60：40)

(九) 1 M 氫氧化鈉之酒精溶液：取 40g 之氫氧化鈉加蒸餾水 40 mL 混勻後，加無水酒精定容至 1 升。

(十) 氮氣、氬氣，純度為 99.999% 以上，並使用去水及去氧裝置。

(十一) 玻璃棉。

(十二) 儲備標準溶液：分別秤約 10 mg (精確至 0.1mg) 之 Aroclor，-1232，-1242，-1248，-1254，-1260，或多氯聯苯同屬物 IUPAC No. 8、18、28、52、47、44、101、87、118、110、77、153、105、138、126、187、128、185、157、170、203、195、194、206、209 置於 10.0 mL 量瓶，以異辛烷溶解後稀釋至刻度，貯存於棕色之玻璃試藥瓶 (瓶蓋需有鐵氟龍內襯)，4°C 冷藏，計算其濃度。本儲備標準溶液可保存六個月。

(十三) 內標準品

1. 分析多氯聯苯同屬物時，最好使用內標準品，使用十氯聯苯 (Decachlorobiphenyl) 為內標準品，在分析前添加至各樣品萃液內。亦需添加至起始檢量線標準溶液內。
2. 分析多氯聯苯混合物 (即 Aroclors) 時，不需使用內標準品。

六、採樣及保存

(一) 濕重

魚體表面之多餘水分以實驗用紙 (棉) 予吸乾或室溫自然乾後取所要檢測之部位，介類則去殼取內部組織，經均質攪拌器攪拌均勻，精秤取適量樣品後進行分析 (若未能立即檢測則需予以封口冷藏於 4°C 待測)。

(二) 乾重

將魚體取其所要檢測之部位、介類則取內部組織，精秤取適量樣品進行冷凍乾燥，等重量恆重時秤其重量計算水分含量，磨成粉末，精秤取適量樣品後進行分析 (若未能立即檢測則需予以封口冷藏於 4°C 或乾燥箱中待測)。

七、步驟

(一) 校正

1. 分別量取適量之儲備標準溶液，以正己烷稀釋配製至少五種不同濃度之標準溶液，至少其中之一低於檢測計畫數據，其餘濃度應與試樣濃縮液濃度相近或與儀器適當操作濃度之上限相近。
2. 調整適當之儀器條件，以微量注射器，分別注射一定體積（2~5 μ L）濃度約 1.0 μ g/mL Arochlor及congener濃度約5.0 ng/mL之標準溶液，所得之層析譜應與相對對應之圖一至六相似。
3. 製備各標準品檢量線如下：分別注入一定體積（2~5 μ L）之標準溶液，記錄各尖峰面積（或高度），計算尖峰總面積（或高度），然後繪製尖峰總面積（或高度）—多氯聯苯注入量之檢量線。
4. 檢量線之查核：每批次以來源不同之標準品配製某一檢量線範圍內之濃度來查核檢量線。如所得之尖峰面積（或高度）與檢量線上對應之尖峰面積（或高度）差異在80%—120%以外，則需重複上述步驟重新製備檢量線。
5. 檢量線適用性之檢核：每一工作天內注入一種濃度之再配製標準溶液，如所得之尖峰面積（或高度）與檢量線上對應之尖峰面積（或高度）差異在15%以上，則需重複上述步驟重新製備檢量線。

(二) 皂化

取均質魚（介）類樣品25g或已乾燥磨粉的均勻粉狀置魚（介）類樣品5g於皂化瓶中，加入50 mL之1 M氫氧化鈉酒精溶液，在沸騰水浴中加熱迴流約 1小時（視樣品完全分解），冷卻至 50 $^{\circ}$ C；加入正己烷 50 mL，充分振搖混合後冷卻至室溫。

(三) 萃取

1. 將上述皂化完成之液狀樣品倒入250 mL之分液漏斗中，量取20 mL之正己烷：乙醇（1：1）之混合液洗滌皂化瓶後，將洗液合

併倒入分液漏斗，再加入25 mL蒸餾水，振搖約1分鐘，靜置，待分層後，收集有機層（上層），水層（下層）移入另一250 mL之分液漏斗，再分別以50 mL正己烷萃取兩次，合併收集有機層於三角錐瓶。

2. 將少許玻璃棉放入去水玻璃管柱底部，然後加入5~10 cm高度之無水硫酸鈉，將有機萃取液通過此去水玻璃管柱，收集於減壓濃縮裝置之圓底燒瓶。再以20~30 mL之正己烷沖洗三角燒瓶及玻璃管柱，合併收集洗液於減壓濃縮裝置之圓底燒瓶。

（四）濃縮

使用減壓濃縮裝置. 或K-D濃縮裝置濃縮收集液體：以減壓濃縮裝置或K-D濃縮裝置濃縮收集液至約2-3 mL。

（五）淨化

1. 將少許之玻璃棉放入淨化管之底部，秤取5~7g酸性矽膠，加入約20 mL正己烷，攪拌溶解成泥狀，迅速倒入裝有約10 mL正己烷之淨化管，輕敲淨化管靜待矽膠沉降後，開栓，加入約2 cm高之無水硫酸鈉於其上，再以25 mL之正己烷沖洗並調整流速3 mL/min直至正己烷之液面與無水硫酸鈉層之表面平齊後，閉栓，棄置洗液。
2. 將步驟（四）濃縮液得到的正己烷濃縮液緩慢加入淨化管上，開栓，使液面下降至硫酸鈉層表面後閉栓，每次以2~3 mL正己烷分數次清洗小試管，直到小試管被清洗乾淨，每次清洗液加入淨化管並開栓使液面下降至硫酸鈉層表面，以180 mL正己烷沖洗，淨化管調整流速至1~2 mL/min，捨棄前15 mL，收集其餘之165 mL，以減壓濃縮裝置濃縮收集液，（同步驟（四）），以正己烷定容至1~5 mL，並精確記錄體積。

八、計算

計算試樣之尖峰總面積（或高度），由同類型多氯聯苯之檢量線求得所注入多氯聯苯含量A（ng），依下式計算檢樣之濃度：

$$\text{濃度 (ng/g)} = A \times (V_1/V_2) \times (1/G)$$

A：待測物（PCBs）注射入量（ng）

V_1 ：試樣濃縮液之體積 (mL)

V_2 ：試樣濃縮液注入量 (μ L)

G：稱取檢體之乾重量或濕重 (g)

(一) 定量多氯聯苯為同屬物

1. 使用內標準品法 (參考氣相色層分析法 NIEA.R112、00C)，比對樣品層析圖和多氯聯苯同屬物之層析圖，定量各個多氯聯苯同屬物，計算每一同屬物之濃度。
2. 視計畫之目的，分析多氯聯苯同屬物之結果，可直接以同屬物報告，或相加後得到總和，以多氯聯苯總量報告。當法規管制是基於 Aroclors 濃度時，分析員使用同屬物法定量樣品時需小心。

(二) 定量多氯聯苯為 Aroclors

比較樣品層析圖與最相似之 Aroclors 層析圖，用 Aroclors 之種類和濃度定量多氯聯苯。選用和樣品相似之 Aroclors，判定其能確實代表樣品中之多氯聯苯。

1. 使用個別之 Aroclors 標準品 (而非 1016/1260 混合物)，測定 Aroclors 1232, 1242, 1248 和 1254 之尖峰圖型，Aroclors 1260 的圖型可從其混合檢量線標準溶液看出。
2. 辨認樣品之 Aroclors 圖型後，用外標準品法，比較 Aroclors 1016/Aroclors 1260 混合檢量線標準溶液中之 3 至 5 個主要尖峰的感應和樣品萃液中之尖峰，用上述之 3 至 5 主要尖峰的各自 CF (校正因子) (廢棄物檢測方法中多氯聯苯檢測方法-毛細管柱氣相層析法七(四)7節)，計算 Aroclors 量，平均各個尖峰的定量結果，求得 Aroclors 濃度。
3. 定量多氯聯苯為 Aroclors 法，不適用於分析顯然含有在環境曝露之多氯聯苯、處理過之多氯聯苯、或 Aroclors 混合物之樣品。分析員需用方法中所述之同源物定量法再分析樣品。

(三) 若待測物濃度高至可用 GC/MS 偵測到，單管柱或雙管柱分析法皆可用 GC/MS 做確認分析。

1. 單一化合物在萃液中之濃度需約為10 ng/ μ L，才能用全質譜掃描 (full-scan) GC/MS測定；用離子阱 (iontrap) 或選擇離子監測 (selected ion monitoring) 可測濃度低至1 ng/ μ L之待測物。
2. 當待測物在萃液中之濃度低於1 ng/ μ L時，不能用 GC/MS 做確認分析。
3. 用 GC/MS 做確認分析時，需用和 GC/ECD 分析時相同之萃液和相關之空白液。
4. 鹼/中/酸萃液和相關之空白液中需無擬似和內標準品之干擾時，才能用 GC/MS 做確認分析。
5. 同時用 GC/MS 分析含有待測物之品管樣品，需證實用 GC/ECD 測得樣品中之待測物，其濃度可足以用 GC/MS 確認。

九、品質管制

- (一) 使用與七、步驟 (一) 校正時相同之儀器條件分別注入一定體積之正己烷 (濃縮 20 倍以上)、異辛烷，檢查層析譜有無雜質干擾，以確定溶劑之適用性。
- (二) 從事樣品分析前必須以試劑水做空白試驗，確定試劑及玻璃器皿均無污染之虞後方可進行分析。
- (三) 從事魚、介類樣品分析時，應添加適當濃度之正己烷稀釋標準品於檢體，以檢核回收率，其檢核數量至少為樣品數目之 5% (若每月分析樣品之數目不超過 20 個，則至少每月需檢核一個)。首先分析一魚肉樣品測得其各待測成份濃度為B，稱之為背景濃度。再取同一批魚肉樣品，並加入適量之標準溶液，使添加後樣品之濃度為原來樣品濃度之1~5倍，經分析後測得各待測成分濃度為A，計算其添加百分回收率R。

公式如下：

$$\text{其中：} R=100 \times \left[\frac{(A-B)}{T} \right] \%$$

A=樣品及添加已知濃度標準液之分析值

B=樣品之背景濃度值

T=添加入樣品中標準溶液量

- (四) 分析樣品時，計算其平均回收率 (R) 和標準偏差 (S) 計算品質管制上限 (Upper Control Limit, UCL) = $R + 3S$ ，及品質管制下限 (Lower Control Limit, LCL) = $R - 3S$ 實驗室應經常保持其 UCL 及 LCL，並利用 UCL 及 LCL 建立品質管制圖表，以檢核經常操作之可信度。
- (五) 參考氣相色層分析法中的品質管制說明。及參考有機物萃取及樣品製備法 (NIEA R112.00C) 中的品質管制說明，確保適當的萃取及製備樣品。如需淨化，參考有機物淨化法中的品質管制說明。實驗室需維持一正式的品質保證系統，保存記錄數據品質之資料。
- (六) 評估氣相層析儀系統的操作條件，包括滯留時窗、檢量線確認和層析分析樣品。
- (七) 績效之起始證明：實驗室需分析乾淨基質中之待測物，才可接受準確度和精密度數據，以證明所採用之樣品製備和分析步驟的起始績效。訓練新進人員或儀器有重大改變時，需重複下述步驟。
1. 每 10 個 (若少於 10 個，則為每一批次) 樣品需分析一個品管樣品。
 2. 比較品管樣品的回收率與確認值，若有任一化合物之回收率低於 80% 或高出 120%，則可判定該實驗室之品管已失控，問題必須修正。應重新配製和分析一組新的檢量線標準溶液。
 3. 每 10 個樣品執行一檢量線確認，其反應因子 (RF) 若落在起始校正其反應因子 (RF) 之 15% 範圍外，實驗室需停止分析樣品，採取修正動作。
 4. 若用內標準品法定量，需評估內標準品之可接受性，分析樣品時之內標準品的面積，需落在校正時之內標準品的平均面積之 50% 範圍內。當內標準品之尖峰面積落在上述範圍外時，需重新分析所有超過品管要求之樣品。
- (八) 樣品製備和分析之品質管制：實驗室需有記錄影響方法績效 (如精密度、準確度和偵測極限) 之樣品基質效應的步驟。每一批次

樣品需至少分析方法空白、重複分析及實驗室管制樣品 (LCS) 等品管樣品。

1. 需至少分析一個重複分析樣品或一個基質添加重複樣品。視對該批次樣品之了解程度，決定重複分析之樣品為原始樣品或基質添加樣品。若樣品可能含有待測物時，則分析一個基質添加和一個重複分析樣品；若樣品不可能含有待測物時，則分析一個基質添加和一個基質添加重複樣品。
2. 分析每一批次樣品中，需包括一個 LCS，LCS 為和樣品同重或同體積，且與樣品基質類似之乾淨（管制）基質，添加至 LCS 中之待測物的量和添加至基質添加樣品中的量是相同的。若基質添加分析結果顯示有來自樣品基質本身之潛在性問題，可用 LCS 之分析結果證實該實驗室有能力分析基質乾淨之樣品。
3. 參考廢棄物檢測方法中氣相色層分析法中第七節有關樣品製備和分析之詳細的品管步驟。

(九) 使用本方法時，實驗室最好有額外的品質保證動作，視實驗室之需要和樣品之特性，採行最有效之動作，實驗室須儘可能分析標準參考物質 (SRM)，並參加相關的績效評比研究。

(十) 如未建立標準品添加管制圖表者預先使用之管制範圍 Aroclors 為 50% 至150%。單個 IUPAC 多氯聯苯同屬物 60% 至140%。俟有新建立圖表後再使用新圖表。

十、準確度和精密度

(一) 單個多氯聯苯同屬物 IUPAC 魚介類其方法偵測極限小於20 ng/g。

(二) 本方法的準確度和精密度取決於樣品基質、樣品前處理步驟、選用的淨化步驟、和使用之檢量方法。

(三) 研究方法績效時，以Aroclors法測得之濃度較多氯聯苯同屬物法測得之濃度為高，環境參考物質的同屬物回收率則介於確認值之51%至66%間。

(四) IUPAC 單個多氯聯苯同屬物魚介類同屬物回收率介於 60% 至140%。

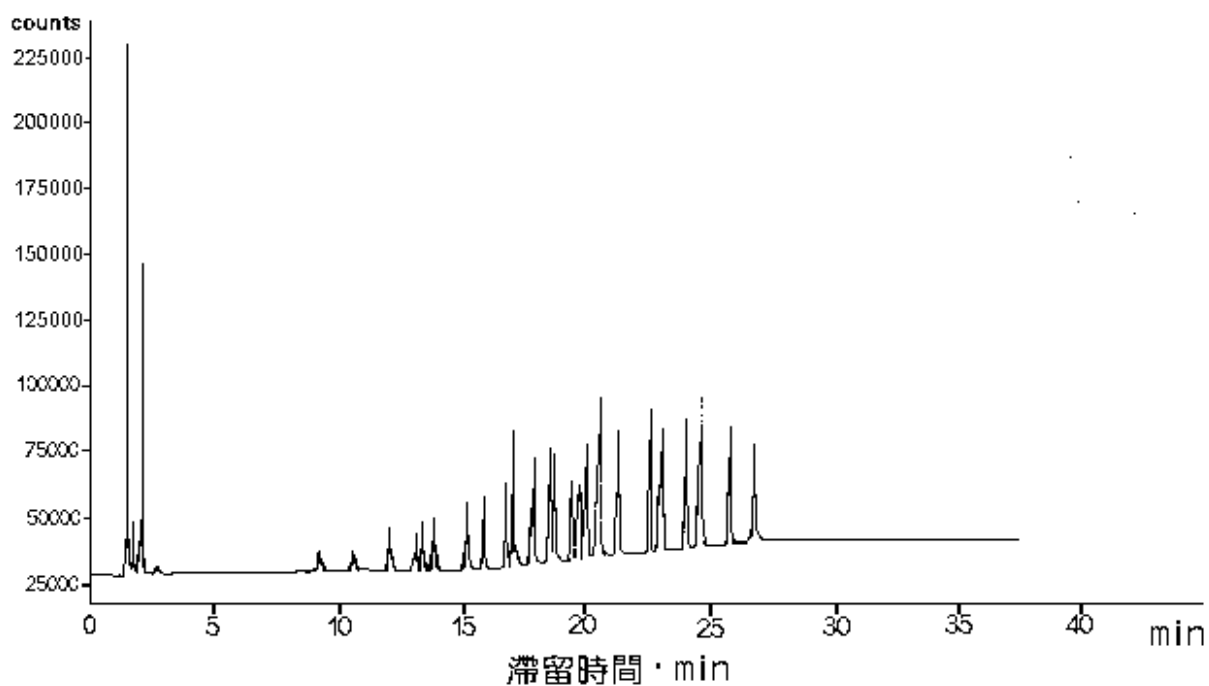
十一、參考資料

- (一) 行政院環境保護署環境檢驗所。環境生物檢測方法。魚貝類體內多氯聯苯檢測方法。C611.00T-1，1997。
- (二) 行政院環境保護署環境檢驗所。廢棄物檢測方法。多氯聯苯檢測方法-毛細管柱氣相層析法。R611.20C-1，1997。
- (三) 行政院環境保護署環境檢驗所。廢棄物檢測方法。氣相色層分析法M102.00T-1，1997。
- (四) Anaal chemistry of PCBs chap. 3. ANAYLYTICAL PROCEDURES pp. 55-62
- (五) Michele. M. Schtz. Comparison of methods for the gas-chromatographic determination of PCB congeners and chlorinated pesticides in marine reference materials. Fressenius. J. Anal chem 346 ; 776-778，1993。
- (六) U. S. EPA. Polychlorinated Biphenyls (PCBs) by Capillary Column Gas Chromatography. Test Methods for Evaluating Solid Waste, Method 8082, 1995.
- (七) Lopez-Avila, V., Baldin, E., Benedicto, J, Milanes, J., Beckert, W. F., Application of Open-Tubular Columns to SW-846 GC Methods", final report to the U. S. Environmental Protection Agency on Contract 68-03-3511, Mid-Pacific Environmental Laboratory, Mountain View, CA 1990.

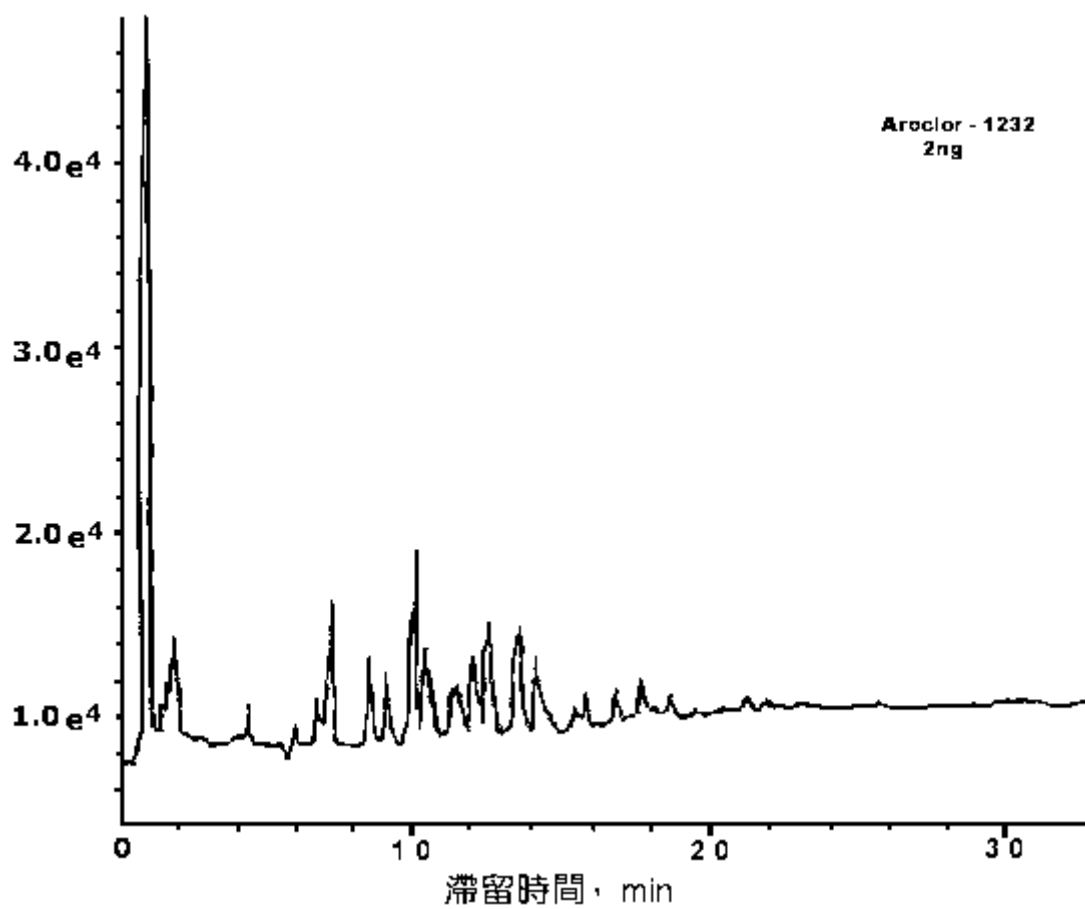
註：安全

1. 本方法所使用各種試劑之毒性或致癌性並不明確，但極可能對人體健康有害，故應儘量避免可能的曝露。檢驗室應有勞工主管機關對於各化合物之安全操作規定，並將有關資料分送實驗人員。多氯聯苯對人或哺乳動物可能引起致癌，應於抽風櫃內配製儲備標準溶液。
2. 在處理多氯聯苯樣品時，應穿實驗衣，戴上防毒口罩及手套，並避免多氯聯苯樣品沾到皮膚，眼睛或衣服，若不小心沾到時，最好以肥皂清洗後再用水沖洗乾淨。

3. 使用有機溶劑時，應在抽風櫃中進行，以減少操作人員吸入太多量之溶劑。
4. 廢液之儲存與分類。
皂化與淨化之廢液為非含氯廢液，樣品及標準品為含氯之廢液。應分開儲存及處理。



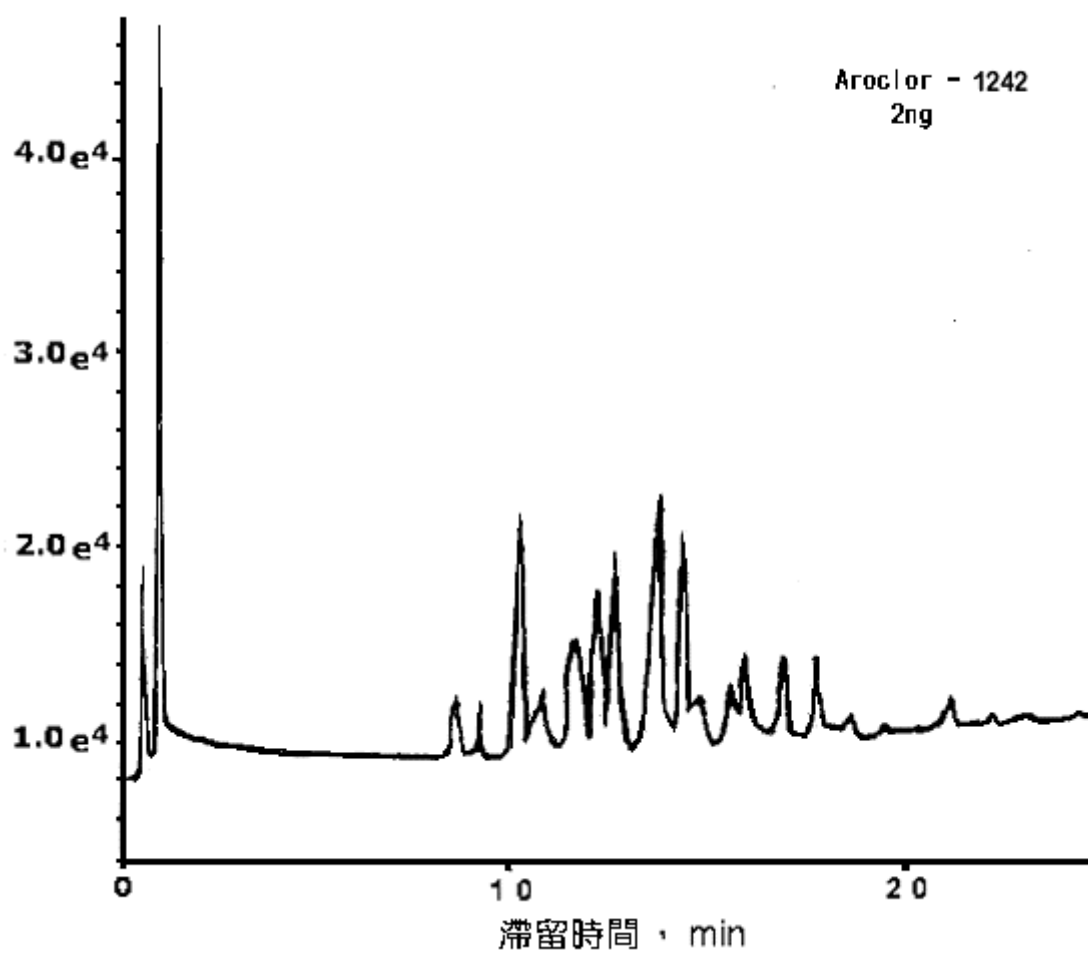
圖一 IUPAC No. 8、18、28、52、47、44、101、87、118、110、77、153、105、138、126、187、128、185、157、170、203、195、194、206、209之層析圖：層析分析管DB-5，30m(長度)×0.53mm(內徑)管柱初溫 150°C，升溫速率5°C/min，管柱終溫290°C



圖二 Aroclor-1232之層析圖：

層析分析管 DB-1，30m(長度) ×0.53mm(內徑)

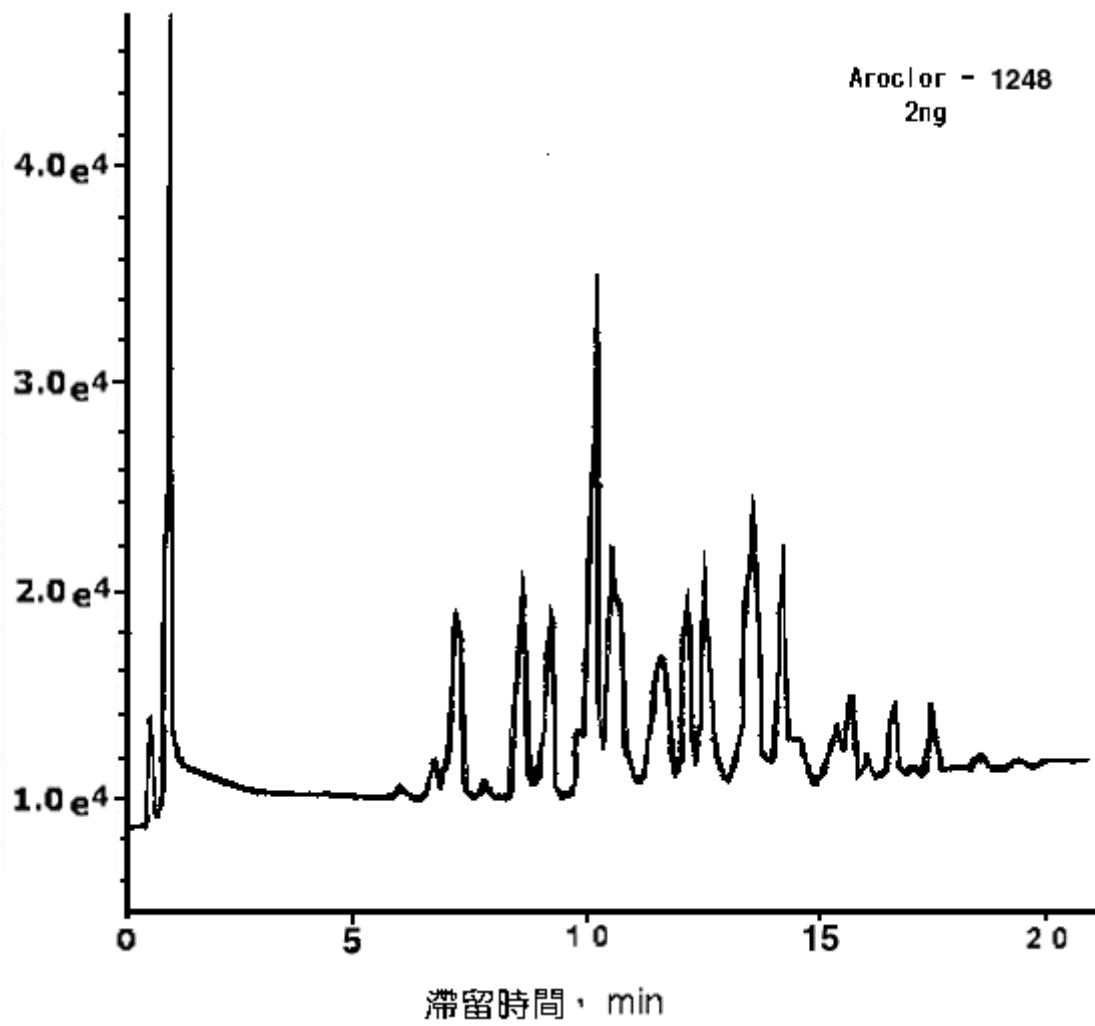
管柱初溫 150°C，升溫速率5°C/min，管柱終溫250°C



圖三 Aroclor-1242之層析圖：

層析分析管 DB-1，30m(長度) × 0.53mm(內徑)

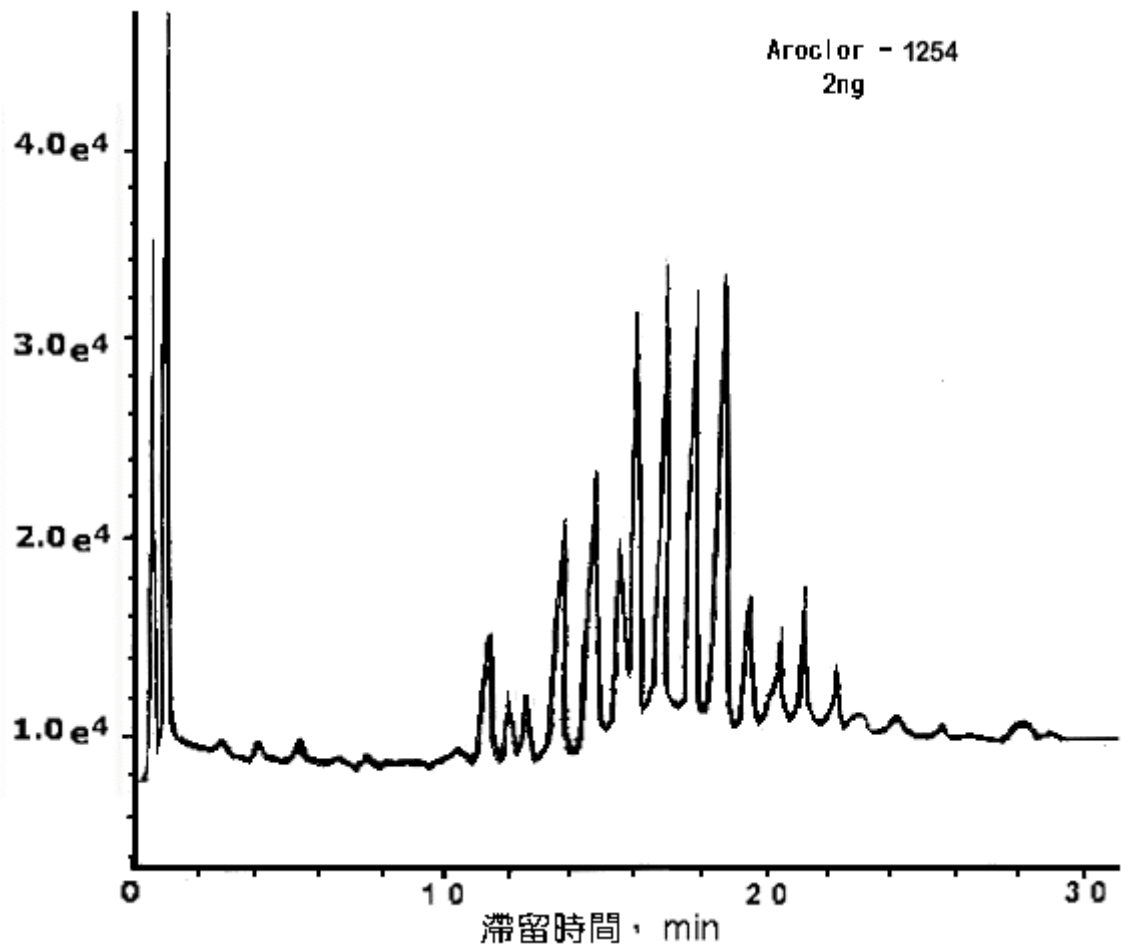
管柱初溫 150°C，升溫速率 5°C/min，管柱終溫 250°C



圖四 Aroclor-1248之層析圖：

層析分析管 DB-1，30m(長度) × 0.53mm(內徑)

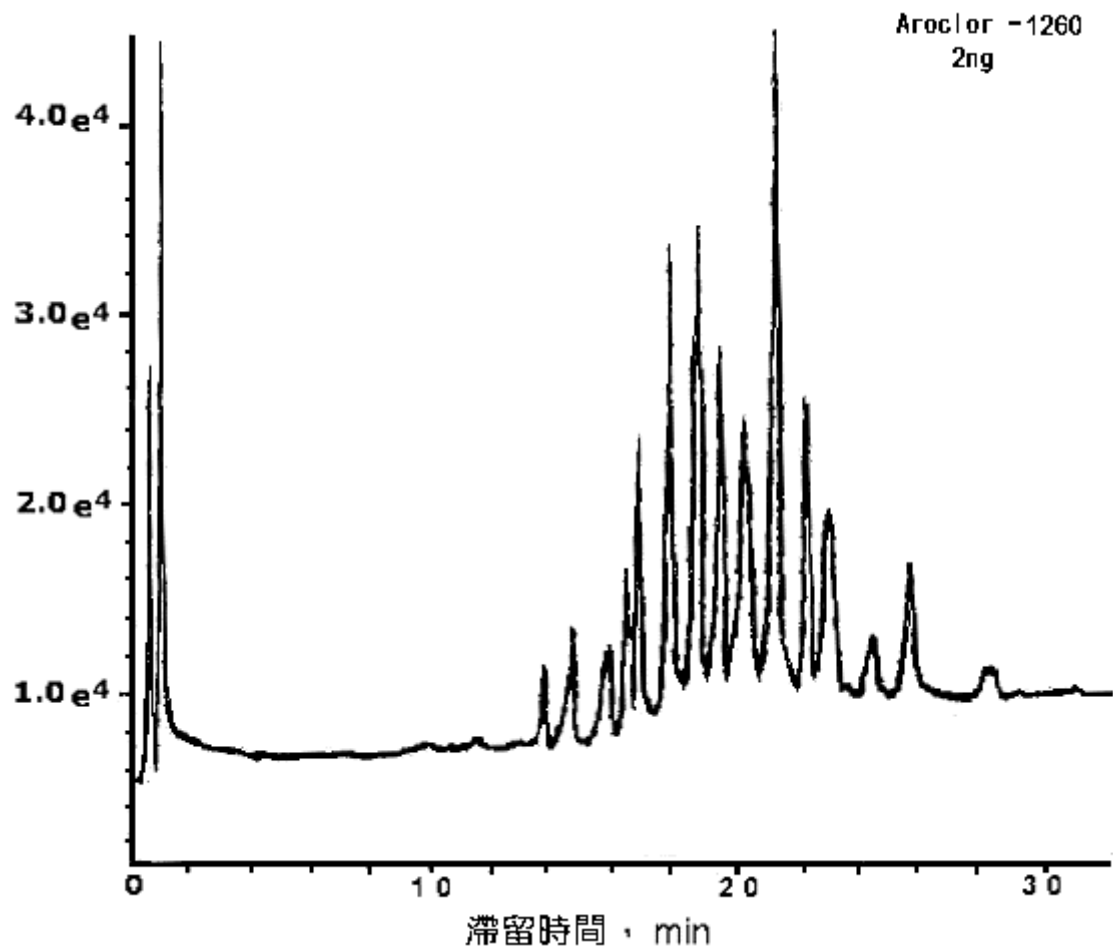
管柱初溫 150°C，升溫速率 5°C/min，管柱終溫 250°C



圖五 Aroclor-1254之層析圖：

層析分析管 DB-1，30m(長度) × 0.53mm(內徑)

管柱初溫 150°C，升溫速率5°C/min，管柱終溫250°C



圖六 Aroclor-1260之層析圖：

層析分析管 DB-1, 30m(長度) × 0.53mm(內徑)

管柱初溫 150°C, 升溫速率 5°C/min, 管柱終溫 250°C