農藥檢驗技術

林高永

行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

成品農藥檢驗的項目眾多，包括有理化規格檢驗、不純物檢驗…等，其中理化規格檢驗又包含有主成分檢驗、乳化安定性試驗、起泡試驗、自動分散性試驗…等檢驗項目。在眾多的檢驗項目中以 “主成分檢驗” 為目前成品農藥品質優劣的主要評判標準，因此本文主要內容是敘述主成分的檢驗技術。

農藥主成分的分析包含有生物分析法、化學分析法，其中化學分析法又包含傳統的重量法、滴定法及現代的儀器分析法…等方法。無論以何種化學分析法，都離開不了分離及計量兩大步驟。

壹、分離技術的應用

分離技術在農藥的化學分析中應用非常廣泛，無論是傳統的化學分析法或現代的儀器分析法，為了避免干擾物質影響測定標的物的檢測，例如成品農藥中常加入的展著劑、消泡劑、溼潤劑…等等都可能會對主成分的測定產生影響，因此需利用各種分離技術將這些干擾物質分離，以增加主成分測定的準確性。最常用的分離技術包括有蒸餾 、結晶、萃取、化學沉澱、電沉澱法、層析法…等 ，其中萃取及層析法是農藥分析中最常用之分離方法。

(一)萃取

萃取一般是樣品前處理最常用的一種分離技術，其目的在將待測物依極性特性的差異與其他干擾物質分離，達到淨化的效果，常用的萃取方法包括有液相萃取、固相萃取、超臨界流體萃取…等。

(1)液相萃取：一般是以分液漏斗為分離的器材，將兩種不互溶的溶劑置於分液漏斗，利用待測物在兩種溶劑中溶解度的差異，做特定比例的分配，將待測物與干擾物留在不同的兩個相中達到分離的目的，該待測物通常可以是液體或固體。

(2)固相萃取：一般是以吸附管為分離的器材，利用待測物與干擾物在吸附管的溶解度或吸附力之差異，將其留在吸附管中或排除於吸附管外，以達到分離的目的，該待測物通常可以是液體或氣體。

(3)超臨界流體萃取：超臨界流體萃取一般是利用高壓的二氧化碳做為萃取的溶劑，利用待測物與干擾物在不同溫度與壓力之下，對二氧化碳溶解度的差異，將待測物與干擾物分離，其優點是節省溶劑的使用，避免造成環境的污染，該待測物通常可以是液體或固體。

(二)層析

(1)層析原理

層析的技術最早是應用在色素的分離，將色素溶液滴在濾紙上經由毛細作用色素溶液被吸引往前運動，同時由於不同顏色色素的運動速率不同造成在濾紙上形成一層一層不同顏色的條紋，稱之為色譜。在層析作用中不可或缺的要件為固定相(或稱為靜相)即色素分析中的濾紙以及流動相(或稱為動相)即色素溶液中的溶劑。待測物質(色素)在靜相上被動相帶動而移動，不同物質在靜相上有不同的移動速率，因此造成物質的分離。

(2)層析的分類

層析技術發展至今可依照其幾何的構造分成平面層析，例如TLC (Thin Layer Chromatography)及管柱層析，例如 GLC (Gas Liquid Chromatography)、HPLC (High Performance Liquid Chromatography)。依照動相的種類又可分為氣液相層析(GLC)及液相層析(LC)。目前在農藥分析上最常使用的即為氣液相層析(GLC)及液相層析(LC)。

(3)層析種類的選擇

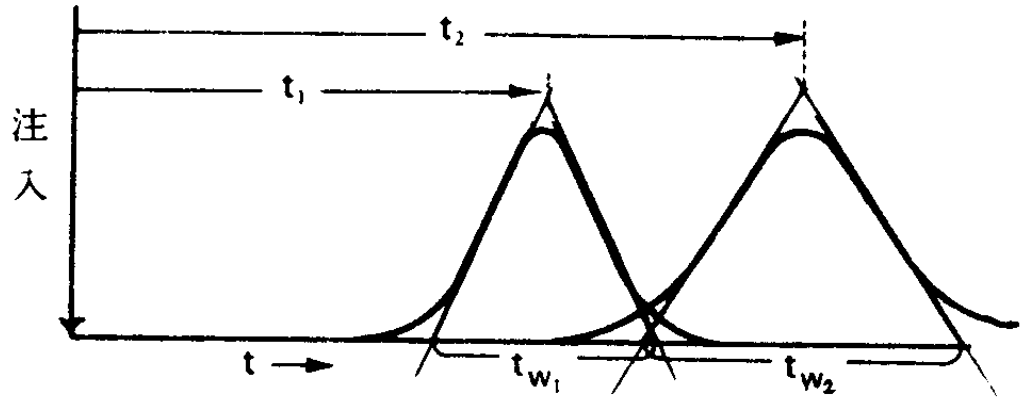
前述目前在農藥分析上最常使用的層析技術有氣相層析及液相層析，在選擇上通常是依照待測物的物理特性而定，例如沸點很高不易氣化的化合物即不試合用氣液相層析分析，通常氣液相層析管柱的使用溫度一般在 300°C以下，此時液相層析可能是較佳的選擇。若待測物的極性很小，只溶於酯類或醚類等非極性溶劑，則較適合利用氣液相層析或順相(Normal phase)液相層析，不適合使用逆相(Reverse phase)液相層析。

(4)分離效率的的評估

層析的分離效果一般是分離度(Resolution)來評估，所謂分離度

$$R = \frac{t2 - t1}{1/2\ (tw1 + tw2)}$$

其中 t2-t1 等於兩個尖峰之間的距離，1/2 (tw1+tw2)為兩個尖峰寬度和的一半，R 越大表示分離度越佳。



圖一、層析的分離度

(5)層析技術的應用

1)薄層層析(TLC)

薄層層析通常是以濾紙或被覆在鋁片或玻璃片上的矽膠做為靜相，將樣品點在濾紙或矽膠片之底部，置於盛有特定溶劑(動相)之密閉空間中(展佈槽)，溶劑在濾紙或矽膠片上經由毛細作用帶動樣品往上運動，利用樣品中待測物與干擾物在靜相上運動速率的差異將該干擾物分離。當薄層層析所達成之分離度效果不佳時，可以調整動相之混合比例、增加展佈槽飽和時間、改變矽膠種類、顆粒大小及被覆厚度...等方法，甚至可做二維之展佈。

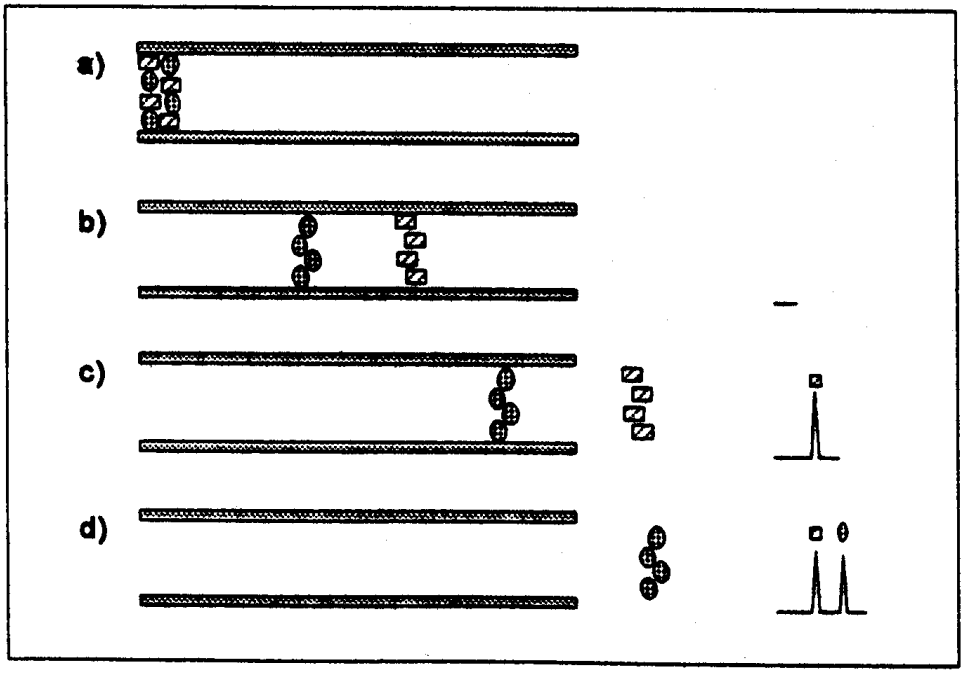
2)高效能液相層析(HPLC)

高效能液相層析之原理與薄層層析類似，其中所不同之處在於 HPLC 將靜相緊密的填充在不銹鋼管中，利用高壓的動相流速將樣品帶動，待測物與干擾物在靜相上運動速率的差異可將該干擾物分離。當高效能液相層析所達成之分離度效果不佳時，同樣可以調整動相之混合比例、改變動相流速、改變管柱種類、填充物之顆粒大小、管柱長度、管柱溫度...等，以達到最佳之分離效果。

3)氣液相層析(GLC)

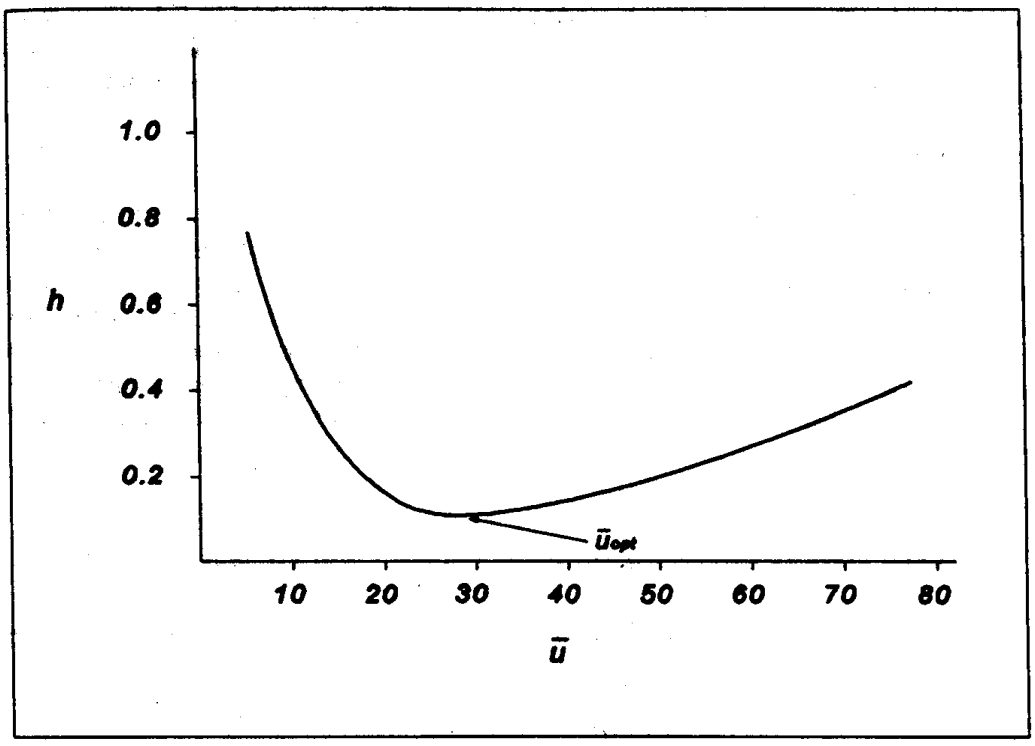
氣液相層析與液相層析最大之不同在於動相的類型，氣相層析是以氣體做為動相，稱為載氣(Carrier gas)通常所使用的氣體有氮氣、氦氣、氫氣...等。其分析原理是利用載氣將待測物質導入分離管柱中，帶動氣態的樣品在管柱中移動，待測物與干擾物在靜相上運動速率的差異可將該干擾物分離，其分

離原理如下圖所示

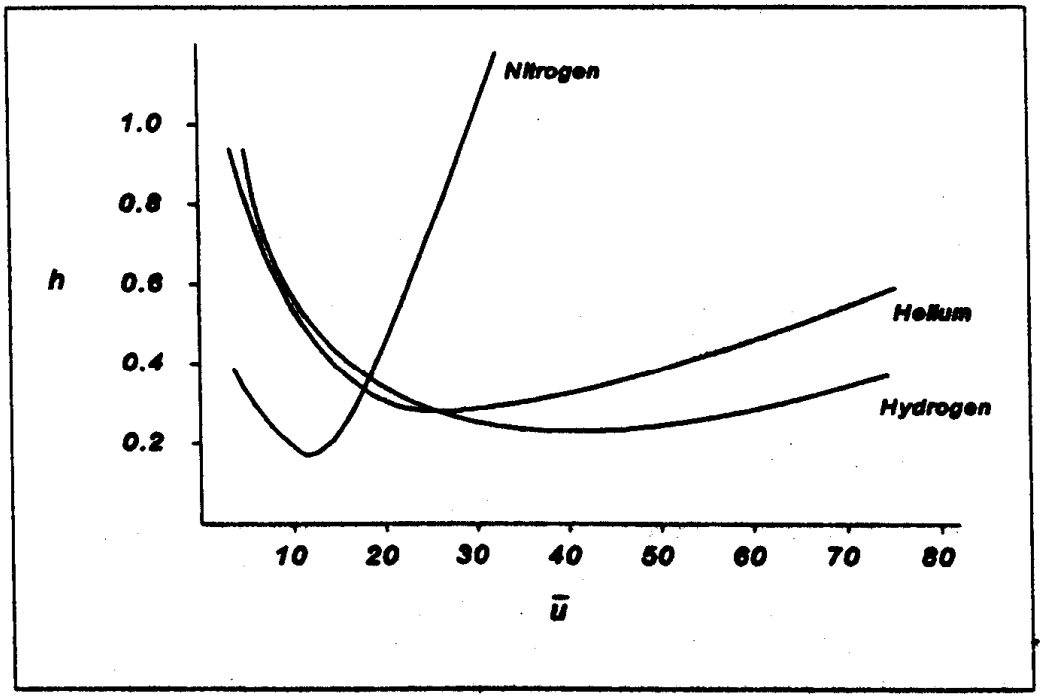


圖二、氣液相層析的分離原理

氣液相層析管柱有填充管柱、毛細管柱…等。當氣液相層析所達成之分離度效果不佳時，可以改變管柱種類、管柱溫度、管柱長度、另外可改變氣體流速及氣體種類。



圖三、Van Deemter 曲線



圖四、不同氣體的 Van Deemter 曲線

貳、定量技術的應用

(一)檢測器的選擇

1)高效能液相層析儀(HPLC)

高效能液相層析儀最常使用的檢測器為紫外光檢測器(UV Detector)，對於一般農藥的檢測波長約在 200 400nm 之間，波長的選擇會影響檢測的感度，若非做微量分析，波長不一定要選擇在檢測最敏感的地方，而應選在光譜圖上斜率較小之處，可避免波長偏移所造成的影響。另外對於在紫外光區不吸光的化合物可改由折射率檢測器(RI Detector)，若可產生激發螢光則可使用螢光檢測器，若待測物為離子型態，則可利用電導度檢測器。

2)氣液相層析儀(GLC)

氣液相層析儀最常使用的檢測器為火焰離子檢測器(FID)，凡是含有碳原子的化合物幾乎都可利用火焰離子檢測器檢測出來，對於含鹵素的農藥最適當的檢測器則是電子捕獲檢測器(ECD)，對於含氮及磷的農藥利用 NPD 則是很好的選擇。近年以質譜儀當做為氣液相層析儀之檢測器有越來越普遍的趨勢。

(二)定量方法的選擇

(1)高度法

氣液相層析或液相層析法中 ,層析圖譜通常是以時間對檢測器反應(Response , 例如電壓或吸光值)做圖 , 一定質量之樣品注入儀器

分析會產生相對之尖峰，若管柱之效能良好重覆性穩定，則在儀器之偵測範圍內樣品質量與尖峰高度成正比例，可直接以尖峰高度做為定量依據。

(2)面積法

在前述之高度法中 ,若外界環境影響或儀器本身不穩定導致滯留時間改變或尖峰形狀改變，都可能影響尖峰高度，產生定量上的誤差，因此通常用尖峰面積定量，以減少誤差的產生。

(3)內標準溶液法

此法是在不同濃度之標準溶液或樣品中添加固定量之內標準品，注入儀器分析後以標準溶液或樣品相對於內標準品之重量比，對其面積比或高度比做單點比對或標準校正曲線圖，此方法之優點是可以減少注入量的誤差。

(三)校正方法的選擇

(1)單點校正法

單點校正法是利用單一濃度之標準溶液與未知濃度之樣品做比對，由高度法 、面積法或內標準溶液法所得到之樣品測定值均可以利用單點校正法比對已知濃度之標準溶液。利用單點比對所需注意的是樣品溶液濃度與標準溶液濃度不可相差太大，一般以不超過 10%為原則，否則若超出儀器之線性偵測範圍，則會造成估算誤差太大，另外以單點校正時必須增加分析之重覆數，避免實驗之異常值對分析結果造成影響。

(2)標準校正曲線法

此方法是利用一系列不同濃度之標準溶液注入儀器分析 ,得到相對之測定值，以濃度對高度 、濃度對面積 、重量比對面積比繪製成標準校正曲線圖，然後再由樣品測定值利用內插法求出樣品濃度。利用標準校正曲線法時應注意到標準溶液濃度範圍之選取，勿超過其線性偵測範圍，標準溶液濃度至少有五個以上之不同濃度，各標準溶液之濃度差最好一致，樣品之配製濃度最好落在標準校正曲線中點。

參、查核

實驗進行當中須對數據之精密度及準確度做查核 ,這其中包括人為的誤差及儀器的誤差之查核。

(1)查核樣品分析

查核樣品分析是以適當濃度之標準溶液(不同於製備標準校正曲線之標準溶液)在分析過程裏間隔插入待分析的樣品序列中，以查核儀器之穩定度。

(2)添加查核分析

為確認樣品中有無基質干擾或所用之分析方法是否適當 ,將樣品分為二，一部分直接依步驟進行分析，另一部分添加適當濃度之標準品再依步驟分析。