

以QuEChERS法搭配液相及氣相層析串聯質譜儀 建立動物產品中農藥多重殘留檢驗方法

劉誌成¹ 沈盈如¹ 廖家鼎¹ 高雅敏¹ 周秀冠¹
陳惠芳¹ 林詔凱² 莊瑋臻² 黃鎮華² 徐慈鴻²

¹衛生福利部食品藥物管理署 ²行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

摘 要

本研究係建立動物產品中農藥多重殘留檢驗方法，檢體前處理採用QuEChERS法，先以1%醋酸乙腈溶液進行萃取，再以醋酸鈉及無水硫酸鎂進行鹽析。離心後取乙腈層，添加PSA、C18、石墨碳粉及無水硫酸鎂進行淨化後作為分析檢液。分別以液相層析串聯式質譜儀(high performance liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)及氣相層析串聯式質譜儀(gas chromatograph/tandem mass spectrometer, GC/MS/MS)進行75及68項農藥檢測，層析時間皆在30分鐘內。以豬里肌肉、豬肝臟、雞肉、魚肉作為測試基質，分別添加0.01及0.05 ppm之各項農藥標準品於測試基質中，進行重複性及添加回收率試驗評估，結果88%以上之農藥品項準確度(平均回收率介於60 - 120%之間)及精密度(變異係數在20%以下)良好，84%以上之農藥品項定量極限可達0.01 ppm。

關鍵詞：動物產品、農藥、液相層析串聯式質譜儀、氣相層析串聯式質譜儀

前 言

農藥殘留分析方法在前處理及偵測儀器技術發展迅速，早期樣品前處理係以溶劑萃取法(Liquid Liquid Extraction)，近來改為使用固相萃取(Solid Phase Extraction)法，使樣品前處理方法由繁化簡，不僅降低溶劑的使用量，甚至改用乙酸乙酯等低危害環境之溶劑以取代較高毒性危害的二氯甲烷，但農產品種類眾多，不同於其它環境樣品(如水、土壤等)，因此必須考慮不同作物種類基質特性及其共萃取物對殘留農藥分析時所造成的各種干擾情形。2003年Anastassiades等人，採用QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe)^(1,2)分析

法，直接於離心管中進行前處理的步驟，將每個樣品的溶劑使用量降低到10 mL，除了避免操作人員長期暴露於有機溶劑，同時也減少溶劑的使用量，且前處理時間縮短一半以上，此已成為歐盟訂定農產品及動物產品中農藥殘留分析方法的依據⁽³⁾。

在檢測儀器方面，早期以色層層析法為主之氣相層析儀搭配電子捕獲式檢測器(gas chromatograph/electron capture detector, GC/ECD)、火焰光度檢測器(gas chromatograph/flam photometric detector, GC/FPD)或氮磷檢測器(gas chromatograph/nitrogen phosphorus detector, GC/NPD)及高效液相層析儀搭配紫外光檢測器(high performance liquid

chromatograph/ultraviolet detector, HPLC/UV)或串聯後反應裝置與螢光檢測器(high performance liquid chromatograph/fluorescence detector, HPLC/FLD)等，在選擇性及靈敏度上具高分析能力且得到較佳之定量結果。近年來質譜檢測技術亦趨發展成熟，氣相層析質譜儀(gas chromatograph/mass spectrometer, GC/MS)、氣相層析串聯式質譜儀(gas chromatograph/tandem mass spectrometer, GC/MS/MS)或液相層析串聯式質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)已廣泛應用於食品安全檢測上，可作為準確、快速和靈敏的分析工具。

目前國內動物產品中農藥殘留分析方法有經濟部標準檢驗局之中華民國國家標準「食品中殘留農藥檢驗方法-畜禽水產品中有機氯劑之多重殘留分析」(CNS14835)等9種品項及衛生福利部於102年公告修正「食品中殘留農藥檢驗方法-禽畜產品中有機磷劑之檢驗」等15種品項之方法。本研究利用QuEChERS前處理技術及參考衛生福利部於103年公告修正「食品中殘留農藥檢驗方法-多重殘留分析方法(五)」⁽⁴⁾就動物產品中多重農藥殘留分析方法進行探討。

材料與方法

一、材料與試劑

(一)試劑：冰醋酸、甲酸及醋酸銨均採試藥特級；正己烷及丙酮均採用殘留量級；乙腈及甲醇均採液相層析級；無水醋酸鈉、無水硫酸鎂、primary secondary amine (PSA)、octadecylsilane, end-capped (C18 EC)及graphitized carbon black (GCB)均採用分析級；去離子水(比電阻於25℃可達18 MΩ·cm以上)；農藥對照用標準品毆殺松(acephate)等143項；磷酸三苯酯

(triphenylphosphate, TPP)內部標準品。

(二)離心管(15 mL及50 mL, PP材質)、濾膜(孔徑0.22 μm, PVDF材質)、容量瓶(25 mL及50 mL, 褐色)。

(三)陶瓷均質石(Ceramic homogenizer)：採用Bond Elut QuEChERS P/N 5982-9313，或同級品。

(四)萃取用粉劑：含無水硫酸鎂4 g及無水醋酸鈉1 g。

(五)淨化用離心管：含PSA 375 mg、無水硫酸鎂750 mg、C18 EC 250 mg及GCB 45 mg，檢液負荷量5 mL。

(六)移動相溶液之調製

1. 移動相溶液A：取甲醇50 mL與去離子水450 mL混合後，加入醋酸銨0.19 g及甲酸1 mL，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

2. 移動相溶液B：取甲醇500 mL，加入醋酸銨0.19 g，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

(七)內部標準溶液之配製：取磷酸三苯酯內部標準品約40 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至50 mL，作為內部標準原液，於-18℃避光貯存。

(八)試劑之調製

1. 含1%醋酸之乙腈溶液：取冰醋酸10 mL與乙腈990 mL混合均勻。

2. 丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液：取丙酮與正己烷以1:1 (v/v)比例混勻。

(九)標準溶液之配製

1. 取農藥對照用標準品各約25 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至25 mL，作為標準原液，於-18℃避光貯存。取適量標準原液以甲醇稀釋至1 μg/mL，供作LC/MS/MS分析用標準溶液。

2. 取農藥對照用標準品各約25 mg，精確稱定，以丙酮或正己烷溶解並定容至25 mL，作為標準原液，於-18℃避光

貯存。取適量標準原液以丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液稀釋至1 µg/mL，供GC/MS/MS分析用標準溶液。

二、儀器設備

- (一)液相層析串聯質譜儀：包括液相層析儀(Acquity UPLC System, Waters, USA)和串聯式質譜儀(Xevo TQMS, Waters, USA)
- (二)液相層析管柱：1.8 µm，內徑2.1 mm × 10 cm(Acquity UPLC® HSS T3, Waters, USA)
- (三)液相層析保護管柱：1.8 µm，內徑2.1 mm × 5 mm(Acquity UPLC® HSS T3, Waters, USA)
- (四)氣相層析串聯質譜儀：包括氣相層析儀(450-GC, Varian, USA)和串聯式質譜儀(320-MS, Varian, USA)
- (五)氣相層析管柱：內膜厚度0.25 µm，內徑0.25 mm × 30 m(毛細管HP-5MS UI, Agilent, USA)
- (六)高速組織研磨振盪均質機(Geno Grinder®, SPEX SamplePrep, USA)
- (七)離心機(Allegra 25 Centrifuge, Beckman, USA)
- (八)吹氮濃縮裝置(MG-220, EYELA, Japan)
- (九)去離子水製造機(Millipore milli-Q, Bedford, USA)

三、檢液之調製

將檢體均質，取約10 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，冷凍後加入含1%醋酸之乙腈溶液10 mL及75 µg/mL內部標準溶液10 µL，再依序加入陶瓷均質石1顆及萃取用粉劑，蓋上離心管蓋，隨即激烈振盪數次，防止鹽類結塊，再以高速組織研磨振盪均質機於1000 rpm振盪1分鐘後，於15°C，4000 × g離心1分鐘。取上清液5 mL，避免取到油層，置於淨化用離心管，以高速組織研磨振盪均質機以1000 rpm

振盪1分鐘後，於15°C，4000 × g離心5分鐘。取上清液1 mL，以氮氣吹至剛乾，殘留物以甲醇1 mL溶解，混合均勻，經濾膜過濾，供作檢液I，以LC/MS/MS分析。另取上清液1 mL，以氮氣吹至剛乾，殘留物以丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液1 mL溶解，混合均勻，經濾膜過濾，供作檢液II，以GC/MS/MS分析。

四、基質匹配檢量線之製作

(一)LC/MS/MS

取空白檢體，依檢液調製步驟，將未添加內部標準品之淨化後上清液，分別量取1 mL，以氮氣吹至剛乾，分別加入適量甲醇、1 µg/mL標準溶液5 - 200 µL及7.5 µg/mL內部標準溶液10 µL，使體積為1 mL，混合均勻。依下列條件進行分析，就各農藥與內部標準品之波峰面積比，與對應之濃度，製作0.005 - 0.2 µg/mL之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件：

液相層析保護管柱：1.8 µm，內徑2.1 mm × 5 mm，Acquity UPLC® HSS T3，Waters，USA

液相層析管柱：1.8 µm，內徑2.1 mm × 10 cm，Acquity UPLC® HSS T3，Waters，USA

層析管溫度：30°C

移動相溶液：A液與B液梯度分析條件如表一

表一、梯度分析條件

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 2.0	99 → 50	1 → 50
2.0 → 8.0	50 → 30	50 → 70
8.0 → 10.0	30 → 1	70 → 99
10.0 → 13.0	1 → 1	99 → 99
13.0 → 13.5	1 → 99	99 → 1
13.5 → 15.0	99 → 99	1 → 1

移動相流速：0.3 mL/min

注入量：10 μ L

毛細管電壓(Capillary voltage)：

電灑離子化正離子(ESI+)採用3.5 kV；負離子(ESI-)採用1.6 kV

離子源溫度(Ion source temperature)：
150 $^{\circ}$ C

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：
450 $^{\circ}$ C

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)

(二)GC/MS/MS

取空白檢體，依檢液調製步驟，將未添加內部標準品之淨化後上清液，分別量取1 mL，以氮氣吹至剛乾，分別加入適量丙酮：正己烷(1:1, v/v)、1 μ g/mL標準溶液5 - 200 μ L及7.5 μ g/mL內部標準溶液10 μ L，使體積為1 mL，混合均勻。依下列條件進行分析，就各農藥與內部標準品之波峰面積比，與對應之濃度，製作0.005 - 0.2 μ g/mL之基質匹配檢量線。

氣相層析串聯質譜分析測定條件：

氣相層析管柱：HP - 5MS UI毛細管，內膜厚度0.25 μ m，內徑0.25 mm $\times$ 30 m
層析管柱溫度：初溫：60 $^{\circ}$ C，1 min；升溫速率：40 $^{\circ}$ C/min；

中溫：170 $^{\circ}$ C；升溫速率：10 $^{\circ}$ C/min；終溫：310 $^{\circ}$ C，2.25 min

移動相氮氣流速：1 mL/min

注入量：1 μ L

注入器溫度(Injector temperature)：280 $^{\circ}$ C

注入模式(Inject mode)：不分流(splitless)

離子化模式：電子撞擊游離(EI)，70 eV

離子源溫度：280 $^{\circ}$ C

偵測模式：多重反應偵測

II 及標準溶液各1 μ L，分別注入氣相層析質譜儀中進行分析。就各檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各農藥之含量(ppm)：

$$\text{檢體中各農藥之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由基質匹配檢量線求得檢液中各農藥之濃度(μ g/mL)

V：萃取檢體之含1%醋酸之乙腈溶液體積(10 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相除而得($\leq$ 100%)，容許範圍如表二。

表二、相對離子強度容許範圍

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	$\pm$ 20
> 20 - 50	$\pm$ 25
> 10 - 20	$\pm$ 30
$\leq$ 10	$\pm$ 50

結果與討論

一、儀器最適化條件探討

農藥標準品注入LC/MS/MS與GC/MS/MS，以多重反應偵測模式(Multiple Reaction Monitoring, MRM)進行偵測，分別建立每一農藥最佳之質譜條件，包括2對前驅離子(Precursor Ion)與產物離子(Product Ion)分別做為定量離子和定性離子，詳細質譜參數及參考滯留時間如表三和表四。另將143項農藥標準品添加入豬肝臟基質中，使其含農藥濃度為0.05 mg/kg，以LC/MS/MS、GC/MS/MS分析之總離子層析圖譜如圖一和圖二。

五、鑑別及含量計算

精確量取檢液I及標準溶液各10 μ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中進行分析；取檢液

表三、二・四地等75項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及參考滯留時間(LC/MS/MS)

序號	英文名	中文名	滯留時間 (min)	定量離子對			定性離子對		
				前驅離子 > 產物離子 (<i>m/z</i>)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子 > 產物離子 (<i>m/z</i>)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)
1	2,4-D	二、四地	3.94	219 > 161	-23	-15	219 > 125	-23	-33
2	Acephate	毆殺松	1.78	184 > 143	11	8	184 > 125	11	18
3	Acetamiprid	亞滅培	2.79	223 > 126	26	21	223 > 90	26	35
4	Aldicarb	得滅克	3.22	208 > 89	10	20	208 > 116	10	8
5	Amisulbrom	安美速	9.58	468 > 229	20	16	468 > 148	20	50
6	Amitraz	三亞蟎	10.57	294 > 163	20	14	294 > 122	20	32
7	Azoxystrobin	亞托敏	5.63	404 > 372	22	15	404 > 329	22	30
8	Bendiocarb	免敵克	3.67	224 > 167	20	8	224 > 109	20	18
9	Boscalid	白克列	6.02	343 > 307	35	20	343 > 140	35	20
10	Buprofezin	布芬淨	9.98	306 > 201	20	12	306 > 116	20	16
11	Carbaryl	加保利	3.93	202 > 145	22	22	202 > 117	22	28
12	Carbendazim	貝芬替	2.68	192 > 160	27	18	192 > 132	27	28
13	Carbofuran	加保扶	3.73	222 > 165	34	16	222 > 123	34	16
14	Chlorantraniliprole	剋安勃	5.20	484 > 453	24	22	484 > 286	24	14
15	Chlorfluazuron	克福隆	10.44	540 > 383	42	20	540 > 158	42	20
16	Clofentezine	克芬蟎	8.81	303 > 138	22	22	303 > 102	22	35
17	Clothianidin	可尼丁	2.63	250 > 169	18	12	250 > 132	18	18
18	Cyazofamid	賽座滅	7.18	325 > 108	20	20	325 > 261	20	10
19	Cyflumetofen	賽芬蟎	9.81	448 > 173	28	28	448 > 249	28	8
20	Cyprodinil	賽普洛	7.93	226 > 93	50	33	226 > 108	50	25
21	Cyromazine	賽滅淨	1.58	167 > 125	30	18	167 > 108	30	20
22	Diflubenzuron	二福隆	7.35	309 > 156	-20	-10	309 > 289	-20	-10
23	Dimethoate	大滅松	2.79	230 > 125	14	20	230 > 199	14	11
24	Dimethomorph	達滅芬	5.83 /6.29	388 > 301	35	20	388 > 165	35	30
25	Dinotefuran	達特南	1.97	203 > 157	20	8	203 > 129	20	14
26	Etoazole	依殺蟎	10.31	360 > 141	35	35	360 > 304	35	17
27	Famoxadone	凡殺同	8.63	392 > 331	20	11	392 > 238	20	20
28	Fenazaquin	芬殺蟎	10.60	307 > 57	30	25	307 > 161	30	19
29	Fenbutatin-oxide	芬佈賜	11.18	519 > 197	44	54	519 > 351	44	32
30	Fenpyroximate	芬普蟎	10.41	422 > 366	26	15	422 > 138	26	32
31	Fenthion	芬殺松	8.09	279 > 247	30	12	279 > 169	30	18
32	Fipronil	芬普尼	7.66	435 > 330	-29	-15	435 > 250	-29	-27
33	Flonicamid	氟尼胺	2.32	230 > 203	32	18	230 > 174	32	18

表三、二・四地等75項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及參考滯留時間(LC/MS/MS)(續)

序號	英文名	中文名	滯留時間 (min)	定量離子對			定性離子對		
				前驅離子 > 產物離子 (m/z)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子 > 產物離子 (m/z)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)
34	Fluazinam	扶吉胺	9.99	463 > 416	-30	-20	463 > 398	-30	-20
35	Fludioxonil	護汰寧	5.78	266 > 158	14	32	266 > 185	14	24
36	Flufenoxuron	氟芬隆	10.27	489 > 158	40	22	489 > 141	40	46
37	Fluopicolide	氟比來	6.34	385 > 175	29	23	385 > 147	29	49
38	Flusilazole	護矽得	7.63	316 > 165	32	26	316 > 247	32	16
39	Flutriafol	護汰芬	4.51	302 > 70	26	18	302 > 123	26	29
40	Hexaconazole	菲克利	8.56	314 > 70	26	22	314 > 159	26	40
41	Hexythiazox	合賽多	10.16	353 > 228	24	14	353 > 168	24	26
42	Imidacloprid	益達胺	2.60	256 > 175	28	20	256 > 209	28	15
43	Isoprocarb	滅必蟲	4.52	194 > 95	18	14	194 > 137	18	8
44	Mecarbam	滅加松	7.00	330 > 227	21	8	330 > 97	21	35
45	Metalaxyl	滅達樂	4.78	280 > 220	20	13	280 > 192	20	17
46	Methamidophos	達馬松	1.61	142 > 94	22	13	142 > 125	22	13
47	Methiocarb	滅賜克	5.69	226 > 169	22	10	226 > 121	22	22
48	Methomyl	納乃得	2.29	163 > 88	20	10	163 > 106	20	10
49	Metrafenone	滅芬農	9.04	409 > 209	20	17	409 > 227	20	29
50	Monocrotophos	亞素靈	2.41	224 > 127	20	16	224 > 98	20	12
51	Omethoate	歐滅松	1.92	214 > 183	20	10	214 > 155	20	15
52	Oxycarboxin	嘉保信	2.96	268 > 175	20	16	268 > 147	20	25
53	Pencycuron	賓克隆	9.14	329 > 125	40	22	329 > 218	40	20
54	Phoxim	巴賽松	8.72	299 > 129	20	11	299 > 153	20	7
55	Pirimicarb	比加普	4.24	239 > 72	28	18	239 > 182	28	15
56	Prochloraz	撲克拉	8.83	376 > 308	17	11	376 > 266	17	14
57	Profenophos	佈飛松	9.76	373 > 303	36	20	373 > 128	36	40
58	Propamocarb hydrochloride	普拔克	1.99	189 > 102	25	17	189 > 144	25	12
59	Propargite	毆蟪多	10.31	368 > 231	15	11	368 > 175	15	17
60	Propoxur	安丹	3.68	210 > 111	15	16	210 > 168	15	10
61	Pyraclostrobin	百克敏	8.76	388 > 163	25	25	388 > 194	25	12
62	Pyridaben	畢達本	10.59	365 > 147	22	24	365 > 309	22	12
63	Quinoxifen	快諾芬	10.11	308 > 197	55	32	308 > 162	55	44
64	Spinosad A	賜諾殺A	9.71	733 > 142	50	31	733 > 98	50	59
65	Spinosad D	賜諾殺D	10.32	747 > 142	51	31	747 > 98	51	53
65	Spirodiclofen	賜派芬	10.44	411 > 313	25	11	411 > 71	25	14
67	Tebufenozide	得芬諾	7.79	353 > 133	13	20	353 > 297	13	8

表三、二・四地等75項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及參考滯留時間(LC/MS/MS)(續)

序號	英文名	中文名	滯留時間 (min)	定量離子對			定性離子對		
				前驅離子 > 產物離子 (m/z)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子 > 產物離子 (m/z)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)
68	Tebufenpyrad	得芬瑞	9.93	334 > 117	52	34	334 > 145	52	28
69	Thiabendazole	腐絕	2.96	202 > 175	45	25	202 > 131	45	30
70	Thiacloprid	賽果培	2.94	253 > 126	35	20	253 > 90	35	40
71	Thiamethoxam	賽速安	2.33	292 > 211	22	12	292 > 132	22	22
72	Thiodicarb	硫敵克	4.04	355 > 88	20	16	355 > 108	20	16
73	Trichlorfon	三氯松	2.82	257 > 109	22	18	257 > 79	22	30
74	Tricyclazole	三賽唑	3.10	190 > 163	38	20	190 > 136	38	26
75	Trifloxystrobin	三氟敏	9.58	409 > 186	28	16	409 > 145	28	40
-	Triphenylphosphate ^a	磷酸三苯酯	8.66	327 > 77	40	35	-	-	-

a. 內部標準品

表四、阿特靈等68項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及參考滯留時間(GC/MS/MS)

序號	英文名	中文名	滯留時間 (min)	定量離子對		定性離子對	
				前驅離子 > 產物離子 (m/z)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子 > 產物離子 (m/z)	碰撞 能量 (eV)
1	Aldrin	阿特靈	9.37	263 > 193	35	263 > 228	20
2	alpha-endosulfan	-安殺番	10.70	241 > 206	15	241 > 170	25
3	beta-Endosulfan	-安殺番	11.64	195 > 159	10	241 > 206	15
4	Bifenthrin	畢芬寧	12.68	181 > 166	15	165 > 115	30
5	Bitertanol	比多農	13.88	170 > 141	20	170 > 115	30
6	Bromopropylate	新殺蟎	12.79	341 > 183	15	341 > 155	25
7	Bupirimate	布瑞莫	11.00	273 > 193	10	208 > 165	10
8	Chinomethionat	蟎離丹	10.52	234 > 206	10	206 > 148	15
9	Chlorfenapyr	克凡派	11.16	247 > 227	15	247 > 200	25
10	Chlorfenvinphos	氯芬松	9.68/9.89	267 > 159	20	323 > 267	15
11	Chlorpyrifos	陶斯松	9.16	314 > 258	15	314 > 286	10
12	Chlorpyrifos-methyl	甲基陶斯松	8.44	286 > 93	20	286 > 271	15
13	cis-Chlordane	cis-可氯丹	10.67	373 > 266	20	373 > 301	10
14	Cyfluthrin	賽扶寧	14.35	163 > 127	5	206 > 151	20
15	λ-Cyhalothrin	賽洛寧	13.31	181 > 152	20	197 > 141	15
16	Cypermethrin	賽滅寧	14.64	163 > 127	5	181 > 152	20
17	Deltamethrin	第滅寧	16.25	253 > 93	20	253 > 172	10
18	Diazinon	大利松	7.64	304 > 179	10	179 > 137	15

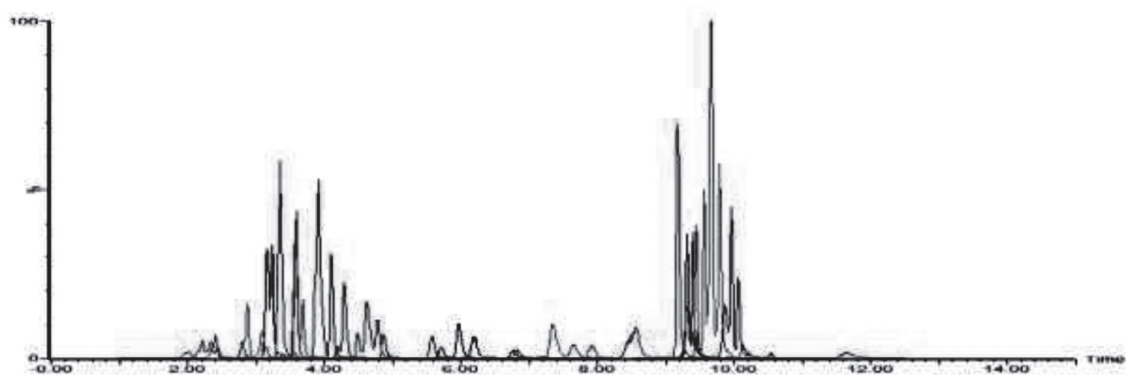
表四、阿特靈等68項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及參考滯留時間(GC/MS/MS)(續)

序號	英文名	中文名	滯留時間 (min)	定量離子對		定性離子對	
				前驅離子 > 產物離子 (<i>m/z</i>)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子 > 產物離子 (<i>m/z</i>)	碰撞 能量 (eV)
19	Dichlofluanid	益發靈	9.07	123 > 77	15	224 > 123	10
20	Dichlorvos	二氯松	4.58	185 > 93	15	185 > 109	20
21	Dieldrin	地特靈	11.15	263 > 193	25	263 > 228	20
22	Difenoconazole	待克利	16.00	323 > 265	15	323 > 202	30
23	Edifenphos	護粒松	12.06	173 > 109	10	310 > 173	15
24	Endosulfan-sulfate	安殺番代謝物	12.17	272 > 237	15	387 > 253	10
25	Endrin	安特靈	11.49	263 > 193	25	263 > 228	20
26	Ethion	愛殺松	11.56	231 > 129	25	231 > 175	15
27	Etrimfos	益多松	7.89	292 > 181	10	292 > 153	20
28	Fenitrothion	撲滅松	8.92	277 > 109	20	277 > 260	10
29	Fenpropathrin	芬普寧	12.83	181 > 152	20	265 > 210	15
30	Fensulfothion	繁福松	11.50	293 > 125	15	292 > 109	15
31	Fenvalerate	芬化利	15.40/15.61	167 > 125	10	125 > 89	20
32	Flucythrinate	護賽寧	14.66/14.83	199 > 157	10	451 > 199	10
33	Flutolanil	福多寧	10.68	173 > 145	15	281 > 173	15
34	Heptachlor	飛佈達	8.77	272 > 237	15	237 > 167	30
35	Iprodione	依普同	12.63	314 > 245	15	314 > 271	10
36	Isofenphos	亞芬松	9.84	213 > 121	15	213 > 185	10
37	Isoprothiolane	亞賜圃	10.82	290 > 118	15	290 > 204	10
38	Kresoxim-methyl	克收欣	11.01	116 > 89	10	206 > 116	10
39	Lindane	靈丹	7.70	181 > 145	15	219 > 183	10
40	Malathion	馬拉松	8.99	173 > 99	15	173 > 127	5
41	Methacrifos	滅克松	5.90	125 > 79	5	208 > 93	15
42	Methidathion	滅大松	10.35	145 > 85	10	145 > 58	15
43	Myclobutanil	邁克尼	11.01	179 > 125	15	179 > 152	10
44	o,p'-DDD	2,4-滴滴滴	11.10	235 > 165	25	235 > 199	15
45	o,p'-DDE	2,4-滴滴依	10.43	246 > 176	30	318 > 246	25
46	o,p'-DDT	2,4-滴滴涕	11.68	235 > 165	15	235 > 199	15
47	Oxadiazon	樂滅草	10.88	258 > 175	10	258 > 112	25
48	Oxadixyl	毆殺斯	11.60	163 > 132	10	163 > 117	25
49	Penconazole	平克座	9.87	248 > 157	25	248 > 192	15
50	Pendimethalin	施得圃	9.74	252 > 162	10	252 > 191	10
51	Permethrin	百滅寧	13.96	183 > 153	15	163 > 127	5
52	Phenthoate	賽達松	10.01	274 > 121	10	274 > 246	10

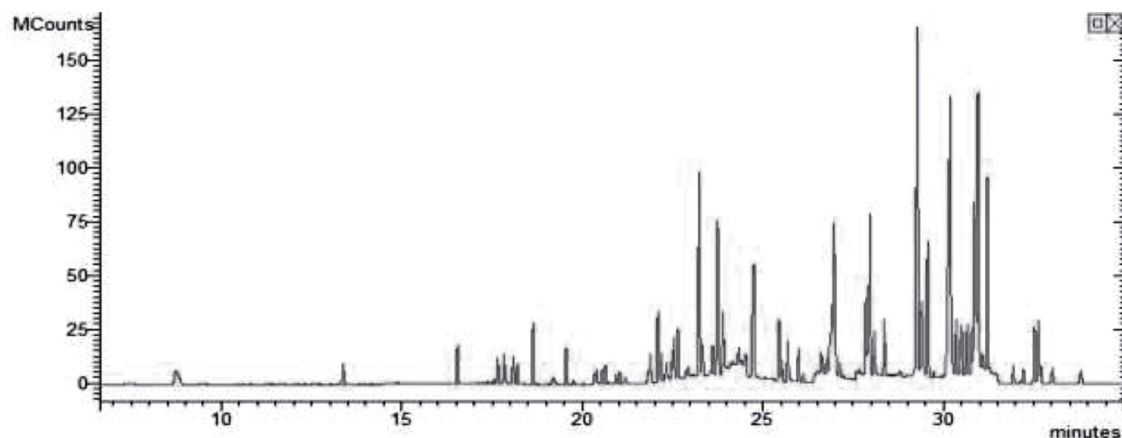
表四、阿特靈等68項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及參考滯留時間(GC/MS/MS)(續)

序號	英文名	中文名	滯留時間 (min)	定量離子對		定性離子對	
				前驅離子 > 產物離子 (<i>m/z</i>)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子 > 產物離子 (<i>m/z</i>)	碰撞 能量 (eV)
53	Phorate	福瑞松	7.10	121 > 93	5	260 > 75	10
54	Phosalone	裕必松	13.20	182 > 111	15	182 > 138	10
55	Phosmet	益滅松	12.79	160 > 133	10	160 > 105	15
56	Pirimiphos-methyl	亞特松	8.80	290 > 125	20	290 > 151	20
57	Procymidone	撲滅寧	10.12	96 > 68	10	283 > 96	10
58	Propiconazole	普克利	12.09	173 > 145	15	259 > 69	10
59	Prothiofos	普硫松	10.81	267 > 239	10	309 > 239	15
60	Pyrimethanil	派美尼	7.81	198 > 118	30	198 > 156	25
61	Pyriproxyfen	百利普芬	13.28	136 > 96	10	136 > 78	20
62	Tebuconazole	得克利	12.34	250 > 125	20	250 > 153	10
63	Terbufos	托福松	7.63	231 > 175	15	231 > 157	20
64	Tetraconazole	四克利	9.28	336 > 218	15	336 > 204	30
65	trans-Chlordane	trans-可氯丹	10.45	373 > 266	20	373 > 301	10
66	Triadimefon	三泰芬	9.34	208 > 181	10	208 > 111	20
67	Triadimenol	三泰隆	10.09/10.24	168 > 70	10	128 > 65	20
68	Vinclozolin	免克寧	8.47	212 > 145	25	285 > 212	10
-	Triphenylphosphate ^a	磷酸三苯酯	12.37	326 > 169	30	-	-

a. 內部標準品



圖一、分析75種農藥於豬肝臟(0.05 mg/kg)之LC/MS/MS總離子層析圖



圖二、分析68種農藥於豬肝臟(0.05 mg/kg)之GC/MS/MS總離子層析圖

二、檢量線範圍及定量極限

將LC/MS/MS分析用標準溶液以甲醇逐步稀釋至0.0002 - 0.2 $\mu\text{g/mL}$ ；GC/MS/MS分析用標準溶液以丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液稀釋至0.0005 - 0.2 $\mu\text{g/mL}$ ，探討農藥之檢量線範圍、決定係數(Coefficient of Determination, r^2)及儀器最低偵測極限(Instrument Detection Limit, IDL)，其中儀器最低偵測極限定義為檢量線最低點，同時定量離子強度之訊雜比(S/N)大於10以上且定性離子強度之訊雜比大於3以上，且串聯式質譜儀(Tandem Mass Spectrometry)中每一農藥定性離子與定量離子之相對離子強度(Relative Ion Intensities)比值亦需符合最大容許範圍⁽⁵⁾。LC/MS/MS可偵測之最低濃度介於0.0002 - 0.01 $\mu\text{g/mL}$ ，GC/MS/MS可偵測之最低濃度則介於0.0005 - 0.02 $\mu\text{g/mL}$ ，其決定係數 r^2 值皆在0.99以上。為求操作一致及方便性，本實驗定量時以濃度0.005 - 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 作為基質匹配檢量線範圍。

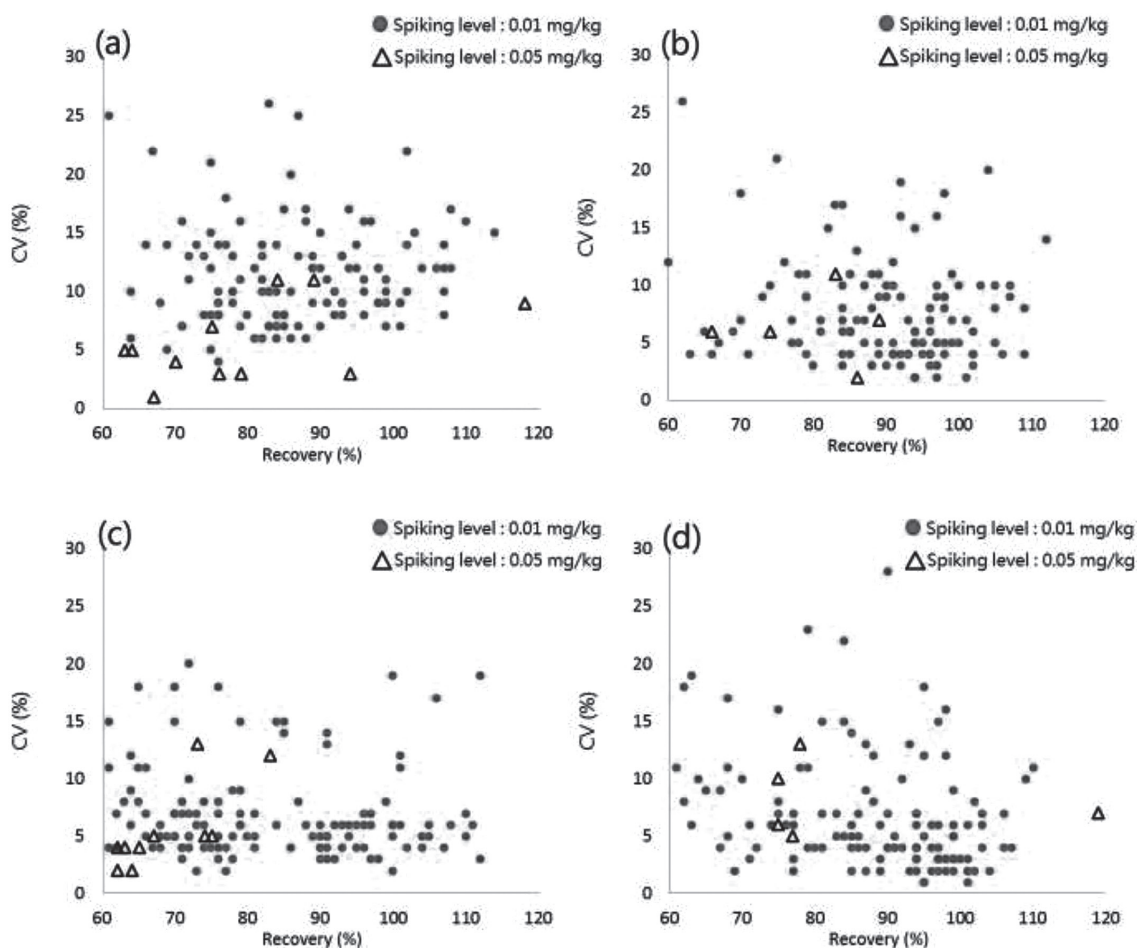
檢驗方法定量極限(Quantity of Limit, LOQ)評估，係將143種農藥分別添加於4種作物類別中(豬里肌肉、豬肝臟、雞肉、魚肉)，使其含2種農藥濃度(0.01及0.05 mg/kg)，進行方法回收率試驗($n = 3$)，共有3,432組結果，其

中88%以上之農藥之回收率可介於60 - 120%之間，且變異係數(CV%)在20%以下，84%以上之農藥品項定量極限可達0.01 ppm。以此檢驗方法分析豬里肌肉中143種農藥殘留時，評估其定量極限可達0.01或0.05 mg/kg者共133項，豬肝臟及雞肉為131項，魚肉為127項，結果如圖三，顯示本方法準確度及精密度佳。

三、基質效應探討

質譜分析法應用於食品安全檢測時，其為快速、靈敏的分析工具，液相層析質譜儀利用電灑游離方式(Electron Spray Ionization, ESI)，氣相層析質譜儀則利用電子撞擊方式(Electron Impact, EI)做為離子化來源，其效率和干擾會因基質之不同而深受影響，在動物用藥方面的分析中，常用同位素標記作為內部標準品以執行定量，但若應用於農產品或動物產品中多重農藥檢測工作時，因藥劑種類多達百種以上，同位素標記之農藥標準品亦取得不易，故須分別探討各種農藥於不同基質效應下的影響情形。為評估基質影響是否抑制(Suppression)或增加(Enhancement)，將農藥標準品配製於含基質的檢液與不含基質的溶劑中，再以質譜分析後之離子強度相對比值進行探討，定義離子強

以QuEChERS法搭配液相及氣相層析串聯質譜儀建立動物產品中農藥多重殘留檢驗方法



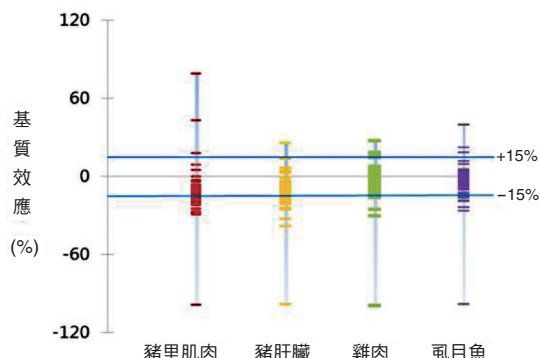
圖三、添加農藥0.01及0.05 mg/kg於4種基質中之回收率及變異係數(a)豬里肌肉(b)豬肝臟(c)雞肉(d)魚肉 (n=3)

度變化介於 $\pm 15\%$ 時，表示無明顯影響，若變化達低於 -15% 則表示基質有明顯抑制離子化效率，若變化達高於 $+15\%$ 以則表示有明顯增強離子化效率。

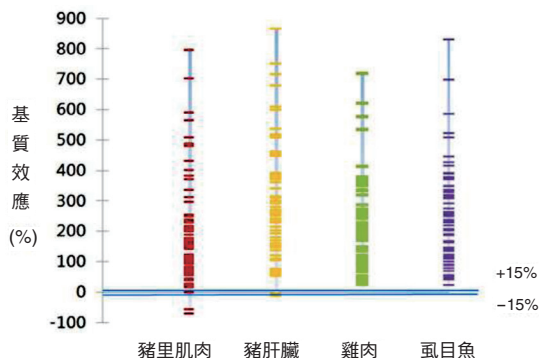
以濃度0.05 ppm進行評估，試驗結果發現以LC/MS/MS分析之藥劑，多數介於 $\pm 15\%$ 的影響範圍內，但農藥Fipronil在豬里肌肉基質中，基質效應增強為最高達 $+79\%$ ，Propamocarb hydrochloride在豬肝臟及雞肉中為最高達 $+25\%$ 及 $+27\%$ ，2,4-D在魚肉中為最高達 $+39\%$ ，而Amitraz在四種基質中，基質

效應抑制為最低達約 -99% (圖四)。以GC/MS/MS分析之藥劑，其多屬基質增強效應且於四種基質中，其數值範圍為 -17 至 865% (圖五)。

整體而言，若以質譜儀做為農產品及動物產品中多重農藥檢測之偵測儀器時，除考慮樣品前處理的淨化步驟外，更需以相同基質來製備標準檢量曲線作為定量方式，以達提高真實樣品濃度之準確度，同時運用定性離子強度比值(Ion Ratio)，使判定更能符合現有規範之要求。



圖四、75種農藥添加於4種基質中之LC/MS/MS基質效應評估結果



圖五、68種農藥添加於4種基質中之GC/MS/MS基質效應評估結果

四、實驗室間比對

為探討方法的可行性，除方法確效時應進行之回收率與重複性測試外，另邀請國內相關的農藥檢驗單位，包括地方衛生主管單位及民間檢驗單位，共計11家進行實驗室間比對，進行豬肉與豬肝基質中各別添加各農藥標準品0.01及0.05 mg/kg 二種濃度之評估試驗，收集各參與實驗室之回收率、基質匹配檢量線r值、定量極限及各實驗室使用儀器型號。實驗室間變異性(Between-Laboratory Coefficient of Variation, CV%)以20%的容許變異值為評估的標準，相關係數(r值)需大於0.99，且至少8家實驗室符合以上三種條件進行評估。

各實驗室比對試驗回復之定量極限結果，在4種基質中無法達到要求之聯集農藥品項為二、四地、三亞蟎、貝芬替、蟎離丹、克芬蟎、賽普洛、賽滅淨、益發靈、芬佈賜、扶吉胺、納乃得、普拔克、腐絕和硫敵克，共計14品項，其他約84%品項之定量極限可達0.01 ppm。上述農藥品項因其化學結構與理化性質差異，在某些基質下回收率偏低，同時也造成結果變異較大。整體而言，試驗設計以因質譜檢測較傳統分析儀器之靈敏度高，縱使回收率較低之藥劑，亦可作為多重農藥殘留監測項目，至於定量時則須謹慎考慮是否進行回收率

校正或另行探討。

另利用單一化合物(Triphenylphosphate, TPP)內部標準品校正，若因基質不同而致使回收率有所差異時，建議可將樣品中內部標準品作為品管樣品，若超出管制範圍時則須再進一步評估內部標準品計算之適用性，並以基質匹配(Matrix-matched)檢量線作為定量依據較佳。

結 論

本研究建立動物產品中農藥多重殘留檢驗方法，藉由方法確效評估及實驗室間比對後，準確度及精密度佳，在豬里肌肉、豬肝臟、雞肉、魚肉基質中約有84%品項之定量極限可達0.01 ppm，但二、四地等14品項，因回收率偏低且變異較大，顯示不適以本方法進行檢驗。此方法快速、環保，可應用於市售動物產品中之農藥殘留檢驗。

參考文獻

1. Anastassiades, M., Lehotay, S.J. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "Dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce.

- Journal of AOAC International. 86: 412-431
2. Anastassiades, M. 2007. Pesticide Chemistry: Crop Protection, Public Health, Environmental Safety. pp. 439-458. John Wiley & Sons, Inc.
 3. European Commission. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANCO/12571/2013.
 4. 衛生福利部。2014。食品中殘留農藥檢驗方法-多重殘留分析方法(五)。103.07.03部授食字第1031900615號公告修正。
 5. European Commission. 2011. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANCO/12495/2011.

Development of a Multi-residue Method for Pesticides in Foods of Animal Origin Using a Modified QuEChERS Method Combined with LC-MS/MS and GC-MS/MS

CHIH-CHEN LIU¹, YING-RU SHEN¹, CHIA-DING LIAO¹, YA-MIN KAO¹,
HSU-KUAN CHOU¹, HWEI-FANG CHENG¹, SHAO-KAI LIN²,
WEI-CHEN CHUANG², CHEN-HUA HUANG² AND TSYR-HORNG SHYU²

¹Food and Drug Administration, Ministry of Health and Welfare, Taipei, Taiwan

²Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture,
Taichung, Taiwan

ABSTRACT

The purpose of this study was to establish a multi-residue method for pesticides in foods of animal origin. The QuEChERS method was used for sample preparation. The foods of animal origin were extracted by acetonitrile containing 1% of acetic acid, and then salted out with anhydrous magnesium sulfate and sodium acetate. After followed centrifugation, the buffered acetonitrile extract was cleaned up via clean-up powder containing primary secondary amine, C18, graphitized carbon and anhydrous magnesium sulfate before analysis. Totally 75 and 68 pesticide compounds were analyzed by LC-MS/MS (liquid chromatograph/tandem mass spectrometer) and GC-MS/MS (gas chromatograph/tandem mass spectrometer) respectively in a 30 min single run. The recovery and repeatability tests were conducted at the concentrations of 0.01 and 0.05 ppm in four matrices including pork, pork liver, chicken and fish. The validated results showed that good accuracy (recovery between 60 - 120%) and good precision (coefficient of variation < 20%) were found in 88% of all the tested pesticides. Besides, 84% tested pesticides obtained limit of quantitations of 0.01 ppm.

Key words: foods of animal origin, pesticides, LC/MS/MS, GC/MS/MS