

水中嘉磷塞檢測方法—液相層析儀／管柱後衍生／螢光偵測器法

中華民國 103 年 7 月 2 日環署檢字第 1030054467 號公告

自中華民國 103 年 10 月 15 日生效

NIEA W655.51B

一、方法概要

水樣經過濾後，直接注入高效能液相層析儀（HPLC）中，經陽離子交換管柱及等位沖提分離後，嘉磷塞（Glyphosate）被次氯酸鈣氧化成甘胺酸（Glycine），再與鄰苯二甲醛（o-Phthaldehyde, OPA）和 2-巰醇乙醇（2-Mercaptoethanol）反應生成螢光物質（Isoindile），用螢光偵測器在 340 nm 之激發波長，455 nm 之發射波長測其螢光強度，以求得水樣中嘉磷塞之濃度。

二、適用範圍

本方法適用於飲用水、放流水、地下水及地面水體（不含海水）中嘉磷塞之檢測。

三、干擾

- （一）本方法之干擾可能來自於溶劑、試劑、玻璃器皿、塑膠器皿，及其他處理過程所接觸器具之污染。這些干擾可能會產生假峰或基線偏高。因此，必須以試劑水進行系統空白試驗，以確定在此分析條件下，所用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。使用後之玻璃器皿應儘快以最終使用之溶劑潤濕，接著用熱水泡清潔劑清洗，然後以自來水和試劑水淋洗。玻璃器皿晾乾後，放在烘箱內烘乾（注意：量瓶不可加熱）。亦可用丙酮徹底淋洗玻璃器皿以取代加熱法。玻璃器皿乾燥及冷卻後，密封其開口並放置於乾淨的環境中。儲存時應將玻璃器皿倒置或用鋁箔紙覆蓋於其上，以防止灰塵或其他污染物的累積。
- （三）使用殘量分析級或高純度的試劑及溶劑可將干擾程度減至最小，必要時應使用蒸餾及再結晶等方法純化之。
- （四）水樣中化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。但飲用水基質不會造成干擾。

- (五) 樣品在運送或儲存過程中可能會遭到污染，尤其是吸附在瓶壁上之逸失，須分析野外樣品以確定運送和儲存步驟可以防止污染。
- (六) 水樣中污染物之極性若與待測物類似則可能造成干擾，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之層析管柱對分析結果予以再確認。

四、設備及材料

- (一) 採樣瓶：附鐵氟龍內襯螺旋瓶蓋之 1 L 瓶，使用前須依三 (二) 之步驟洗淨。
- (二) 自動樣品注入器用瓶：附鐵氟龍墊片螺旋瓶蓋之 2 mL 玻璃瓶。
- (三) 定量瓶：10 mL 和 1000 mL。
- (四) 分析天平：可精稱至 0.0001 g。
- (五) pH 計：可顯示至 0.01 單位。
- (六) 過濾裝置：過濾 HPLC 用之動相、衍生溶液和分析前之樣品，0.2 μm 孔徑、47 mm 直徑之 Nylon 66 濾膜。
- (七) 除氣裝置：排除溶液和溶劑中之氣體用。
- (八) 針筒
 - 1. 手動注射用之 250 μL 玻璃製針筒附鈍針頭。
 - 2. 不同容積之微注射針筒。
- (九) 分析儀器
 - 1. 高效能液相層析儀：能注入 100 μL 體積量和具 0.4 mL/min 等速等位沖提之泵浦。
 - 2. 分析管柱：陽離子 (K^+) 交換管柱，15 cm (長) \times 4 mm (內徑) (Pickering Laboratories 或同級品)。若能符合九、品質管制之要求，亦可使用其他管柱，最好使用保護管柱。
 - 3. 保護管柱：和分析管柱類似組成的保護管柱。
 - 4. 管柱烘箱：能保持在 55 $^{\circ}\text{C}$ 恆溫或同級品。

- 5.管柱後反應器 (Post column reactor, PCR) : 能將試劑混至動相中, 可以 0.3 mL/min 之流速泵入每一試劑; 混合座架; 2 至 1.0 mL 的延滯迴路, 定溫於 36°C, 鐵氟龍管路。
- 6.螢光偵測器: 能提供 340 nm 激發波長, 接收待測物大於 455 nm 發射波長。
- 7.數據系統: 可記錄及計算滯留時間和層析峰面積。

五、試劑

- (一) 濃磷酸: 分析試藥級。
- (二) 磷酸二氫鉀, KH_2PO_4 : 分析試藥級。
- (三) 乙二胺四乙酸二鈉鹽, EDTA-2Na: 分析試藥級。
- (四) 次氯酸鈣, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$: 分析試藥級。
- (五) 硼酸: 分析試藥級。
- (六) 鄰苯二甲醛, $\text{C}_6\text{H}_4(\text{CHO})_2$: 分析試藥級。
- (七) 2-硫醇乙醇, $\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$: 分析試藥級。
- (八) 氫氧化鉀: 分析試藥級。
- (九) 氫氧化鈉: 分析試藥級。
- (十) 氯化鈉: 分析試藥級。
- (十一) 磷酸鉀: 分析試藥級。
- (十二) 試劑水: 在全玻璃系統蒸餾之蒸餾水, 或是由純水製造系統製備不含有機物之去離子水。
- (十三) 0.001 M EDTA-2Na 溶液: 溶解 0.3362 g EDTA-2Na 於 1 L 試劑水中。
- (十四) 0.1 M EDTA-2Na 溶液: 溶解 3.362 g EDTA-2Na 於 100 mL 試劑水中。
- (十五) HPLC 動相: 用 960 mL 試劑水配製 0.005 M 磷酸二氫鉀(0.68

g) 溶液，以濃磷酸調整 pH 至 2.0，用 0.2 μm 濾膜過濾，使用除氣裝置以排氣。

(十六) 管柱後衍生溶液

1. 次氯酸鈣溶液：

(1) 將 0.015 g 次氯酸鈣溶解於 10 mL 之去離子水中。

(2) 溶解 1.36 g 磷酸鉀、11.6 g 氯化鈉及 0.4 g 氫氧化鈉於 500 mL 試劑水中，再加入上述之次氯酸鈣溶液 10 mL，用試劑水定容至 1000 mL，用 0.2 μm 濾膜過濾，使用前通氮氣以排氣。當日配製此溶液。

2. 鄰苯二甲醛 (o-Phthalaldehyde, OPA) 反應液：溶解 100 g 硼酸及 72 g 氫氧化鉀於 700 mL 去離子水中，充分混合後，再加入溶於 10 mL 甲醇之 OPA 0.8 g 和 2 mL 之 2-硫醇乙醇，混合後定容至 1000 mL，再以 0.2 μm 濾膜過濾並予以排氣。此反應液在大氣環境下儲存於玻璃瓶中，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 能保存 2 星期，且不會有顯著之背景螢光訊號的產生，亦可選用市售之 OPA 反應液。

(十七) 硫代硫酸鈉：分析試藥級。

(十八) 儲備標準溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：溶解 0.1000 g 嘉磷塞標準品於 0.001 M 之 EDTA-2Na 1000 mL 試劑水中，保存期限 1 個月。若標準品之純度大於 96%，則可由稱取之標準品重量直接分計算儲備標準溶液之濃度，而不須考慮因純度不足 100% 所造成之誤差。亦可選用市售之濃度經確認的儲備標準溶液。

(十九) 中間標準溶液：將儲備標準溶液以 0.001 M EDTA-2Na 試劑水稀釋，配製成所需之中間標準溶液。

六、採樣及保存

以乾淨玻璃瓶採樣，每升水樣中須加入 100 mg 硫代硫酸鈉以去除餘氯，於 4 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ 暗處保存，在 14 天內完成分析。

七、步驟

(一) 檢量線製備

1.用試劑水稀釋中間標準溶液，製備 5 種不同濃度之檢量標準溶液，最低濃度須約 3 倍方法偵測極限，其濃度則須涵蓋樣品中待測物之濃度，或在偵測器的偵測濃度範圍內。

2.設定參考之 HPLC 條件如下：

分析管柱定溫在 55°C，注入適量體積（通常為 100 μL）之樣品後，用五、(十五)之動相以 0.4 mL/min 等位沖提，管柱後反應用之次氯酸鈣溶液流速為 0.3 mL/min，OPA 反應液流速為 0.3 mL/min，反應器溫度為 36°C，偵測器之激發波長為 340 nm，放光波長為 455 nm。待測物流出後，再以動相洗滌管柱。圖一為 HPLC 之層析圖。

3.以注射針或自動注射器注入七、(一) 1.之檢量標準溶液至 HPLC-PCR 系統，記錄波峰之滯留時間與面積，對注入之濃度 (μg/L) 製備檢量線。

4.在每一工作日之開始和結束時，均須查核檢量線之適用性，若連續分析時間超 12 小時以上，每隔 12 小時亦須執行類似之檢量線查核工作。如所得化合物之波峰面積與檢量線相對應之波峰差異在 20% 以上時，以新配製之檢量溶液再重複一次查核工作，若仍未能通過 ±20% 之查核標準時，則須重新配製標準溶液及製備檢量線。

(二) 水樣分析

1.水樣先用 0.2 μm 濾膜過濾，取 99 mL 水樣添加 40 mg 硫代硫酸鈉及 1 mL 0.1 M EDTA-2Na。若須使用到其他淨化步驟才能移走干擾物質，分析人員須確認待測物之回收率在管制範圍內。

2.以注射針或自動注射器注入適量體積（通常為 100 μL）之樣品至 HPLC-PCR 系統中，記錄代表性波峰之滯留時間與面積，與檢量溶液之層析圖相比較，以確定試樣中是否含有待測物（落在同一天分析所得之檢量標準溶液之滯留時間，標準偏差的 3 倍時窗內），並由檢量線求得樣品中嘉磷塞之含量。(註 1)

3.若波峰面積超過檢量線之線性範圍時，可用試劑水稀釋樣品後，再重新分析。

- 4.當無法確認待測物時，可用質譜儀等其他偵測器或陰離子交換管柱等其他層析管柱再確認之。

八、結果處理

由檢量線直接求得水中嘉磷塞之濃度 ($\mu\text{g/L}$, ppb)。

九、品質管制

- (一) 檢量線：檢量線之線性相關係數應等於或大於 0.995。
- (二) 檢量線查核：每 12 小時或每批次樣品須查核檢量線，所測得濃度之相對誤差不得超過 $\pm 20\%$ 。
- (三) 空白樣品分析：每 10 個或每批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二倍。
- (四) 查核樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行一次查核樣品分析。
- (五) 重複樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行一次重複分析。
- (六) 添加樣品分析：每 10 個或每批樣品至少執行一次添加標準分析。

十、精密度及準確度

單一實驗室以試劑水、自來水、井水、河川水及放流水為基質，添加標準品後分析不同類別水中嘉磷塞之精密度及準確度如表一所示。單一實驗室之飲用水方法偵測極限為 $7.0 \mu\text{g/L}$ 。

十一、參考資料

- (一) 行政院環境保護署，水中有機醛及嘉磷塞檢測方法之驗證報告，EPA-85-E3S3-09-04，中華民國 85 年。
- (二) 行政院環境保護署，水中重金屬及有機物檢驗方法之研究報告，EPA-82-E3S3-09-02，中華民國 82 年。
- (三) 第二屆中華民國實驗室認證研討會論文集，水中嘉磷塞檢測方法驗證，中華民國 86 年。
- (四) U.S. EPA, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Determination of Glyphosate in Drinking Water by Direct Aqueous

Injection HPLC, Post-Column Derivatization and Fluorescence Detection. Method 547. Cincinnati, Ohio, U.S.A., 1990.

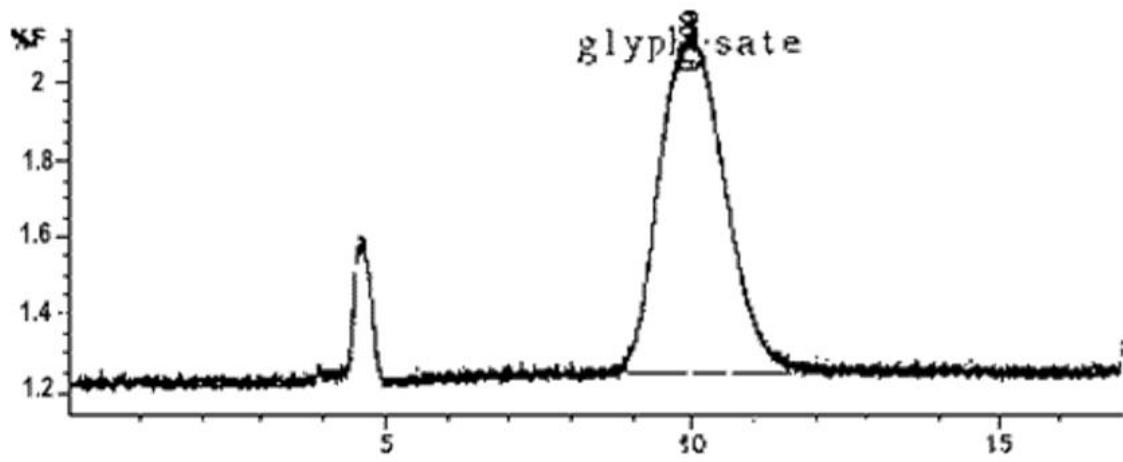
註 1：若樣品含中至高離子強度之基質，待測物之滯留時間可能會有飄移之現象，若待分析管柱中和動相達到平衡之後，可減少此類之問題。

表一 分析不同類別水樣添加標準品之精密度與準確度

水樣	水樣濃度 μg / L	添加濃度	回收率 ± 標準偏差 %	分析次數
試劑水 ^a	ND	1200	103±4	4
	ND	600	95±5	5
	ND	250	108±6	8
自來水 ^a	ND	250	106±10	8
井水 ^a	ND	250	123±3	8
河川水 ^b	ND	1667	109.8±5	5
放流水 ^b	1037	1000	114.1±20	5

註：a：數據來源自參考資料（一）

b：數據來源自參考資料（三）



圖一 嘉磷塞標準品之層析圖