

# 環境用藥檢測方法－層析法

中華民國 108 年 10 月 2 日環署授檢字第 1080006195 號公告

自中華民國 109 年 1 月 15 日生效

NIEA D902.0aB

## 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（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／火燄離子化偵測器（Gas Chromatograph/Flame Ionization Detector, GC/FID）或高效能液相層析儀／紫外光偵測器（High Performance Liquid Chromatograph, HPLC/UV），檢測樣品中待測物的含量。

## 二、適用範圍

本方法適用於環境用藥中有效成分之檢測。參考表一選擇層析方法。表一未列之環境用藥項目經確認後亦可使用本方法檢測。

## 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。
- （二）對以氣相層析儀／火燄離子化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／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-1，30 m × 0.53 mm，膜厚 0.88 μm，或同級品。

（2）DB-5，30 m × 0.53 mm，膜厚 0.88 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）高效能液相層析儀／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  $\mu\text{m}$  (粒徑) 250 mm (長)  $\times$  4.6 mm (內徑) 或同級品。
- (2) ABI Spheri-5， Amino， 5  $\mu\text{m}$  (粒徑) 220 mm (長)  $\times$  4.6 mm (內徑) 或同級品。
- (3) Lichrosorb CN， 5  $\mu\text{m}$  (粒徑) 250 mm (長)  $\times$  4 mm (內徑) 或同級品。
- (4) Lichrosorb Si， 7  $\mu\text{m}$  (粒徑) 250 mm (長)  $\times$  4 mm (內徑) 或同級品。
- (5) XBridge HILIC， 3.5  $\mu\text{m}$  (粒徑) 100 mm (長)  $\times$  2.1 mm (內徑) 或同級品。
- (6) Phenomenex， Gemini C18， 3  $\mu\text{m}$  (粒徑) 100 mm (長)  $\times$  2 mm (內徑) 或同級品。
- (7) 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。

(六) 氮氣：純度 99.999%以上

(七) 空氣及氫氣。

## 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 級或更高純度。

(三) 丙酮、二氯甲烷及其它溶劑：殘量級或同級品。

- (四) 氨水、磷酸、冰醋酸、醋酸、醋酸銨、甲酸、氫氧化鈉：試藥級或同級品。
- (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；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。
- (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) 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。
- (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 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )，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。
- (八) 磷酸溶液，0.002 M：取 0.461 g 磷酸 (85%)，以試劑水定容至 2000 mL。
- (九) 磷酸溶液，0.0025M：取 0.576 g 磷酸 (85%)，以試劑水定容至 2000 mL。
- (十) 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、採樣與保存

萃取液應以瓶蓋附有鐵氟龍內襯之玻璃瓶密封後，保存於  $6^\circ\text{C}$  以下冷藏，並在 40 天內完成分析。

## 七、步驟

### (一) 層析儀測定：

1. 氣相層析儀操作條件如下；亦可視實際需要適當調整：

層析管柱：DB-5，30 m × 0.53 mm，膜厚 0.88 μm。

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：氦氣，流量 6 mL / min。

輔助氣體：氦氣，流量 45 mL / min。

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

注射體積：1.0 μL 至 2.0 μL。

2. 以高效能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) 內標準品之選擇：

使用各內標準品儲備溶液 0.25 mg / mL 至 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。

## (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、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)：

此為線性模式，利用統計技術，製備最適直線之檢量線 (Best straight calibration line)，最常用者為最小平方方法 (Least squares method)，求得各測定值之最適迴歸線，此校正公式可使電腦化儀器能直接將濃度數據讀出，同時以校正之最適公式 (Goodness-of-Fit equation) 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，此值介於 1 和 0 之間，以 1 為最大之相關。

(2) 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) 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（ $\mu\text{g}$ ）。

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. 感應因子之相對標準偏差（RSD %）應小於或等於 20%，或線性係數(r)應大於等於 0.995。
4. 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。
5. 以下列公式計算相對誤差值：

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

#### （四）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，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：

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

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。

(二) 採用外標準法校正：

待測物濃度計算公式：

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

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) 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：

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

其中

$C$ ：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：

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

其中

$$f: \text{重量校正因子 ( } f) = (W_2 - W_0) / (W_1 - W_0)$$

$W_1$ : 噴霧罐未洩壓前樣品總重。

$W_2$ : 噴霧罐洩壓後重量。

$W_0$ : 噴霧罐空罐重量。

記錄此校正因子，計算樣品含量時使用。

3. 樣品為電蚊香片時，修正公式為：

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

其中

$C$ : 待測物之濃度 (mg / mL)

$V$ : 樣品製備總體積 ( mL)

片: 所取電蚊香片數。

## 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 (一) NIEA D901.01B，中華民國 98 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、環境用藥適用之建議層析法

中文名稱	英文名稱	建議層析法*	中文名稱	英文名稱	建議層析法
亞列寧	Allethrin	GC	伊默寧	IR3535	HPLC
亞滅寧	Alphacypermethrin	GC	剋特寧	Kadethrin	GC
亞滅松	Azamethiphos	HPLC	賽洛寧	Lambda-cyhalothrin	GC
免敵克	Bendiocarb	HPLC	協力克	M.G.K-264	GC
畢芬寧	Bifenthrin	GC	馬拉松	Malathion	GC
百亞列寧	Bioallethrin	GC	苦參鹼	Matrine	HPLC
可滅鼠	Brodifacoum	HPLC	納乃得	Methomyl	HPLC
撲滅鼠	Bromadiolone	HPLC	美賜平	Methoprene	GC HPLC
克凡派	Chlorfenapyr	GC	美特寧	Metofluthrin	GC
陶斯松	Chlorpyrifos	GC	乃力松	Naled	GC
剋滅鼠	Coumatetralyl	GC HPLC	萘	Naphthalene	HPLC
甲酚	Cresol	GC	諾福隆	Noviflumuron	HPLC
賽飛寧	Cyfluthrin	GC	鄰-苯甲基對氯酚	o-Benzyl-p-Chlorophenol	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	派卡瑞丁	Picaridin	GC

中文名稱	英文名稱	建議層析法*	中文名稱	英文名稱	建議層析法
雙滅鼠	Difenacoum	HPLC	協力精	Piperonyl Butoxide	GC
立滅鼠	Difethialone	HPLC	亞特松	Pirimiphos-Methyl	GC
二福隆	Diflubenzuron	HPLC	普亞列寧	Prallethrin	GC
1-二甲氨基-2-甲基-2-丙醇	1-Dimethylamino-2-methyl-2-propanol	HPLC	安丹	Propoxur	GC HPLC
達特南 (達特胺)	Dinotefuran	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	三福隆	Triflumuron	HPLC
六伏隆	Hexaflumuron	HPLC	維生素D3	Vitamin D3	HPLC
愛美松	Hydramethylnon	GC HPLC	殺鼠靈	Warfarin	HPLC
益達胺	Imidacloprid	HPLC	家蠅費洛蒙	Z-9-Tricosene	GC
依普寧	Imiprothrin	GC	四級銨鹽類**	Quaternary ammonium salts	GC

中文名稱	英文名稱	建議層析法*	中文名稱	英文名稱	建議層析法
因得克	Indoxacarb	GC HPLC			

\* 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建議條件

中文名稱	英文名稱	建議 層析 管柱*	移動相	流量 (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/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/v)	1.0	254
得伐鼠	Diphacinone	1	甲醇：水：TBS緩衝液 (60:20:20, v/v/v)	1.0	285
愛美松	Hydramethylnon	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	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% (w/v) 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

中文名稱	英文名稱	建議 層析 管柱*	移動相	流量 (mL/min)	偵測波長 (nm)
可滅鼠	Brodifacoum	1	甲醇：0.2% (v/v) 冰醋酸 (90:10, v/v)	1.0~1.5	254
撲滅鼠	Bromadiolone	1	甲醇：1% (v/v) 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% (v/v) 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-甲基-2-丙醇	1-Dimethylamino-2-methyl-2-propanol	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	Gentisyl quinone isovalerate	1	甲醇：0.1% (v/v) 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% (v/v) 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/v)	1	220

中文名稱	英文名稱	建議 層析 管柱*	移動相	流量 (mL/min)	偵測波長 (nm)
二福隆	Diflubenzuron	1	乙腈：水：異丙醇 (75:20:5, v/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
伊默寧	IR3535	1	乙腈：水 (40:60, v/v)	1	220
苦參鹼	Matrine	1	異丙醇：3% (v/v) 磷酸： 乙腈 (20：15：65, v/v/v)	1.5	210
諾福隆	Noviflumuron	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	Triflumuron	6	水：乙腈 (15:85, v/v)	0.25	254
達特南 (達特胺)	Dinotefuran	1	甲醇：0.1% (v/v) 甲酸 (95:5, v/v)	0.5	270

\*參見四、設備與材料中所列液相層析管柱編號