

環境用藥檢測方法－層析法

中華民國 103 年 9 月 5 日環署檢字第 1030074114 號公告

自中華民國 103 年 12 月 15 日生效

NIEA D902.09B

一、方法概要

環境用藥樣品，經以「環境用藥檢測方法－樣品製備法（一）（NIEA D901）」選擇適當前處理方式進行萃取或稀釋後，依本方法中敘述之分析參考條件，以氣相層析儀-火燄離子偵測器（GC/FID）或高效能液相層析儀-紫外光偵測器（HPLC/UV），檢測其中待測物的含量。

二、適用範圍

本方法適用於檢測環境用藥中有效成分為有機物且可溶於一般有機溶劑（如丙酮、甲醇、乙腈等）的樣品。適用之待測物及層析法參考如表一所示。其他未在表列中的待測物經驗證，亦可適用本方法。

三、干擾

- （一）處理分析數據時，必須對方法空白樣品及樣品分析所得之原始數據仔細評估，確認樣品在前處理過程中，並未遭到污染，若發現可能有污染的情況，必須採取修正措施以解決污染的問題。
- （二）當低濃度樣品緊接在高濃度樣品之後分析時，可能會有跨次污染的現象發生，因此在高濃度樣品分析完成後，注射針必須以溶劑清洗乾淨，並以此注射針注入分析空白溶劑，確認並無殘留污染的情況。
- （三）對以氣相層析儀-火燄離子偵測器或高效能液相層析儀-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

必須配備完整的管端注射器和相關配件，包括火燄離子偵測器（FID）、管柱組件、氣體和注射針等。並有數據處理系統以量測尖峰面積或高度，參考「層析檢測方法總則（NIEA

M150) 」。

其管柱可使用下列管柱：

1. DB - 1，30 m × 0.53 mm，膜厚度 0.88 μm，或同級品。
2. DB - 5，30 m × 0.53 mm，膜厚度 0.88 μm，或同級品。

(二) 高效能液相層析儀

必須配備紫外光偵測器及具量測尖峰面積、高度與滯留時間功能之資料處理系統，參考「層析檢測方法總則 (NIEA M150) 」。

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) × 4.6 mm (內徑) 或同級品。
- (3) Lichrosorb CN，5 μm (粒徑) 250 mm (長) × 4 mm (內徑) 或同級品。
- (4) Lichrosorb Si，7 μm (粒徑) 250 mm (長) × 4 mm (內徑) 或同級品。
- (5) XBridge HILIC，3.5 μm (粒徑) 100 mm (長) × 2.1 mm (內徑) 或同級品。

2. 梯度泵送系統：移動相及流速參考如表二。

3. 過濾除氣 (degas) 裝置：溶劑於使用前須先除氣，並經 0.45 μm 過濾器去除其中的粒狀物，以避免高壓泵的活塞被磨損。

(三) 天平：可精秤至 0.1 mg。

(四) 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 (10.0 μL) 或自動注射器。

(六) 冷藏箱 (或櫃)。

(七) 氮氣：純度 99.999% 以上。使用時須以脫水及脫氧裝置淨化之。

(八) 空氣及氫氣：使用時須以脫水裝置淨化之。

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) 所有檢測時使用的試劑化合物或溶劑均必須是試藥級，除非另有說明。若需使用其他等級試劑，在使用前必須確認該試劑的純度足夠高，使檢測結果的準確度不致降低。

(三) 待測物儲備標準溶液：依檢測需要秤量約為 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 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；建議將標準溶液儲存於鐵氟龍密封的容器內，保存於 $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ，暗處。每年或更短時間內 (若例行的品管分析發現問題時) 更換。

(四) 內標準品儲備溶液：建議之內標準品有鄰苯二甲酸二正丁酯 (Di-*n*-butylphthalate)、鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (Di-(2-ethylhexyl) phthalate)、鄰苯二甲酸二異丁酯 (Di-*iso*-butylphthalate)、鄰苯二甲酸二甲酯 (Dimethylphthalate) 等化合物，可稱取上述高純度內標準品約 0.25 g (精稱至 0.1 mg) 分置於 50 mL 之定量瓶中，以丙酮 (或適當溶劑) 稀釋至標線，此標準品濃度約為 5 mg/mL。再依步驟七、(二) 選擇適當之內標準品。

(五) 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 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)，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。

(六) 磷酸溶液 (0.002 M)：取 0.461 g 磷酸 (85%)，以試劑水定量至 2000 mL。

(七) 磷酸溶液 (0.0025M)：取 0.576 g 磷酸 (85%)，以試劑水定

量至 2000 mL。

(八) 檸檬酸溶液 (0.05%)：取 0.5 g 試藥級之檸檬酸，溶解於 1 L 試劑水中。

六、採樣及保存

經前處理後之樣品萃取液，應儘快分析，若不能及時分析，則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

(一) 層析儀測定：

所使用的管柱與條件應能有效分離待測物，參考下列建議條件，以氣相層析儀或高效能液相層析儀分析建立檢量線。而分析員如能證明其他層析條件足以定性及定量待測物，便可改變這些條件。

1. 氣相層析法：

層析管柱：DB - 5，30 m × 0.53 mm，膜厚度 0.88 μm。

層析溫度：100 ~ 270°C (視待測物種類選取適當溫度或升溫過程)。

注入埠溫度：280°C。

偵測器溫度：300°C。

載流氣體及總流速：氦氣 6 mL/min。

輔助氣體及流速：氦氣 45 mL/min。

FID 氣體及流速：氦氣 40 mL/min，空氣 350 mL/min (或依製造廠商建議)。

注入量：1 至 2.0 μL。

分析條件可採分流或不分流，由分析員依樣品濃度高低及必要性決定。

2. 液相層析法：

以高效能液相層析法分析之待測物，可參考表二所列之各項條件，惟實際操作時，可視實驗室情況做必要之調整。

(二) 內標準品之選擇：

稀釋待測有效成分及各內標準品儲備溶液至 0.5 mg/mL 左右，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。

(三) 檢量線製備：

1. 配製至少五種不同濃度之待測物的校正標準溶液，於樣品注入儀器前，加入一定濃度之內標準品；校正標準溶液的濃度，可配合預期之真實樣品的濃度範圍作適當的調整。
2. 分析完成後，建立校正之檢量線，可利用線性迴歸校正法，或利用計算感應因子 (Response Factor, RF) 或校正因子 (Calibration Factor, CF) 之校正方法。

(1) 線性迴歸校正法 (Linear regression)：

利用統計技術製備最適直線之檢量線，最常用為最小平方法 (Least squares method)。此校正公式可使電腦化儀器直接讀出濃度數據，作為定量之量測。迴歸線之最適性，以其相關係數 (Correlation coefficient, r) 評估。

(2) 採用內標準法校正計算感應因子 (Response Factor, RF)：

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

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：

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

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

(3)採用外標準法校正計算校正因子（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（ μg ）。

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. 若在校正範圍內的迴歸線之相關係數、校正因子的 $RSD\%$ 或感應因子的 $RSD\%$ 不符方法品質管制標準，則不可假設校正曲線為通過原點的直線，可應用不通過原點的線性校正方式，參考「層析檢測方法總則」七、(五) 2、(3) 節所述的迴歸方程式，待測物的濃度 (x) 是由面積訊號 (y)、斜率 (a) 及截距 (b) 計算而得：

$$y = ax + b$$

4. 以下列公式計算相對誤差值：

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

5. 完成初始檢量線後，每一工作天，可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校正標準品，將此單個校正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 $\pm 10\%$ 以內，則初始檢量線仍然有效，否則應重新製作檢量線。

(四) 樣品分析：

取適量經過前處理之環境用藥樣品（可參考「環境用藥檢測方法—樣品製備法（一）（NIEA D901）」），通常樣品中待測物之濃度應於檢量線最高濃度之 20% 至 80% 間較為適當，加入適量之內標準品儲備溶液，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

(一) 採用內標準法校正：

待測物濃度計算公式：

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

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。

(二) 採用外標準法校正：

待測物濃度計算公式：

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

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) 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：

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

C ：待測物之濃度 (mg/mL)。

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：

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

f : 重量校正因子(參見「環境用藥檢測方法—樣品製備法(一)」
八、結果處理)。

3. 樣品為電蚊香片時，修正公式為：

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

片：所取電蚊香片數。

九、品質管制

- (一) 檢量線至少包含五種不同濃度，其感應因子或校正因子之相對標準偏差 ($RSD\%$) 應小於或等於 10%。
- (二) 使用迴歸方程式的校正方式，其線性相關係數 (r) 應大於或等於 0.995。
- (三) 方法空白樣品分析結果，若於積分滯留時窗內有足以影響待測物積分值之其他層析峰，應執行必要修正措施排除空白污染後再重新分析。同一批次之樣品分析時，應同時執行一方法空白樣品分析。空白樣品分析值，應小於檢量線最低點濃度之 1/10。

十、精密度與準確度

略。

十一、參考資料

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。

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，依一般含氯及不含氯有機廢液處理原則處理。

表一、環境用藥適用之建議層析法

中文名稱	英文名稱	適用層析法*	中文名稱	英文名稱	適用層析法
亞列寧	Allethrin	GC	依普寧	Imiprothrin	GC
亞滅寧	Alphacypermethrin	GC	因得克	Indoxacarb	GC HPLC
亞滅松	Azamethiphos	HPLC	剋特寧	Kadethrin	GC
免敵克	Bendiocarb	HPLC	賽洛寧	Lambda-cyhalothrin	GC
畢芬寧	Bifenthrin	GC	協力克	M.G.K-264	GC
百亞列寧	Bioallethrin	GC	馬拉松	Malathion	GC
可滅鼠	Brodifacoum	HPLC	納乃得	Methomyl	HPLC
撲滅鼠	Bromadiolone	HPLC	美賜平	Methoprene	GC HPLC
陶斯松	Chlorpyrifos	GC	美特寧	Metofluthrin	GC
剋滅鼠	Coumatetralyl	GC HPLC	乃力松	Naled	GC
甲酚	Cresol	GC	萘	Naphthalene	HPLC
賽飛寧	Cyfluthrin	GC	鄰-苯甲基 對氯酚	o-Benzyl-p-Chloro-phenol	GC
賽滅寧	Cypermethrin	GC	鄰-苯基苯 酚	o-Phenylphenol	GC
賽滅淨	Cyromazine	GC	對氯酚	p-Chlorophenol	GC
賽酚寧	Cyphenothrin	GC	對-二氯苯	p-Dichlorobenzene	GC
異亞列寧	d-Allethrin	GC	百滅寧	Permethrin	GC
敵避	Deet	GC	酚丁滅寧	Phenothrin	GC
第滅寧	Deltamethrin	GC HPLC	協力精	Piperonyl Butoxide	GC
雙滅鼠	Difenacoum	HPLC	亞特松	Pirimiphos-Methyl	GC

中文名稱	英文名稱	適用層析法*	中文名稱	英文名稱	適用層析法
立滅鼠	Difethialone	HPLC	普亞列寧	Prallethrin	GC
二福隆	Diflubenzuron	HPLC	安丹	Propoxur	GC HPLC
1-二甲氨基-2-甲基-2-丙醇	1-Dimethylamino-2-methyl-2-propanol	HPLC	對-第三戊酚	p-ter-Amylphenol	GC
得伐鼠	Diphacinone	HPLC	地亞列寧	Pynamin D Forte	GC
異治滅寧	d-Tetramethrin	GC	必列寧	Pyrethrins	GC
益避寧	Empenthrin	GC	必芬松	Pyridaphenthion	GC
賜百寧	Esbiothrin	GC	百利普芬	Pyriproxyfen	GC
依芬寧	Etofenprox	GC	列滅寧	Resmethrin	GC
撲滅松	Fenitrothion	GC	右亞列寧	S-Bioallethrin	GC
芬殺松	Fenthion	GC	亞培松	Temephos	HPLC
芬化利	Fenvalerate	GC	治滅寧	Tetramethrin	GC
芬普尼	Fipronil	GC HPLC	賽速安	Thiamethoxam	HPLC
伏滅鼠	Flocoumafen	HPLC	特多寧	Tralomethrin	HPLC
蜚蠊對醌性費洛蒙	Gentisyl quinone isovalerate	HPLC	拜富寧	Transfluthrin	GC
戊二醛**	Glutaraldehyde	HPLC	維生素D3	Vitamin D3	HPLC
六伏隆	Hexaflumuron	HPLC	殺鼠靈	Warfarin	HPLC
愛美松	Hydramethylnon	GC HPLC	家蠅費洛蒙	Z-9-Tricosene	GC
益達胺	Imidacloprid	HPLC	四級銨鹽類***	Quaternary ammonium salts	GC

* GC：氣相層析儀，HPLC：高效能液相層析儀。

** 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參考條件

中文名稱	英文名稱	層析管柱*	移動相	流速 (mL/min)	偵測波長(nm)
亞滅松	Azamethiphos	3	甲醇：水 (85:15,v/v)	1.0	254
免敵克	Bendiocarb	1	甲醇：乙腈：水 (22.5:22.5:55,v/v)	2.0	254
第滅寧	Deltamethrin	1	甲醇:水 (85:15,v/v)	1.0	254
雙滅鼠	Difenacoum	1	甲醇：水：TBS緩衝液 (70:28:2,v/v)	1.0	254
得伐鼠	Diphacinone	1	甲醇：水：TBS緩衝液 (60:20:20,v/v)	1.0	285
愛美松	Hydramethylnon	3	正己烷：異丙醇 (0.01%NH ₄ OH) (50:50,v/v)	1.0	254
因得克	Indoxacarb	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	Imidacloprid	1	乙腈：0.05%檸檬酸 (30:70,v/v)	1.0	270
納乃得	Methomyl	1	甲醇：水 (55:45,v/v)	1.3	228
美賜平	Methoprene	1	甲醇：水 (85:15,v/v)	1.0	254
安丹	Propoxur	1	乙腈：水 (60:40,v/v)	1.5	280
特多寧	Tralomethrin	4	正己烷：乙酸乙酯 (95:5,v/v)	1.5	278
亞培松	Temephos	4	正己烷：乙酸乙酯 (95:5,v/v)	1.6	254
可滅鼠	Brodifacoum	1	甲醇：0.2%冰醋酸 (90:10,v/v)	1.0~1.5	254

中文名稱	英文名稱	層析管柱*	移動相	流速 (mL/min)	偵測波長(nm)
撲滅鼠	Bromadiolone	1	甲醇：1%冰醋酸 (80:20,v/v)	1.0~1.5	254
立滅鼠	Difethialone	1	甲醇：0.002 M磷酸 (90:10,v/v)	2.0	254
伏滅鼠	Flocoumafen	1	甲醇：0.2%冰醋酸 (80:20,v/v)	1.0~2.0	254
戊二醛	Glutaraldehyde	1	乙腈：水 (55：45,v/v)	1.0	365
維生素D3	Vitamin D3	2	正己烷：乙醇 (99:1,v/v)	1.8	254
殺鼠靈	Warfarin	1	甲醇：0.0025 M磷酸 (70:30,v/v)	1.0	254
賽速安	Thiamethoxam	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- -2-甲基-2- 丙醇	1-Dimethylamino-2- -methyl-2-propanol	5	ACN (含0.1%醋酸銨)： 水 (含0.1%醋酸銨) (85：15, v/v)	0.4	254
蜚蠊對醌 性費洛蒙	Gentisyl quinone isovalerate	1	甲醇：0.1%醋酸水溶液 (85:15,v/v)	1	256
萘	Naphthalene	1	甲醇：水 (80:20,v/v)	1	254
剋滅鼠	Coumatetralyl	1	甲醇：1%醋酸水溶液 (80:20,v/v)	1	254
芬普尼	Fipronil	1	甲醇：乙腈：水(40:30:30,v/v)	1	220
二福隆	Diflubenzuron	1	乙腈：水：異丙醇 (75:20:5,v/v)	1	254
六伏隆	Hexaflumuron	1	(1) 甲醇:水 (50:50,v/v) 或 (2) 乙腈:水 (65:35,v/v)	0.5~1.0	(1) 230或 (2) 254

*參見四、設備與材料中所列液相層析管柱編號