

農藥檢驗技術、標準與鑑定

農藥化學系

前言

農藥成分的化學分析包含有定性及定量兩部分，由於一般成品農藥中除了有效成分之外，尚含有多種添加物質，因此在做成品農藥有效成分測定時，要先能確定所測得的標的物即為待測之有效成分，因此需要有鑑定的過程，其次要再進一步確認所測得的標的物未摻雜其他會影響測定結果的成分，因此還要有分離的步驟，以確保測定的準確性，所以一個成品農藥的有效成分分析至少包含了以上二個定性過程。在定量方面則包含有不同之計量方式，例如以尖峰高度、尖峰面積或添加內標計量，以及不同之統計方式，例如單點校正或檢量線校正，每一種方式各有其適用性。最後再由各種查核標準來認定分析之精密度及準確度，包含這些過程才是一個較為周嚴的農藥成分化學分析。

農藥檢驗技術

一、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法、結晶法、萃取法、化學沉澱法、電沉澱法、層析法...等，其中萃取法及層析法是農藥分析中最常用之分離方法。

(一) 萃取

萃取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：一般是以分液漏斗做為分離的器材，將兩種不互溶的溶劑置於分液漏斗中，利用待測物在兩種溶劑之溶解度的差異，做特定比例的

分配，使待測物與干擾物留在不同的兩個相中，以達到分離的目的，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在濾紙上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，因此在動相移動過程中可達到物質分離的效果。

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及液相層析。

3.層析種類的選擇：農藥分析常用到氣液相層析及液相層析技術，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適合使用氣液相層析分析，通常氣液相層析管柱的使用溫度在 300 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

$$R = \frac{t_2 - t_1}{1/2 (t_{w1} + t_{w2})}$$

其中 $t_2 - t_1$ 等於兩個尖峰之間的距離， $1/2 (t_{w1} + t_{w2})$ 為兩個尖峰寬度和的一半，R 越大表示分離度越佳，一個好的層析結果分離度 R 值應在 1.5 以上。

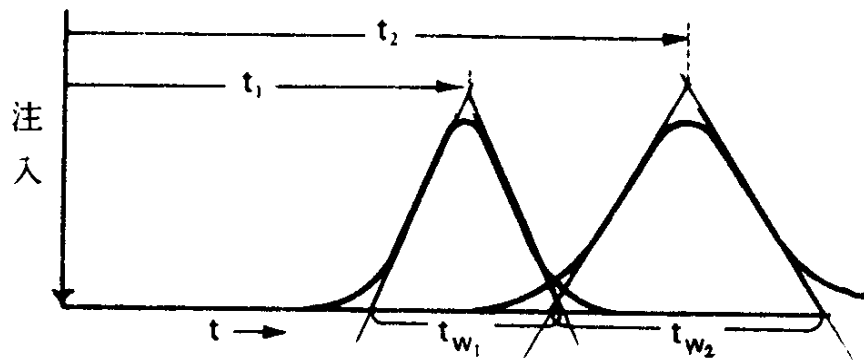


圖 1. 層析的分離度。

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加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、改變靜相物質種類、靜相物質粒徑及靜相被覆厚度...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加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、改變管柱靜相種類、靜相填充物之粒徑、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，氣液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、氬氣...等。其分析原理是利用載氣將待測物質導入分離管柱中，帶動氣化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：

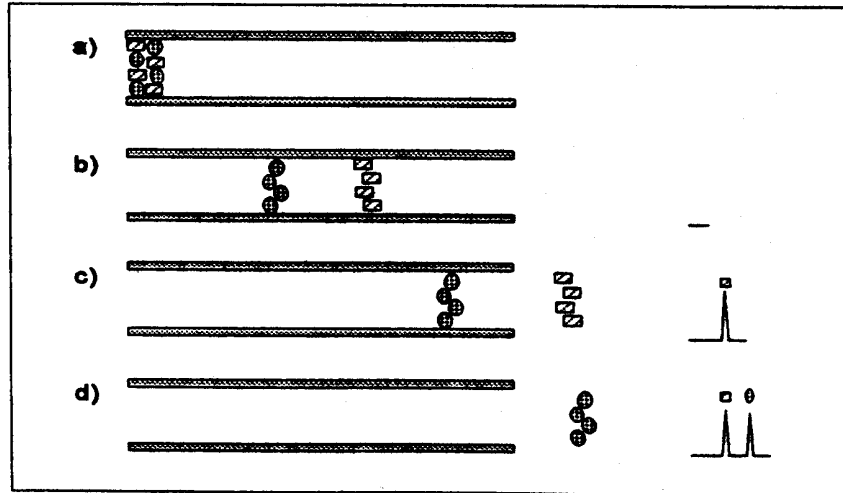


圖 2. 氣液相層析的分離原理。

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 3. 為 Van Deemter 曲線，從圖中可看出層析管柱的理論板高度與載氣流速的關係，流速過高或過低都會增加理論板高度，不利於管柱的解析，唯有適當的流速才能提高管柱的分離效果。另外不同載氣所產生的管柱分離效果亦不同，圖 4. 為不同氣體的 Van Deemter 曲線，從圖中顯示出不同的氣體有不同的流速適用範圍。

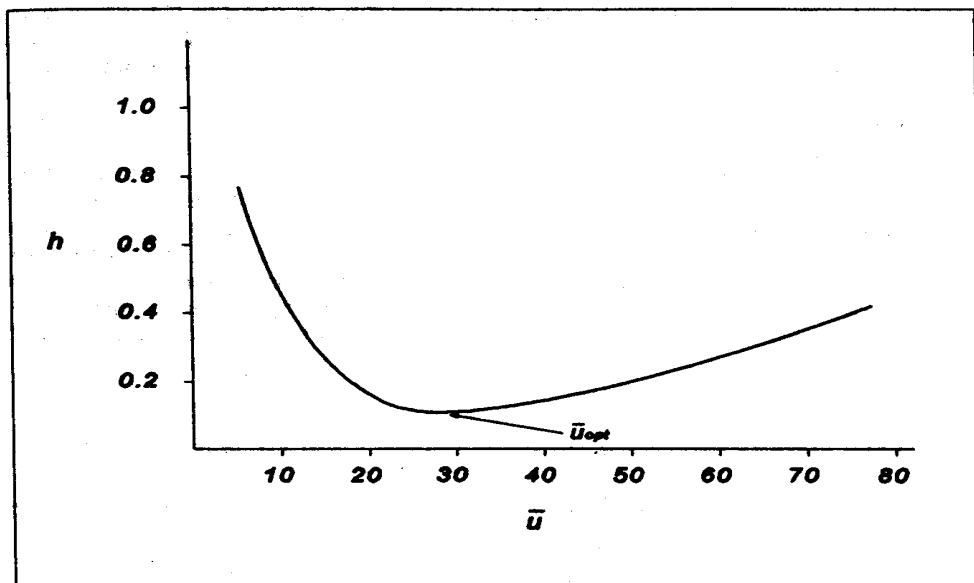


圖 3. Van Deemter 曲線。

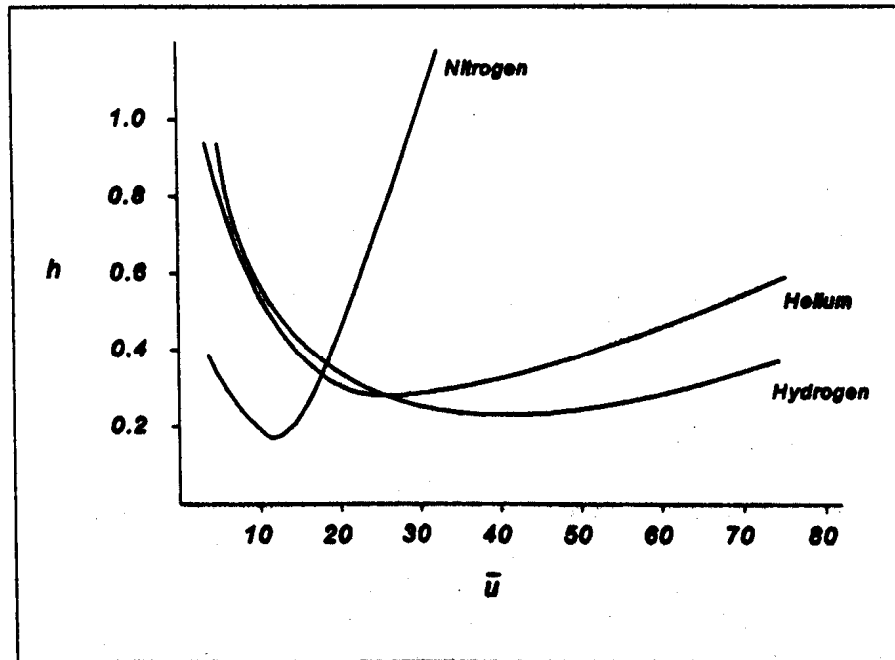


圖 4. 不同氣體的 Van Deemter 曲線。

二、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帶，而選在光譜圖上斜率較小之處為最佳，因其可避免波長偏移所造成的影響。對於在紫外光區不吸光的化合物則可利用折射率檢測器(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。近年以質譜儀當做氣液相層析儀之檢測器者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，層析圖通常是以前時間對檢測器反應(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開列改變，都可能影響尖峰高度，產生定量上的誤差，因此通常採用尖峰面積定量，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比對，此方法之優點為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，進行單點校正比對亦須增加分析之重覆數，避免實驗之異常值出現對分析結果造成顯著之誤差。

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，得到相對之儀器反應，以濃度對高度、濃度對面積或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。運用標準校正曲線法之原則為標準溶液濃度範圍之選取要落在儀器之線性偵測範圍內，標準溶液通常配製成五個以上之不同濃度，各標準溶液之濃度成等差分佈，樣品之配製濃度落在標準校正曲線中點為最佳。

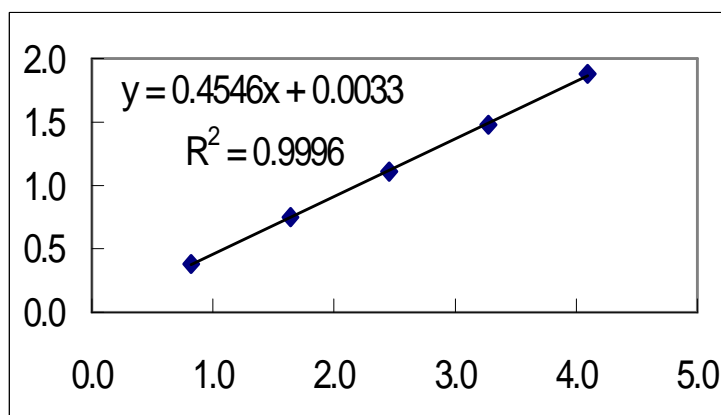


圖 5. 標準校正曲線圖。

檢驗標準

一、儀器精密度標準

儀器精密度的好壞可以從兩種數據來評估，一為分析物的滯留時間 (Retention time)，另一為分析物的尖峰面積。通常在樣品分析之前以標準品連續注射 7-11 針，然後由每一針的滯留時間及尖峰面積做標準偏差分析，得到所有分析尖峰之滯留時間的 RSD 及尖峰面積的 RSD，一般實驗室都會制定這兩個 RSD 的標準，連續注射的精密度需達到 RSD 的限定值之內表示儀器已經平衡穩定，才能進行有效的分析。

二、標準校正曲線之線性標準

以標準校正曲線去做定量分析時其誤差的產生可能來自兩種情況，一為稀釋時所產生的誤差，包括稀釋倍數計算錯誤以及定量體積的誤差，另一可能為該標準校正曲線範圍超出儀器的偵器範圍，造成非線性的校正曲線。要評估標準校正曲線是否適用於定量分析時之計算基礎，通常是以 R^2 做為評估標準；將標準校正曲線各點的濃度對面積(或濃度比對面積比)做線性回歸分析，所得到的 R^2 值是線性的指標，其值越接近於 1 表示線性越好，因此一般實驗室也都會訂定 R^2 值的評估標準，若標準校正曲線 R^2 值低於該管制值時，即應重新製作標準校正曲線。

三、實驗精密度標準

一個農藥的化學分析實驗，在人為的操作部分及儀器部分都會產生誤差，甚至計算部分也可能產生錯誤，而所有的誤差表現在最後的計算結果。分析實驗通常採三重覆以上，將各個實驗的結果做標準偏差分析可用來評估實驗的精密度，其評估標準是以重覆數結果的 RSD 做為依據，一般實驗室也都會訂定樣品重覆分析結果之 RSD 值標準，超出該 RSD 值時實驗應重新進行。

四、實驗準確度標準

實驗準確度的評估可由兩方面進行，一方面是對操作人員操作準確度做評估，包括人為操作及儀器之準確性，評估的方式通常是由查核人員配製盲樣品交由操作人員分析，由查核率評估其準確度。另一方面是對分析方法本身之準確度做評估，通常是利用添加回收試驗做為評估依據，將一已知量的標準品添加在一般樣品中，再由添加回收率來評估實驗準確度，一般實驗室也都會訂定查核率及添加回收率標準，當超出標準值之外時，就應檢討整個實驗流程。

鑑定

一、外觀

鑑定一農藥原體或成品最直接的方法是由外觀判斷，例如藥劑的顏色、劑型種類...等。

二、理化性質

由外觀來鑑定農藥所得到的證據是非常薄弱，因此若加上理化性質可進一步加強判斷的可靠性，理化性包括其農藥的熔點、沸點、溶解度...等。

三、滯留時間

利用化學儀器鑑定農藥是可靠性較高的方法，其中層析法也是一種間接的鑑定方式，由層析所得到的尖峰滯留時間即可做為鑑定的一種依據，若是相同的化合物，理論上在同樣的儀器及儀器條件之下有相同的滯留時間，由此就可推測不同的樣品其可能的相似程度。

四、光譜圖

利用化合物的光譜特性做為鑑定的依據，是一種可靠度較高的鑑定方法，對於紫外光區有吸收光的化合物可以利用紫外光吸收光圖譜與已知的圖譜做相似度比對，依照相似度的大小可推測鑑定的準確性，同樣的紅外光的吸收光譜圖也可做為鑑定的依據。

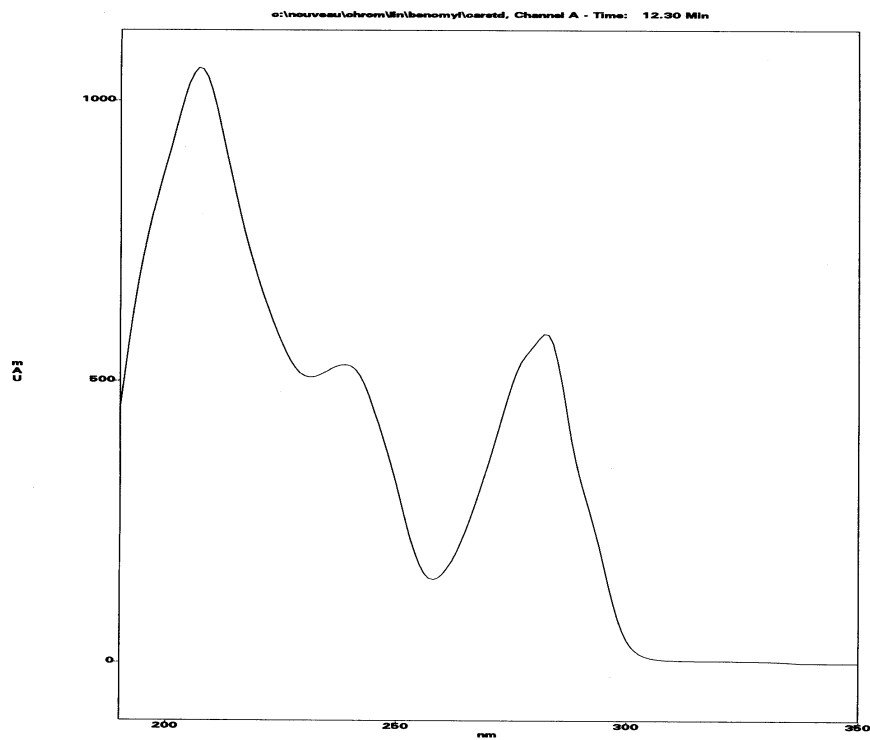


圖 6. 貝芬替之紫外光譜圖。

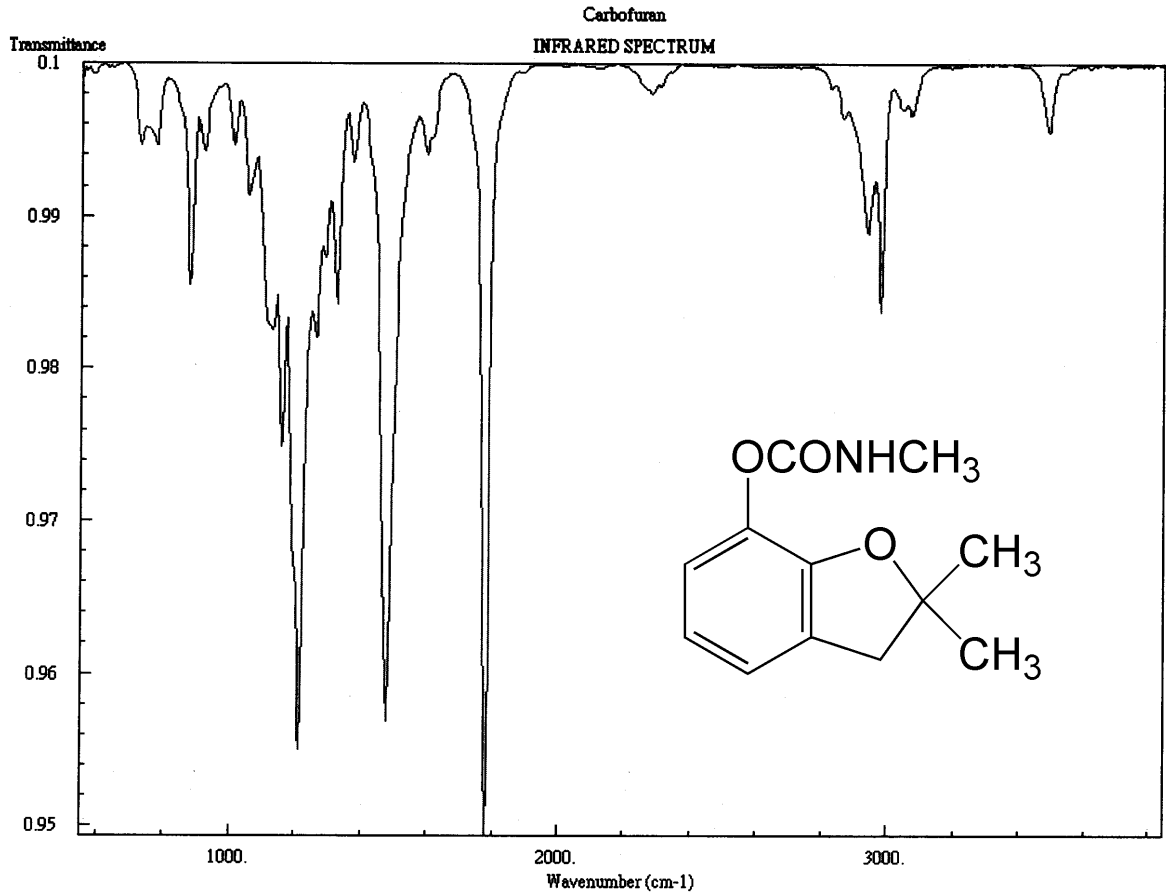


圖 7. 加保扶之紅外光譜圖。

五、質譜圖

利用質譜圖鑑定化合物比光譜圖的準確性更高，因為其能提供的資訊更多，所能比對的範圍更廣，光譜圖通常只能做 Semi-unknown 的化合物鑑定，質譜圖則幾乎可做 Full- unknown 的鑑定。

Carbendazim, Merck No: 1794

CAS No: 10605-21-7, Formula: $C_9H_9N_3O_2$, MW: 191.0695

Intense peaks: 191 (100), 105 (39), 159 (38), 132 (33)

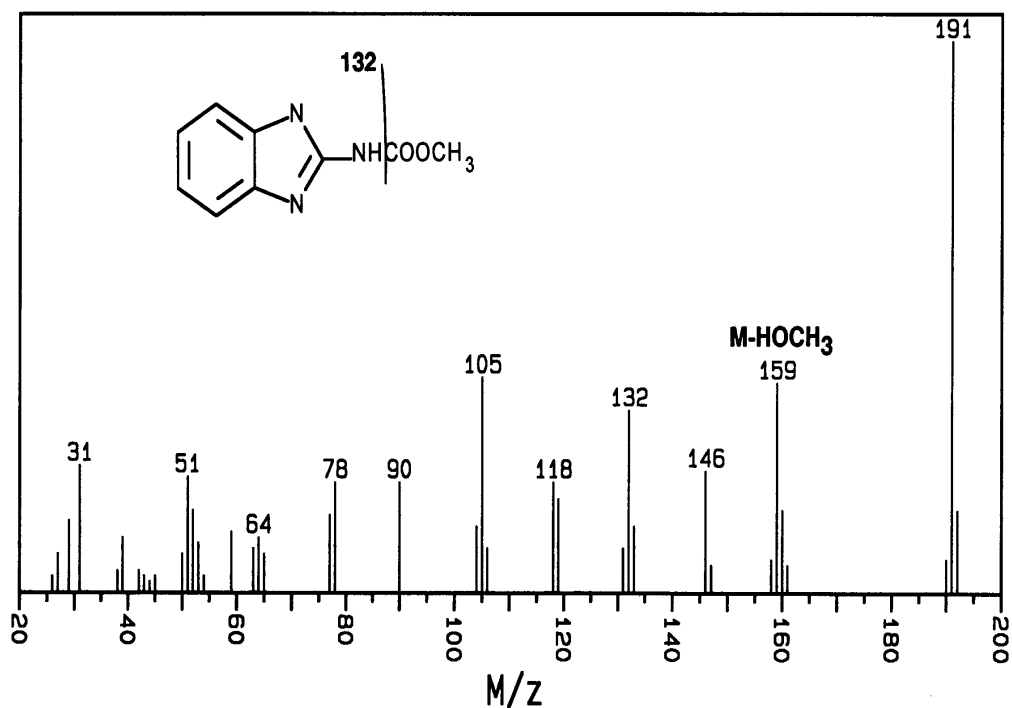


圖 8. 貝芬替之質譜圖。

結論

農藥檢驗是確保農藥品質的不二法門，不論是農藥製造業者工廠內部的生管、品管，或政府單位的抽測，對於農藥品質的認定，唯有透過農藥檢驗才能做客觀的評量。目前對於農藥檢驗的內容大都針對有效成分含量分析，將來會將成品農藥之各項理化特性都融入農藥標準規格之中。