

生物及理化測定農藥殘量之比較研究

周薰修、嚴文君、李萍萍、游禎義

以家蠅來測定蔬菜上農藥殘量之生物測定法確為一迅速可行之簡易分析法。惟少數農藥則有例外，Kelthane 在 70 ppm 濃度下 4 小時亦無法測得其死亡率，來判定其毒性等級，Mevinphos 與 parathion 毒性相若，但在家蠅之死亡率上却有顯著之差別。氣相層析法分析農藥殘留量，感度好，可以正確的鑑別農藥種類並定量。但前處理過程相當複雜，特別在作深入及極微量分析時，有機磷劑必需個別處理，因此系統分析法之建立有待開發。

緒 言

目前一般農民使用的農藥多半屬於易分解的化合物，這些化合物施用於農作物之後，在複雜而不同的環境中會產生許多化學變化，雖然農藥經使用後會有殘留於農作物的現象，但是在今日集約化經營的農作物生產上，農藥的使用已不可或缺。加上台灣位於亞熱帶，昆蟲及病害猖獗，農藥成為增加生產最有效的手段，目前台灣已登記的農藥約有 300 多種¹⁾，事實上常用的約有 150 種²⁾左右。這麼多種的農藥各有特殊的藥性，為了使檢驗分析上便於操作，乃依農藥分子結構中具活性之部位加以分類之。氯、磷及氨基甲酸鹽劑三大類佔了絕大多數，所以一般都以此三大類加以檢討分析之。氯劑目前使用的極為少數（大部份於民國 64 年，BHC 在 69 年被禁用），其中使用量多的莫過於磷劑，次為氨基甲酸鹽劑。二者都具有很顯著的同一特性，那就是對昆蟲或哺乳動物血液中膽素酯酵素（cholinesterase）^{3,4,5,6,7)} 活性之阻礙迅速而敏感，即使極為微量之農藥亦有所作用。因此為了確保消費者的安全，攔截 150 種農藥在作物上之殘留，不得不由共同持有之特性中加以測定之。家蠅腦中有豐富的膽素酯酵素，因此成為測定該等農藥之有效工具。

餵食家蠅以檢測市售的蔬菜是民國四十八年由台灣省農業試驗所，動物系，農藥研究小組在「蔬菜上農藥遺留毒檢驗」上開發出來的方法，所使用之家蠅（*Musca domestica*），據說是英國引進的，由何人引進已無法追溯。是一種從未受過農藥污染，能夠純然反應對農藥的影響。未受污染的異地家蠅引進國內，最重要的當然是飼養、繁殖適應力及測試農藥殘量的敏感問題。這些問題當然農試所都有經常性的測試，本實驗在原理上是正確的。但是農藥的毒性各異，慢急性有別，因此必有例外存在，且無法確知由何種農藥所致為最大缺點。目前在農林廳主持下的全省十八個生物測定站就使用本方法來從事教育農民及勸導農民使用農藥時的依據，因為測定站大部份都設立在各區域的果菜市場內，他們取的樣品是直接從菜農的田圃裡取回來的，在尚沒上市之前能以最短的時間內測知結果，如果發現有農藥殘留，立刻到菜農家，勸導暫緩採收，待數日後，經複檢

無農劑殘留時再行上市。

依農試所所作小白菜實驗結果，以乙基巴拉松（parathion）農藥濃度為 1 ppm 之家蠅死亡率為百分之六，2 ppm 死亡率為百分之十六，至 5 ppm 則死亡率高達百分之九十六，並依家蠅之死亡率來決定級量之大小；例如死亡率在百分之十以上者為二級量，百分之五到十者為一級量，百分之零至五者為零級量。

理化測定一直是衛生機關用來對市售食品檢驗及取締之依據，因此在實驗操作上之要求遠比農業機關嚴格。為了判定及取締，必需定性及定量才能符合法律之規定。因此高度的敏感度、可靠的鑑別能力及重複使用之再顯性，一直成為衛生化學家所追求的目標，為了鑑別微量的殘留農藥，煩雜的分離、淨化是必要的，同時為了增加分析上高度的敏感度，儀器的使用在所難免。因此各種農藥之前處理、分析儀器之測定條件都會因個別農藥之理化特性而有所不同。顯然的理化測定會因前處理之繁雜而延長操作時間，但具有敏銳的測出極限是最好的定量法。因此嚴格的定性定量及分析所延誤的時間，無法迅速攔截殘留農藥落入消費者之手中。這是多年來一直被批評的重點所在，為了尋求解決癥結的所在，無外乎，取生物測定法之快速優點，配合理化測定法之準確性，則這個問題自然迎刃而解，也就是說檢驗一開始，先採用生物測定法，即篩選（Screen test）然後只對生物測定法有反應之檢體施行理化分析，這樣可以節省大量的時間，增加檢驗之工作量，這樣自然可以有效的防止農藥污染蔬菜、水果。

然而生物測定也有其缺點，低毒性或慢性毒有被遺漏之可能，加上家蠅本身會因當時之環境或個體上本能之胃口不佳，大大影響測定的結果，也就是說實驗之可變因素甚多，準確性較低，本研究工作即在於比較利用家蠅測試之生物檢定法及利用儀器檢驗之理化試驗法之優劣，以評估生物檢定法之可行性。

材 料 及 方 法

I、生物檢定部份

一、材料及器具

- 1 試驗用蠅蛹來源：台灣省農業試驗所
- 2 保溫箱：G.C.A Model No. 4
- 3 二氧化碳：高壓瓶裝
- 4 濾紙：直徑 4.8 cm
- 5 棉花：脫脂棉
- 6 溶劑：ACETONE（MERCK）
- 7 棉紗：脫脂紗布
- 8 脫脂奶粉：安佳即溶脫脂奶粉
- 9 蠅網籠：直徑 14.5 cm × 31 cm
- 10 飼養瓶：直徑 8 cm × 4.5 cm

1. 標準農藥：(1) Ethyl parathion 日本和光純藥工業株式會社殘留農藥試驗用標準品。
- (2) Malathion 日本和光純藥工業株式會社殘留農藥試驗標準品。
- (3) Diazinon 日本和光純藥工業株式會社殘留農藥試驗標準品。
- (4) Dichlorvos (DDVP) 95% 原體。
- (5) Mevinphos (phosdrin) 95% 標準品 SUPELCO INC. U.S.A.
- (6) Kelthane 日本和光純藥工業株式會社殘留農藥試驗標準品。
- (7) Trichlorfon (Dipterex) 91.8% 原體。

二、實驗步驟

1 供試蠅之處理

收到農試所寄來的蠅蛹後，立刻打開蛹盒將蛹放入蠅網籠中，在 25℃ 保溫箱裡使其羽化，羽化之蠅以 3% 奶粉液飼養，供試蠅採用羽化三日之成蛹（雌雄不夠）試驗前 15 小時停止餵食。

2 標準藥劑之調配

- (1) 取 Ethyl parathion, Malathion, Diazinon, Dichlorvos, Mevinphos, Kelthane, Trichlorfon 之標準品分別配成 1000 ppm，此溶液為 A 液。
- (2) 由 A 液中取適當量配成 100 ppm，此溶液為 B 液。
- (3) 由 B 液中取適當量配成 10 ppm，20 ppm，30 ppm，40 ppm，50 ppm。
- (4) 由 (3) 10 ppm 溶液中取適當量配成 1 ppm，2.5 ppm，5 ppm，7.5 ppm。
- (5) Mevinphos, Malathion, Kelthane 三種農藥因藥性較低，所以除上述配製濃度外再增加 75 ppm，100 ppm，150 ppm，200 ppm。Kelthane 則增配到 700 ppm。

3 實驗方法

本實驗採用奶粉液及 Acetone 做為對照，檢定方法採用餵食法。

對照組製作如下：

- (1) 奶粉液：取 7% 奶粉液 10 ml 加入飼養瓶中。
- (2) Acetone：取 1 ml Acetone 加入已裝有 7ml 奶粉液 (7%) 的飼養瓶中使成 10 ml。
- 對照組準備好之後取配製好的標準農藥 1 ppm，2.5 ppm，5 ppm，7.5 ppm，10 ppm，20 ppm，30 ppm，40 ppm，50 ppm，75 ppm，100 ppm，150 ppm，200 ppm，300 ppm，400 ppm，500 ppm，600 ppm，700 ppm，各 1 ml 分別加入已裝有奶粉液 (7%) 9ml 的飼養瓶中使成 0.1 ppm，0.25 ppm，0.5 ppm，0.75 ppm，1 ppm，2 ppm，3 ppm，4

ppm，5 ppm，7.5 ppm，10 ppm，15 ppm，20 ppm，30 ppm，40 ppm，50 ppm，60 ppm，70 ppm 濃度。此種實驗方法，每一種農藥的每一種濃度及對照組都需要重覆做三次，飼養瓶中的試劑準備好之後，加入脫脂棉及濾紙以便吸附試劑供試驗蠅吸食用，而後用二氧化碳使試驗蠅適度的麻醉，在飼養瓶中放入 20 隻，瓶中上覆蓋紗布放置在室溫中 4 小時觀察其死亡率。

三、標準反應檢定線之繪製

一般以機值對數紙繪製反應檢定線，即以死亡率為機值 (probit)，濃度為對數 (Log) 劃一直線之反應檢定線，此標準反應檢定線繪製好後測定所得死亡率，即可依此反應檢定線而求出相對應之農藥濃度，表 I - 1 為百分死亡率與機值之換算表。

II、理化檢定部份

一、試藥種類及實驗材料

1 農藥標準品：

同 I - 11。

2 試藥：

Acetonitrile, Petroleum ether, Benzene, Acetone, Chloroform：試藥特級 Merck。

Ethyl ether, Sodium chloride：試藥級 Merck。

n-Hexane：L.C. 級 Merck，試藥一級日本林純藥工業株式會社。

Sodium sulfate, Anhydrous：試藥一級日本和光純藥工業株式會社。

Florisil 60-100 Mesh / PR SIGMA CHEMICAL COMPANY, U.S.A.

Celite 545：試藥一級，日本關東化學株式會社。

Attapulugus clay：Average particle size 18 microns, MATHESON COLEMAN & BELL, U.S.A.

Hyflo Super-Cel：日本和光純藥工業株式會社。

Nuchar Carbon 試藥級 CITY CHEMICAL CORP., U.S.A.

Sea Sand：試藥級，日本和光純藥工業株式會社。

3 玻璃儀器：

抽氣漏斗 Büchner funnel

抽氣瓶 Büchner flask, filtering

濃縮瓶 Kjeldahl flask 500 ml

淨化管 1.5 cm × 20 cm 玻璃製有 Teflon 活栓

塑膠瓶 PE 製 500 ml

振盪機 PRECISION SCIENTIFIC COMPANY

減壓濃縮裝置 Büchi Rotary Evaporator

氣液相層析儀 Varian 3700 with FPD, ECD

4. 標準液的配製：

稱取農藥標準品 100 mg (以含量 100 % 計算) 以苯 (Benzene L.C. 級) 溶解至 100 ml 即為 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

取 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液，配製成 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 及 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液。

取 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液 1, 2.5, 5, 7.5 ml 以 Benzene 稀釋至 10 ml 成為 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液。

取 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液 1, 2, 3, 4, 5 ml 以 Benzene 稀釋至 10 ml 成為 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液。

二、實驗步驟

(一) 標準曲線之製作

將配製好之標準液由 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 分別依序注入 3 μg 於氣液相層析儀中測定之，其濃度與測定之值在方格紙上繪成曲線。

(二) 回收曲線之製作

1. 取樣：

將高麗菜切碎混合均勻後，其中只有 Dichlorvos 的前處理為每取 1 kg 切碎的高麗菜加 100 ml 6 N HCl 混合均勻後再取所需量，其餘皆為在 10 個 250 ml 的三角燒瓶內加入一定量切碎的高麗菜，再於其中 9 個瓶中分別加入 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的農藥標準液 1 ml, 2.5 ml, 5 ml, 7.5 ml 及 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的農藥標準液 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml，並分別標以記號，剩餘 1 個做為空白試驗。

2. 萃取：

A、Ethyl Parathion¹⁰⁾

將 100 g 處理好的檢體倒入果汁機中，以 100 ml 的 Acetonitrile 粉碎兩分鐘，抽氣過濾之，其濾液備用，再以 100 ml 的 Acetonitrile 洗果汁機的杯子，洗液亦抽氣過濾，其濾液合併前濾液倒入 1000 ml 的分液漏斗中，加入 100 ml Petroleum ether 用力振搖 1 分鐘，再加入 600 ml 蒸餾水及 10 ml 飽和食鹽水用力振搖 5 分鐘，靜置待分層，將下層液濾至另一 1000 ml 分液漏斗中加入 100 ml Petroleum ether 用力振搖 5 分鐘，合併兩次上層液，以 100 ml 蒸餾水輕輕洗兩次，將洗過的 Petroleum ether 濾液倒至 500 ml 濃縮瓶中於 40 °C 水浴減壓濃縮至約 1 ml 備用。

B、Malathion¹¹⁾

與 A. 相同

C、Diazinon¹⁵⁾

將 50 g 處理好的檢體，倒入果汁機中加 100 ml 的 Acetone 粉碎兩分鐘，抽氣過濾

之，其濾液備用，再以 100 ml Acetone 洗果汁機的杯子，洗液亦抽氣過濾，將合併兩次濾液中 Acetone 部份溜乾後移入 500 ml 分液漏斗中，加 10 % NaCl 10 ml 以 100 ml n-hexane 抽取兩次，將 n-hexane 層脫水後濃縮至約 1 ml 備用。

D、Dichlorvos^{12,13,14)}

將 50 g 處理好的檢體倒入果汁機中加 100 ml 的 Acetone 粉碎兩分鐘，抽氣過濾之，其濾液備用，再以 50 ml Acetone 洗果汁機的杯子，洗液亦抽氣過濾，合併兩次濾液，倒入 500 ml 的分液漏斗中，加 100 ml 飽和食鹽水，以 100 ml Petroleum 的分液漏斗乘，加 100 ml 飽和食鹽水，以 100 ml Petroleum ether 粹取兩次，合併兩次 Petroleum ether 層經無水硫酸鈉脫水後濃縮至約 1 ml 備用。

E、Mevinphos

將 100 g 處理好的檢體，置入塑膠瓶中，加入 100 ml Chloroform 用振搖機強力振搖 30 分鐘抽氣過濾之，其濾液備用，再以 50 ml 的 Chloroform 洗塑膠瓶，洗液亦抽氣過濾，合併兩次濾液，經無水硫酸鈉脫水，濃縮至約 1 ml 備用。

F、Kelthane⁷⁾

將 100 g 處理好的檢體，置入塑膠瓶中，加入 100 ml n-hexane 用振搖機強力振搖 30 分鐘，抽氣過濾之，其濾液備用，再以 50 ml 的 n-hexane 洗塑膠瓶，洗液亦抽氣過濾，合併兩次濾液，經無水硫酸鈉脫水，濃縮至約 1 ml 備用。

G、Trichlorfon⁸⁾

將 100 g 處理好的檢體，倒入果汁機中，加入 200 ml 0.01 NH_2SO_4 粉碎 5 分鐘，再加 5 g Hyflo Super-Cel 並打散之，抽氣過濾 (以少量 Hyflo Super-Cel 鋪在濾紙上) 其濾液備用，再以少量 0.01 NH_2SO_4 洗果汁機的杯子，洗液亦抽氣過濾，合併兩次濾液 (約 250 ml) 倒入 1000 ml 的分液漏斗中，加 80-90 g NaCl 激烈振搖至其完全溶解，再加 250 ml Ethyl ether 連續振搖 1 分鐘，待分層後取 ether 層以 30 g 無水硫酸鈉脫水後，在 30 °C 水浴中濃縮至約 1 ml 備用。

3. 淨化及檢液之配製

A、Ethyl Parathion

Florisil 經過 105 °C，24 小時活化後，取 10 g 填充在用玻璃棉塞好的淨化管內上加 3 ~ 5 g 無水硫酸鈉及少量白色海砂，以 50 ml Petroleum ether 淘洗，待淘洗液將流乾時，將 2 A. 之萃取濃縮液傾入，再以

300 ml 15 % Ethyl ether/Petroleum ether 溶液淘洗，將淘洗液濃縮至乾後，以 n-hexane 換溶定量至 10 ml 之檢液。

E、Malathion

Florisil Column 同 A，但以 150 ml Chloroform 淘洗，將淘洗液濃縮至乾後，以 n-hexane 換溶定量至 10 ml 之檢液。

C、Diazinon

Florisil Column; 加 5 g 活化後之 Florisil，其處理過程如同 A，以 150 ml 15% Ethyl ether/n-Hexane 淘洗將淘洗液濃縮至乾後，以 n-hexane 定溶至 10 ml 之檢液。

D、Dichlorvos

不經淨化過程，以 Acetone 定溶至 10 ml 之檢液。

E、Mevinphos

不經淨化過程，以 Chloroform 定溶至 10 ml 之檢液。

F、Kelthane

不經淨化過程，以 n-Hexane 定溶至 10 ml 之檢液。

G、Trichlorfon

淨化過程已包括在萃取過程中，濃縮液以 Chloroform 換溶定量至 10 ml 之檢液。

4. GLC 之測定

A、各種農藥之測定條件：

Gas	Flow Rate
Air : Air # 1	80 ml/min
Air # 2	170 ml/min
Hydrogen	140 ml/min
Nitrogen (Carrier)	30 ml/min

a、Ethyl Parathion

Column: 3 % SE-30 on Chromosorb
W HP 80/100 mesh

Detector: FPD-P

Temperature

Column: 200 °C

Detector: 240 °C

Injector: 240 °C

Attenuation: 128×10^{-10}

Chart Speed: 0.25 in/min

b、Malathion

Column: 3 % SE-30 on Chromosorb
W HP 80/100 mesh

Detector: FPD-P

Temperature

Column: 200 °C

Detector: 250 °C

Injector: 250 °C

Attenuation: 128×10^{-10}

Chart Speed: 0.25 in/min

c、Diazinon

Column: 3 % SE-30 on Chromosorb
W HP 80/100 mesh

Detector: FPD-P

Temperature

Column: 185 °C

Detector: 240 °C

Injector: 240 °C

Attenuation: 64×10^{-10}

Chart Speed: 0.25 in/min

d、Dichlorvos

Column: 10 % DEGS on Chromosorb
W AW 80/100 mesh

Detector: FPD-P

Temperature

Column: 145 °C

Detector: 180 °C

Injector: 180 °C

Attenuation: 128×10^{-10}

Chart Speed: 0.25 in/min

e、Mevinphos

Column: 10 % DEGS on Chromosorb
W AW 80/100 mesh

Detector: FPD-P

Temperature

Column: 190 °C

Detector: 220 °C

Injector: 220 °C

Attenuation: 128×10^{-10}

Chart Speed: 0.25 in/min

f、Kelthane

Column: 3 % SE-30 on Chromosorb
W HP 80/100 mesh

Detector: ECD Ni⁶³

Temperature

Column: 210 °C

Detector: 250 °C

Injector: 250 °C

Attenuation: 256×10^{-11}

Chart Speed: 1 cm/min

g、Trichlorfon

Column: 10 % DEGS on Chromosorb
W AW 80/100 mesh

Detector: FPD-P

Temperature

Column: 150 °C

Detector: 180 °C

Injector: 180 °C

Attenuation: 256×10^{-10}

Chart Speed: 0.5 in/min

B、將回收之檢液在 4 A 之條件下依序由 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至 5 $\mu\text{g/ml}$ 分別注入 3 μl 於氣液相層析儀中測定之。

結果與討論

在實驗的最初期，由於對家蠅的飼養、習性了解不夠，所以一再失敗其百分死亡率以 Ethyl parathion 乙基巴拉松為例。在 0.1ppm 濃度時高達 7.3%，在 1 ppm 至 2 ppm 時幾乎全部死亡，與農業試驗所製作的乙基巴拉松(Ethyl parathion)之反應檢定線相差甚遠，經加以檢討其原因可能為以下兩點：

- 1 供試蠅本身健康與否直接影響生物檢定試驗的準確度，如果蠅體發生自然死亡率過高的現象，則實驗結果應不採用。
- 2 麻醉過程若環境及設備允許時，使用冷凍法比二氧化碳法在施與麻醉後對蠅體的副作用要少，因為二氧化碳有使家蠅窒息的可能，而冷凍法僅使家蠅在低溫下呈停止活動狀態，可順利操作實驗，但如果使用冰箱冷凍時就必需操作迅速以免家蠅在室溫中恢復活動無法操作。

各種農藥的反應檢定線，各圖 I - 1, 2, 3, 4, 5, 6 及表 I - 2 - a, I - 2 - b。

由圖 I - 1 中可看出 Ethyl parathion 的容量為 0.75ppm 與生物檢定法的二級量(百分死亡率在 10% 以上者)相符合。

圖 I - 2 4. 6 Diazinon 容許量為 0.5 ppm 而生物檢定法二級量為 0.75ppm 左右。

Trichlorfon 容許量為 0.2 ppm 而生物檢定法二級量為 1 ppm 左右。

Mevinphos 容許量為 0.75 ppm 而生物檢定法二級量為 3.6 ppm 左右。

若測定人員以二級量來做為合格標準，很容易產生不合格的蔬菜流於市面的現象。

圖 I - 3 Dichlorvos 容許量為 0.5 ppm 而生物檢定法 0.25 ppm 已經超過二級量，所以生物檢定法在檢驗時較為敏感。

Malathion 因實驗數不足惟恐統計數據不具代表性，反應檢定線畫圖可能有誤差，尚待更深入的檢討。

現各測定站所採用生物檢定餵食法以 4 小時觀測其死亡率是否已達到一、二級量之測定依據，並不能真正控制蔬菜的安全度；以 Kelthane 為例(見表 I - 2 - a, I - 2 - b)它是低毒遲效性的藥劑，在實驗時雖然藥劑使用濃度高達 70ppm，但是在 4 小時觀測時僅產生極小的致死量，繼續觀測到 22 小時，50ppm 才有全部死亡的可能，因此並非經 4 小時觀測為合格即是安全的，幸好此類低毒遲效性的藥劑使用並不多。

以生物檢定法所繪製的六種反應檢定線與農業試驗所製作的乙基巴拉松(Ethyl parathion)之標準反應檢定線做比較：

標準反應檢定線上二級量濃度在 2ppm 左右，因此將 Ethyl parathion, Diazinon, Trichlorfon, Dichlorvos, Malathion, Mevinphos 六種農藥濃度為 2 ppm 左右的百分死亡率，在標準反應檢定線上做比較。

Ethyl parathion 2 ppm 濃度的百分死亡率是 73% 在標準反應檢定線上的濃度為 3.5 ppm。

Diazinon 2 ppm 濃度的百分死亡率是 77% 在標準反應檢定線上的濃度為 3.7ppm。

Trichlorfon 2 ppm 濃度的百分死亡率是 66% 在標準反應檢定線上的濃度為 3.4ppm。

Dichlorvos 2 ppm 濃度的百分死亡率是 99.4% 在標準反應檢定線上的濃度為 6.4 ppm。

Malathion 2 ppm 濃度的百分死亡率是 3% 在標準反應檢定線上的濃度為 1.45 ppm。

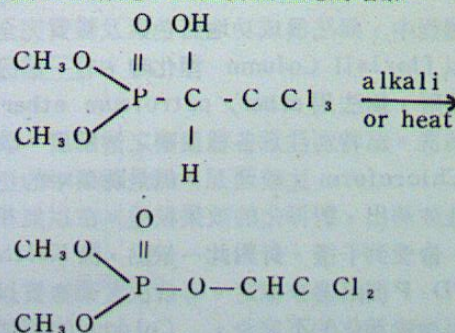
Mevinphos 2 ppm 濃度的百分死亡率是 1.2% 在標準反應檢定線上的濃度為 1.3ppm。

雖然生物檢定法所做的結果與農藥殘留量容許量有部份不盡相符，但是以快速而簡便的條件而言，生物檢定法仍是可採用的檢定方法之一。

以氣相層析分析法，焰光光譜測出器 FPD，測定 Ethyl parathion, Malathion, Diazinon, Dichlorvos, Mevinphos, Trichlorfon 等農藥，其敏感度及再顯性皆非常良好，在已公布之殘留農藥安全容許量標準範圍內都能測得殘留量。其回收率及標準層析圖依序分別為 85.9%, 84.3%, 80.3%, 84.9%, 82.8% 及 72.4%，如表 II - 1, 2, 3, 5, 7, 圖 II - 1 a, b, 2 a, b, 3 a, b, 4 a, b, 5 a, b, 7 a, b 等。

Kelthane 為目前公布之殘留農藥安全容許量標準中准予使用之唯一氯劑。在電子捕捉測出器 ECD 測定，下其回收率及標準層析圖為 83.9%，表 II - 6 圖 II - 6 a, b。

由以上各回收率得知，約都在 80 至 85% 之間。在農藥殘留量檢驗之微量分析算是很理想之分析法。只有 Trichlorfon 可能是因為容易加水分解¹⁹⁾，形成干擾物質其分解速率與溫度成正比的增加。



所以其回收率較低。但在 FPD 測出器上感度好，可以彌補回收率之缺點。

對於上述 7 種農藥之分析方法及其回收率，都經過如下之探討與改進。

Ethyl parathion, 以 10 % ether/petroleum ether 200 ml 淘洗淨化用層析管時, ethyl parathion 會殘留在層析管內不易被淘洗出來。如果改以 15 % ether/petroleum ether 200ml 淘洗 ethyl parathion, 亦只能 40 % 被淘洗出。必須以 300 ml 淘洗液, 始能達到理想的回收率。對於測出器之選擇; 初時以 ECD, 其干擾物使測定工作進行困難, 因此改用 FPD 之 P 測定器測定之。

Malathion, 以 Acetone 淘洗淨化用層析管時, 回收率很高約為 90.4 %。但大量之雜質及色素隨著溶媒下來, 在測定上仍不理想, 因此改用 Chloroform, 則雜質與色素相對減少, 適於分析用。

Diazinon 用 florisil 為吸着劑在淨化用層析管時, 會因用量太多而影響回收率。約為 florisil 5g 回收率 91.6 %, 7 g 為 85 %, 10g 為 81.9% 是值得注意的地方。

Dichlorvos, 抽出前必須先酸化²¹⁾, 否則極不安定使用 florisil 或 Silica gel 層析管時 Dichlorvos 約 80 % 被吸附, 無法淘洗出來, 改用 Carbon mixture²²⁾ 脫色, 加入極少量 Dichlorvos 亦被吸附住極難操作。平均約加 1 g Carbon mixture, 其回收率降低 20 %。

Mevinphos, 以 Chloroform 與檢體同在 Blender 中混碎時溶媒會腐蝕 Blender 之橡皮墊, 因此只能放在塑膠瓶中強力振搖 30 分鐘。粹取液中含大量菜汁與 Chloroform 不易分層, 故要用大量無水硫酸鈉脫水, 對回收率不無影響, 尚須進一步改進。

Kelthane 以 n-hexane 強力振搖萃取。色素、雜質幾乎很少, 因此可算是良好之萃取法, 但需大量無水硫酸鈉脫水。

Trichlorfon, 其萃取過程與 Dichlorvos 大同小異, 惟以 G.C 測定時, 分離管用 3 % SE-30 時 Rt 太接近 Solvent peak, 且回收率受雜質干擾。在使用低溫 (約 140 °C) 測定時又有 2 peaks 出現, 故改用 10 % DEGS, 可獲得理想之結果。

總之以上 7 種農藥在回收實驗中其共同遇到的難題, 可歸類如下:

在淨化過程中, 無法很成功地將色素及雜質完全除去, 尤其在以 florisil Column 淨化時, 有一部份農藥往往會被吸附, 無法用 ether/petroleum ether 或 n-hexane 淘洗。應特別注意各種農藥之溶解度。改用 Acetone 及 Chloroform 比較理想, 但是蔬菜中的色素, 會跟著淘洗液溶出, 對淨化的效果較差。在以氣相層析儀測定時, 會受到干擾, 針對此一缺點, 除 Kelthane 外都採用 FPD-P 測出器來測定。可解決含磷物質以外的干擾。但因檢液淨化的不完全, Column 的損耗極大。

本局對生物測定上的追究, 為的是比較分析田間至市場間, 農業機關所使用之生物檢定法, 與市場到消費者間, 衛生機關所採用之理化測定法之缺點, 從而擬出彌補彼此間缺點之方法, 增強全國農藥殘留量監視網之

高度功效。

由上各項總結, 生物測定法確不是最理想單獨檢定農藥殘留量之分析法。但在產地、集貨場、教育農民來說, 不愧為一迅速簡單的方法, 來測定蔬菜是否含有毒物, 至於為何種農藥, 則可查訪, 由來源農戶獲得說明。理化測定法, 可說是最準確而理想之農藥殘留量定性、定量手段。但是對於是否含有農藥殘留, 則非經冗長之分析過程, ——加以分析鑑定, 無法決定該檢體有無毒害, 加上農藥本身各具特性, 往往因分析方法適於甲而遺漏乙是一缺點, 因此如能將生物與理化分析法互相配合, 當然生物測定法也要加以改進, 則可將檢體先行篩選, 再做理化分析, 如表 III。這樣必能有有效的測到殘留農藥檢體及鑑定何種農藥。大量的人力、物力, 及試藥可省下, 實為一最理想之分析法。本局目前正朝這方向進行研究開發中。

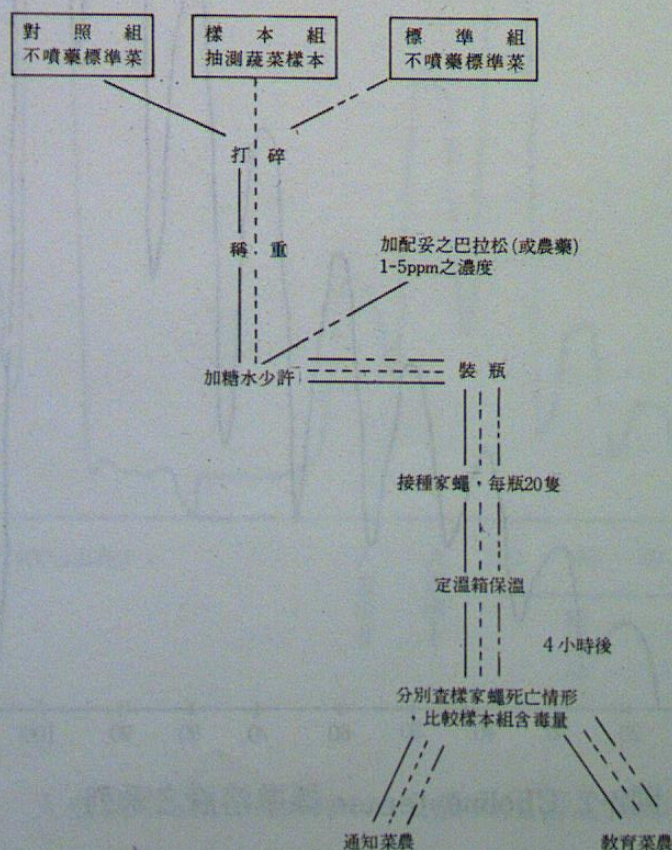
表 III 生物檢定與理化測定法之綜合比較表

生 物 檢 定 法	理 化 測 定 法
1 間接以家蠅之死亡率高 低測定含量。	直接以高敏感度測出器定 性定量。
2 實驗用生物個體受先天 及外界條件影響分析結 果變化大。	回收率影響結果, 變化小 。
3 生物測定迅速但分析結 果粗略。	手續繁雜, 使用多種試藥 , 分析時間長, 但分析結 果極為準確。
4 設備簡單, 費用低。	設備精細, 費用昂貴。
5 技術、經驗要求少。	技術、經驗要求嚴。
6 以毒性反應農藥之存在 , 固測試範圍廣, 一般 磷及甲基胺劑都適合。	對農藥之測試範圍, 受當 時使用之儀器條件限制。 多種農藥因條件不適, 無 反應而在分析上有漏失之 慮。
7 以乙基巴拉松反應檢量 線來衡量所有其他農藥 含量。	各自以標準品衡量之。
8 可攜帶至現場檢驗。	限固定之實驗室操作。
9 一天之分析檢體數量大 。	一天分析檢體數量有限。
10. 可做為理化分析之篩選 試驗。	經篩選後的檢體再配合理 化分析時, 可減輕物質與 時間之負擔。

參考文獻

1. 台灣省政府，農林廳編印，農藥登記一覽表（1972）
2. 台灣省政府，農林廳編印，許可登記農藥成份使用方法及使用範圍一覽表（1979）
3. Metcalf, R.L. *physiol*, Rev, 35, 197 (1955)
4. Metcalf, R.L. *Bull, Entomol, SOS. Am*, 5, 3 (1959)
5. Casida, J. E., *J. Agr, Food Chem.* 4, 772 (1956)
6. O'Brien, R.D. *Toxic phosphorus Esters* (Acad press. N.Y.) (1960)
7. Spencer, E.Y. and O'Brien, R.D. *Ann, Rev, Entomol*, 2, 261 (1957)
8. 台灣省農業試驗所資料，蔬菜農藥殘量生物測定法（1980）
9. 古德業，台灣植物保護中心資料，農藥毒性及昆蟲抗藥性之概念與測定法（1978）
10. Gunter Zweig, *Analytical Methods for Pesticides Plant Growth Regulators and Food Additives* VI 191 (1977)
11. Gunter Zweig, *Analytical Methods for Pesticides Plant Growth Regulators and Food Additives* VI 43, 49 (1977)
12. Nelson, R.C., *J. A.O.A.C.* 47, 289 (1964)
13. Giuffrida, L., *J. A.O.A.C.* 47, 293 (1964)
14. Gunter Zweig, *Analytical Methods for Pesticides Plant Growth Regulators and Food Additives* VI 47 (1977)
15. 鈴木照磨（監），農藥公定檢查法註解（南江堂）（1980）
16. Gunter Zweig, *Analytical Methods for Pesticides Plant Growth Regulators and Food Additives* VI, 453 (1977)
17. Gunter Zweig, *Analytical Methods for Pesticides Plant Growth Regulators and Food Additives* VI, 22, 342 (1977)
18. Gunter Zweig, *Analytical Methods for Pesticides Plant Growth Regulators and Food Additives* II, 199~208 (1964)
19. 林晃央，加納六郎，家庭用殺蟲劑學概論 35 (1973)
20. 台灣省政府衛生處編印，食品衛生管理法令彙編。
21. 武藤聰雄著，農藥概說（技報堂）741 (1970)
22. Metcalf, R.L, Fukuto, T.R, and March, R.B., *ibid.*, 52, 44 (1959)
23. 日本藥學會編，衛生試驗法注解，326 (1965)

本省蔬菜農藥殘量生物測定過程表



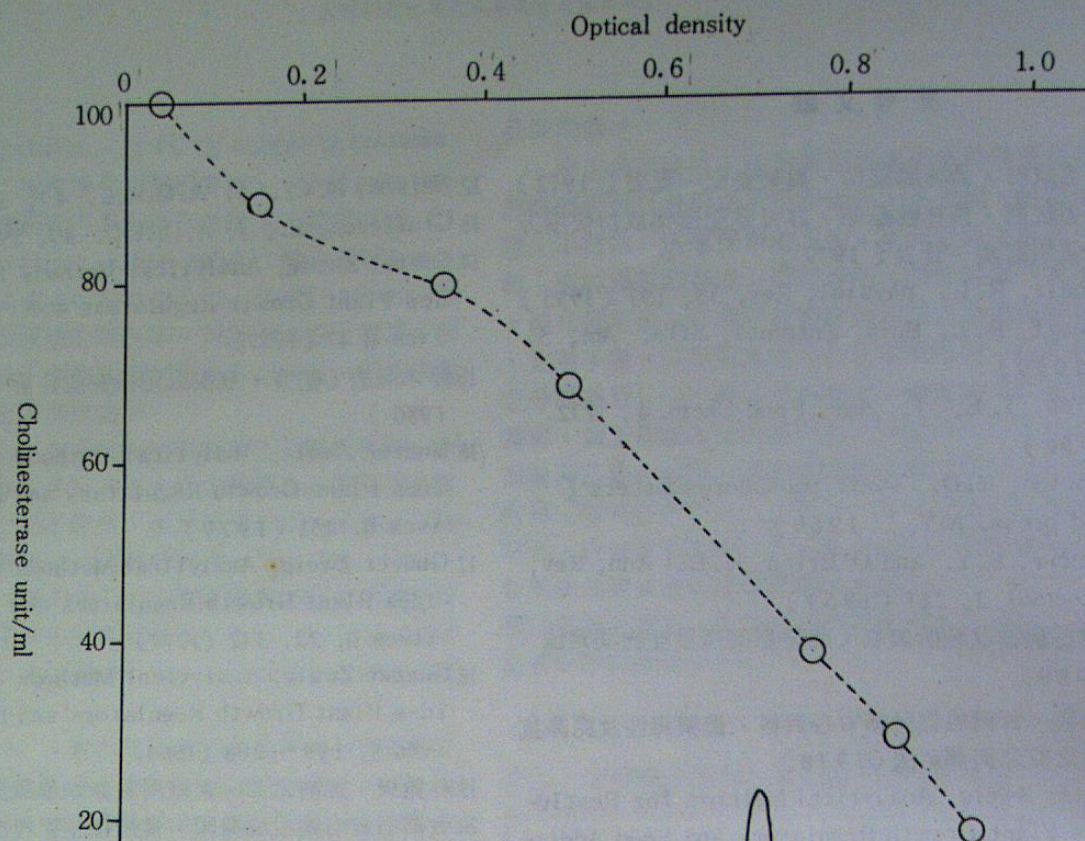


圖2-1 Cholinesterase 之標準曲線

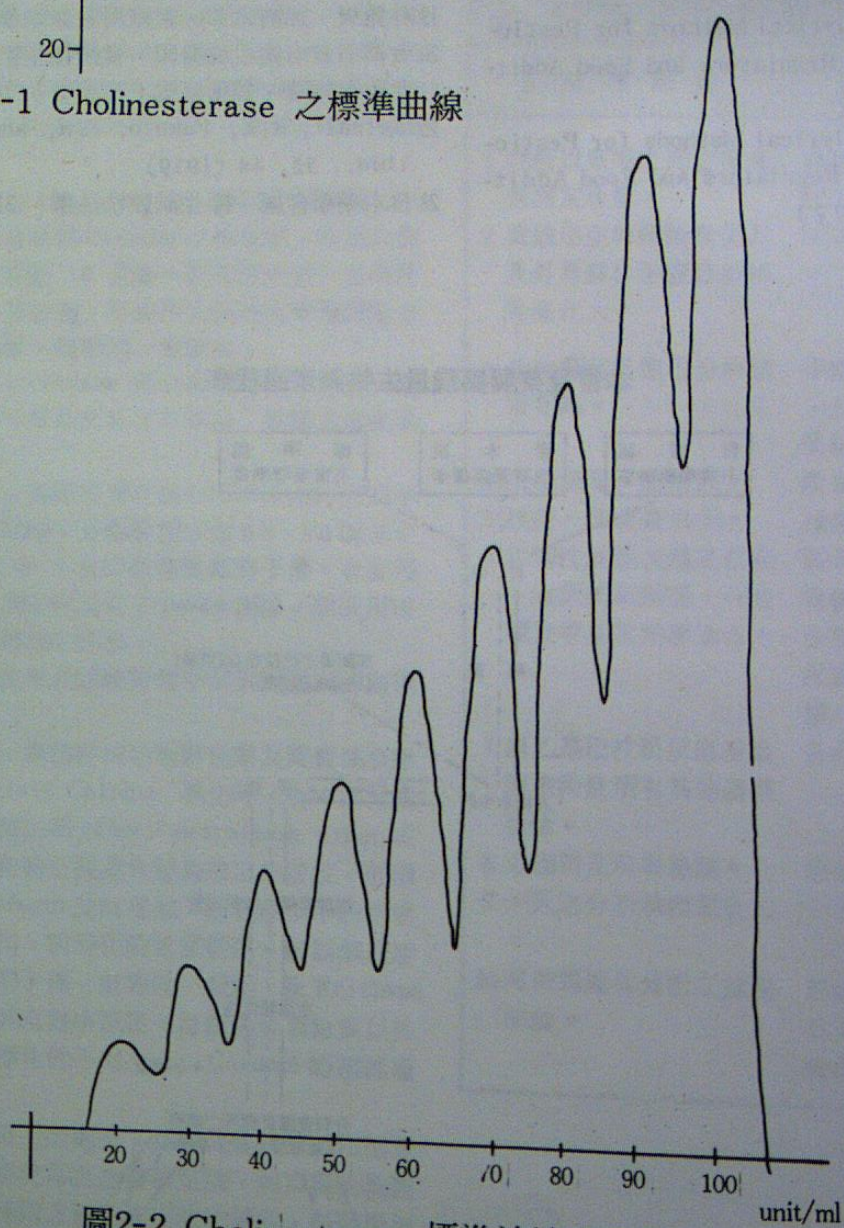


圖2-2 Cholinesterase 標準溶液之系列

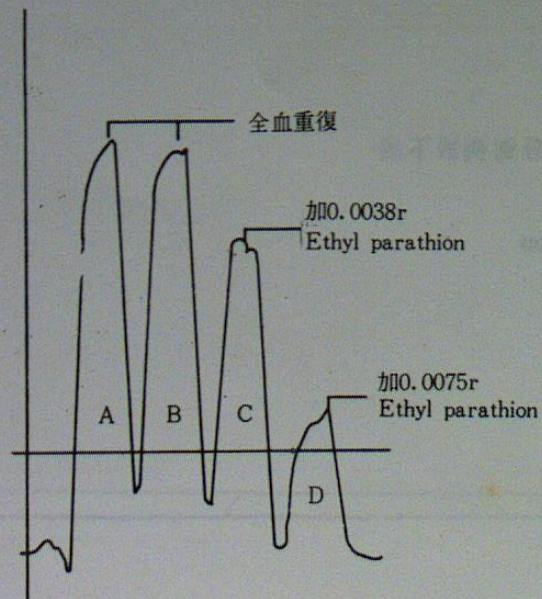


圖3 兔血中 AChE 之阻害情形

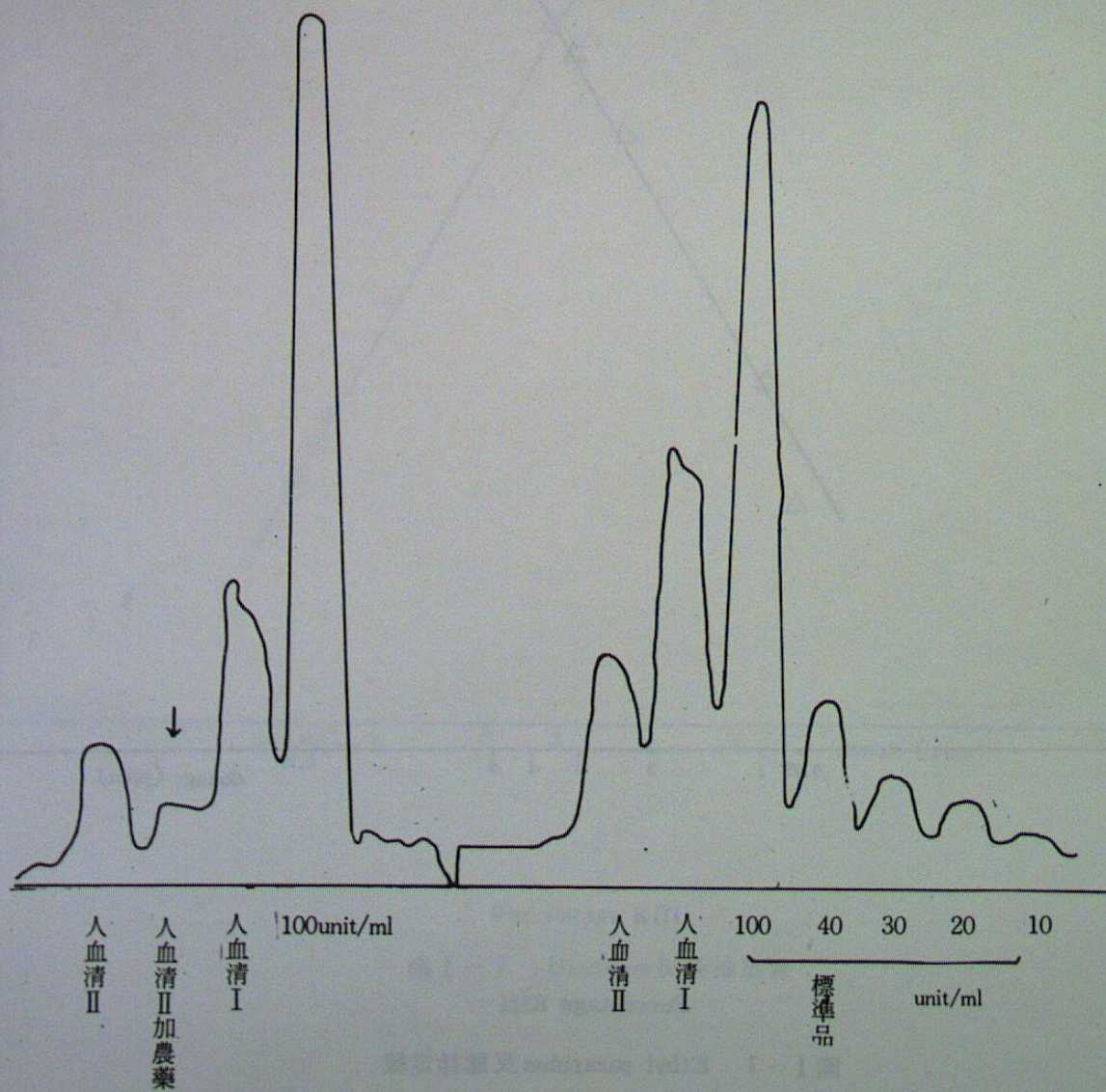
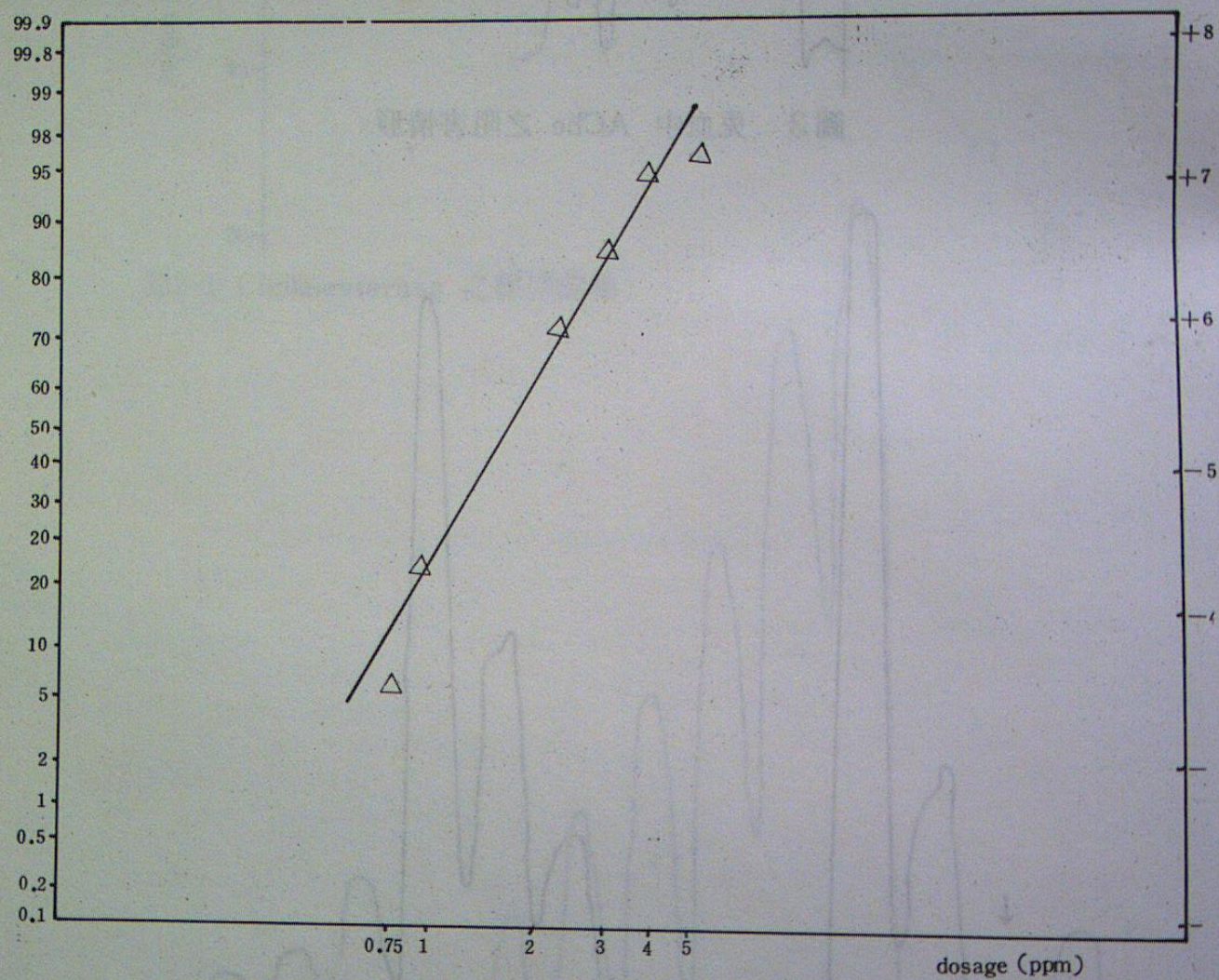


圖4 人血清中Cholinesterase 受農藥阻害之情形

各種農藥之反應檢定線分別例於下表

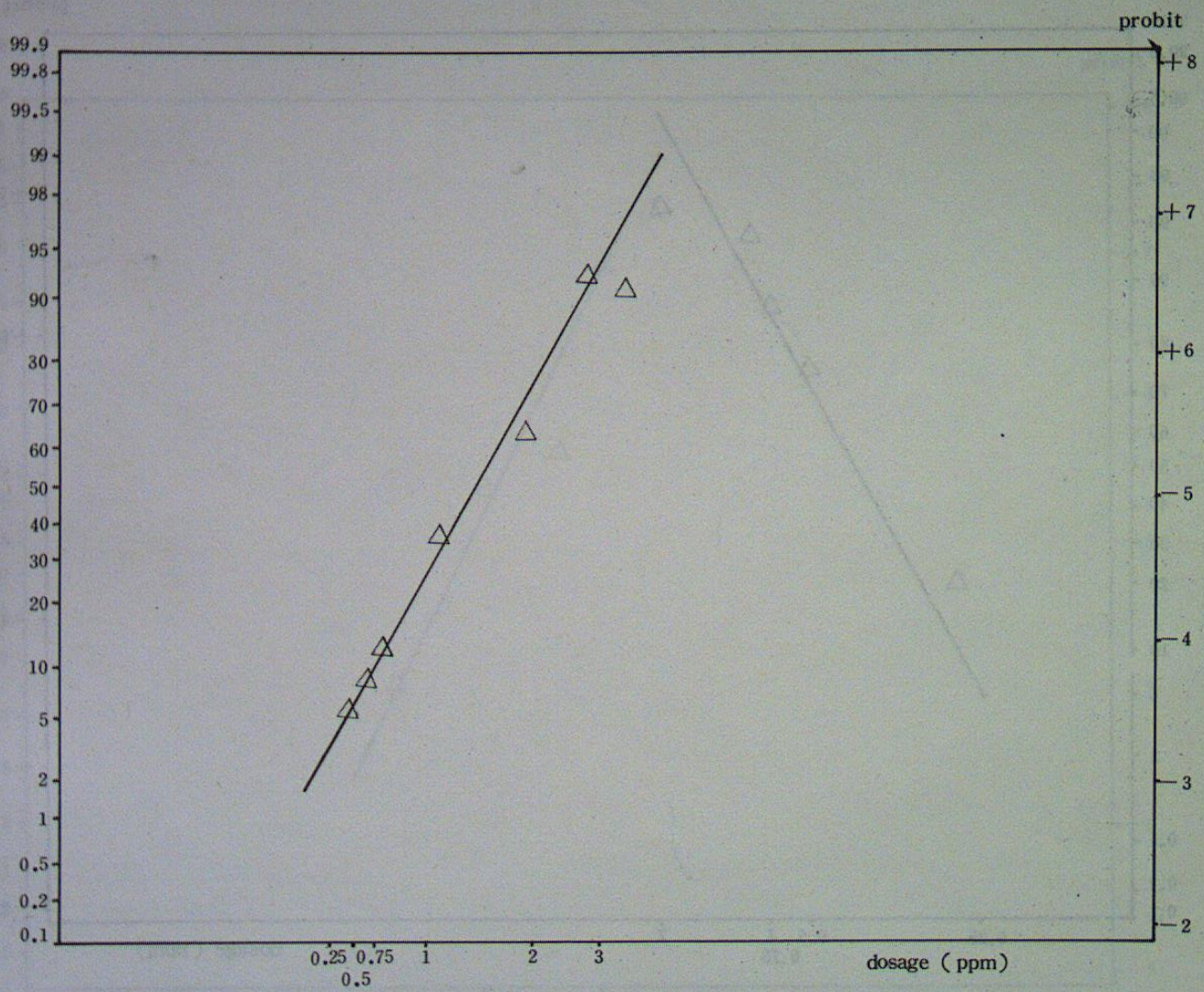
I-1 Ethyl parathion



Percentage Kill

圖 I-1 Ethyl parathion 反應檢定線

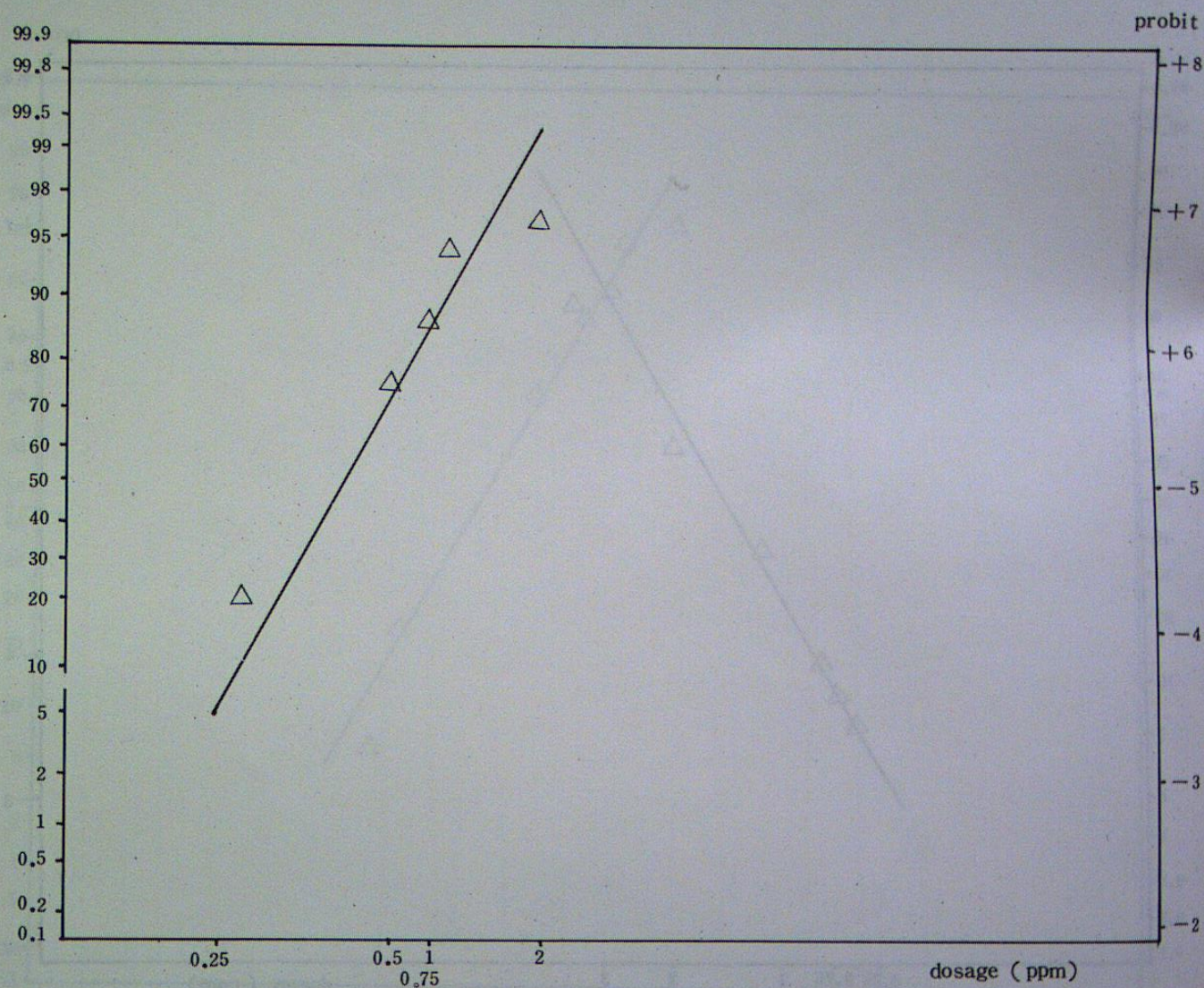
I - 2 Diazinon



Percentage Kill

圖 I - 2 Diazinon反應檢定線

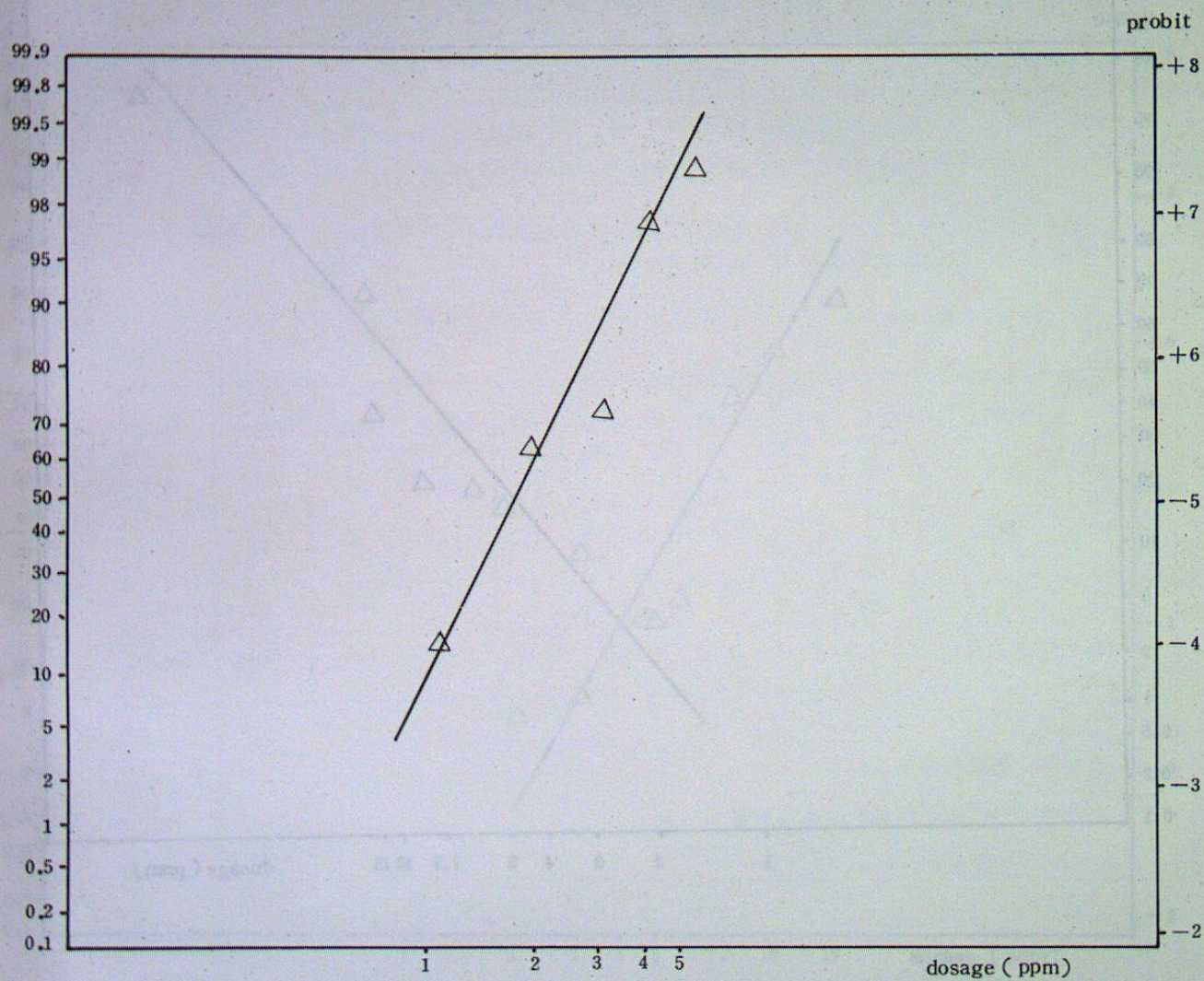
I - 3 Dichlorvos



Percentage Kill

圖 I - 3 Dichlorvos 反應檢定線

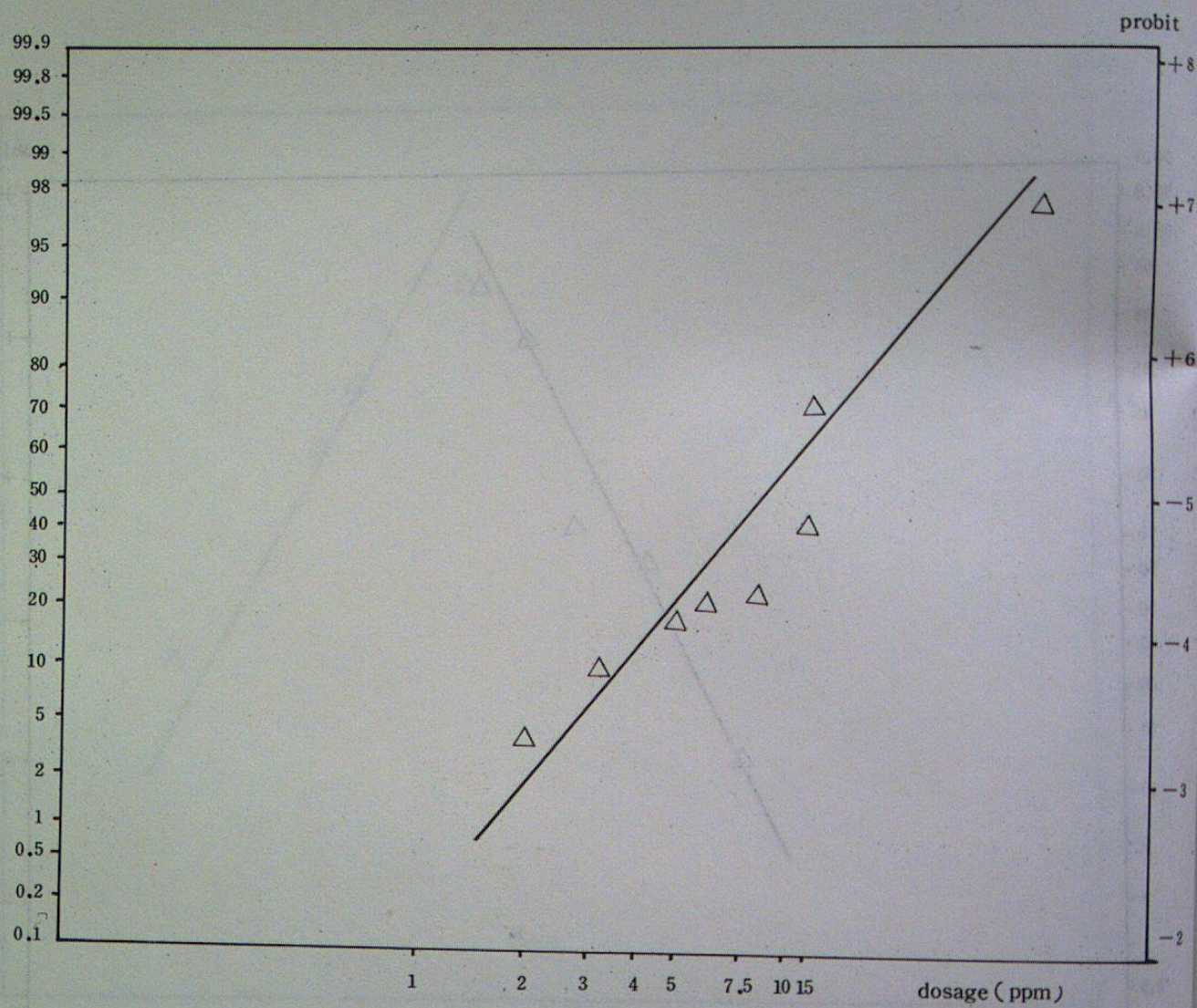
I - 4 Trichlorfon



Percentage Kill

圖 I - 4 Trichlorfon 反應檢定線

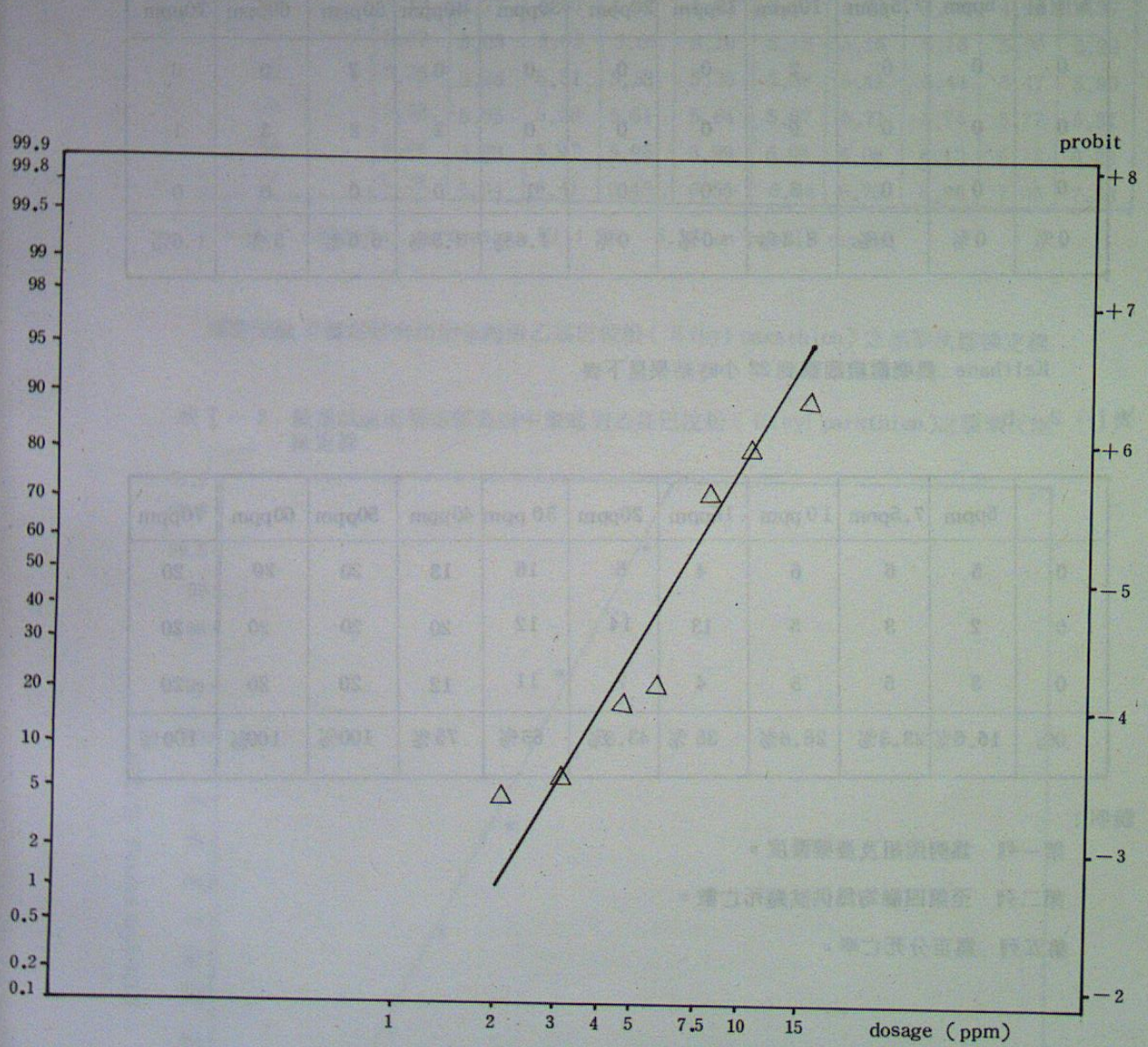
I - 5 Malathion



Percentage Kill

圖 I - 5 Malathion 反應檢定線

I - 6 Mevinphos



Percentage Kill

圖 I - 6 Mevinphos 反應檢定線

I ~ 7 : Kelthane

Kelthane 農藥採用餵食法經過 4 小時觀察結果見下表：

表 I - 2 - a

對照組	5ppm	7.5ppm	10ppm	15ppm	20ppm	30ppm	40ppm	50ppm	60ppm	70ppm
0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0
0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1
0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0
0%	0%	0%	8.3%	0%	0%	1.6%	3.3%	6.6%	5%	1.6%

Kelthane 農藥繼續觀察到 22 小時結果見下表

表 I - 2 - b

	5ppm	7.5ppm	10 ppm	15ppm	20ppm	30 ppm	40ppm	50ppm	60ppm	70ppm
0	5	6	6	4	5	16	13	20	20	20
0	2	3	5	13	14	12	20	20	20	20
0	3	5	5	4	7	11	12	20	20	20
0%	16.6%	23.3%	26.6%	35%	43.3%	65%	75%	100%	100%	100%

說明：

第一列 為對照組及農藥濃度。

第二列 至第四欄均為供試蠅死亡數。

第五列 為百分死亡率。

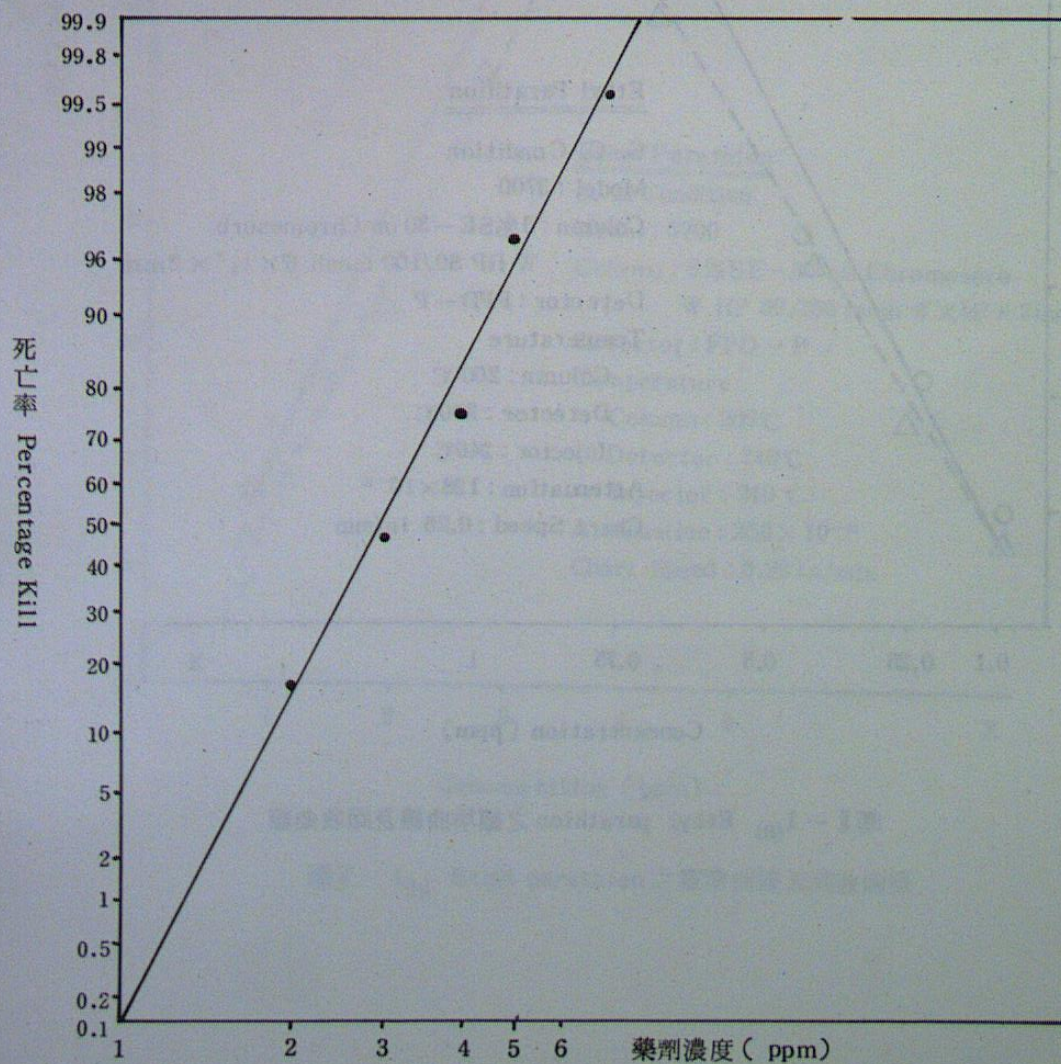
表 I - 1 百分死亡率 (Percentage Kill) 與機質之換算

Percentage Kill	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

Note: For example, percentage Kill 55 5.13 on probit scale.

農業試驗所製定餵食法中家蠅對乙基巴拉松 (Ethyl parathion) 之標準反應檢定線

表 I - 3 農業試驗所製定餵食法中家蠅對乙基巴拉松 (Ethyl parathion) 之標準反應檢定線



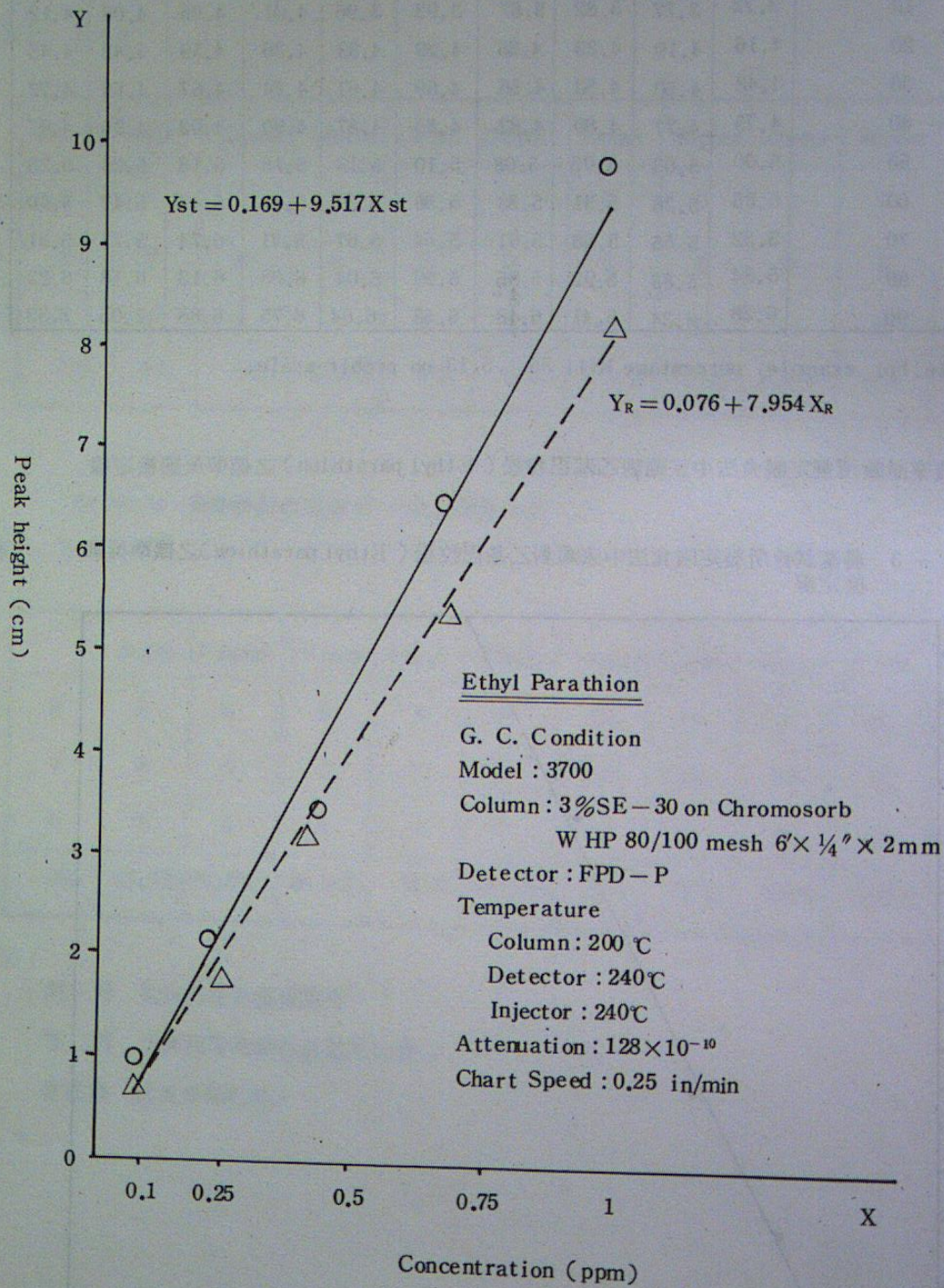


圖 II-1(a) Ethyl parathion 之標準曲線及回收曲線

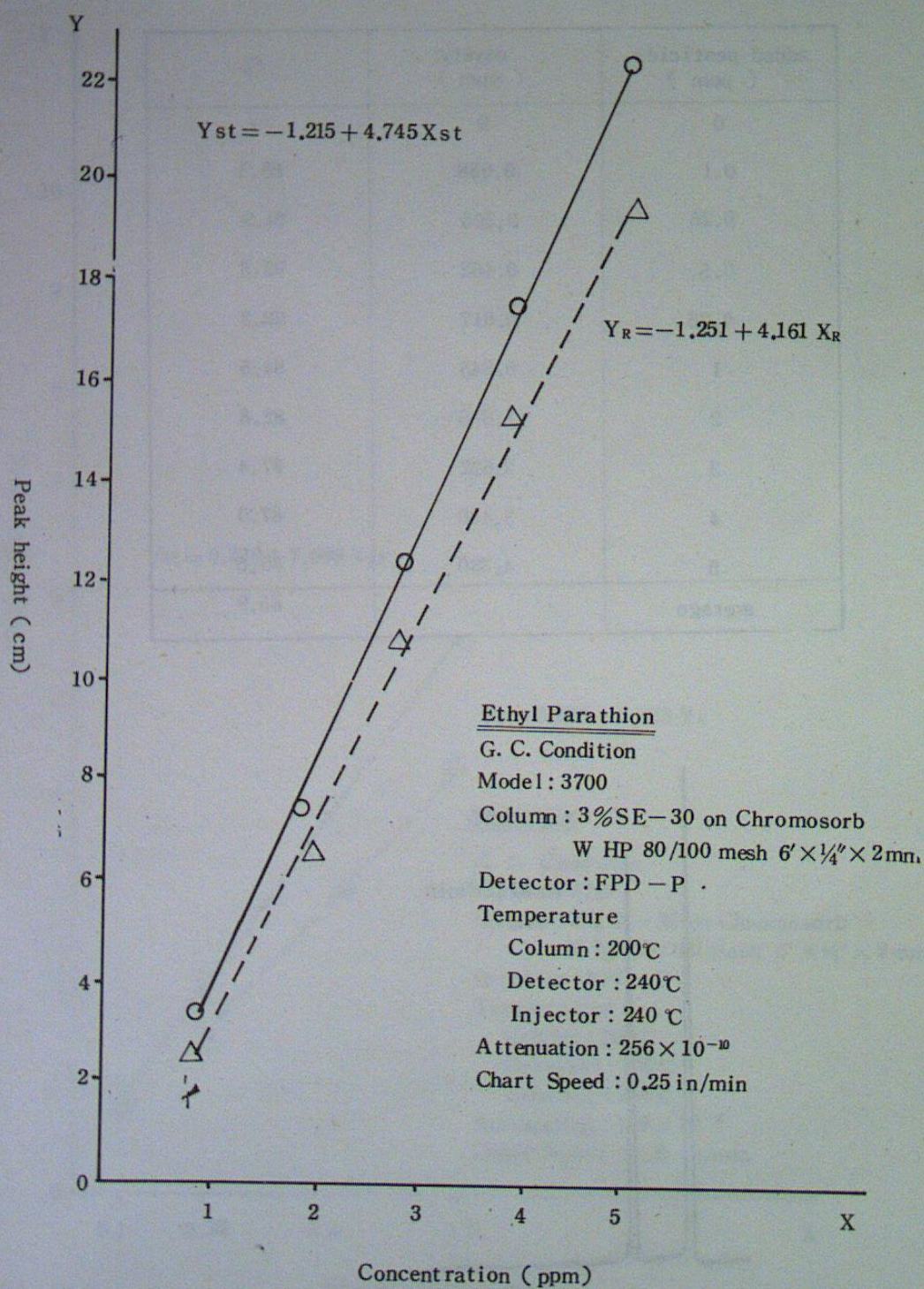
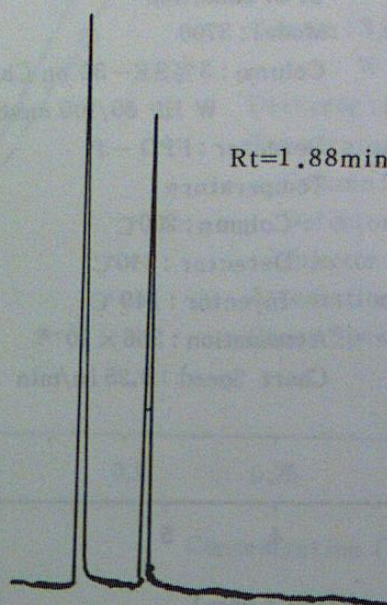
圖 II - 1_(b) Ethyl parathion 之標準曲線及回收曲線

表 II - 1 Ethyl Parathion 之回收率

added pesticide (ppm)	recovery (ppm)	%
0	0	-
0.1	0.088	88.1
0.25	0.205	81.9
0.5	0.462	92.3
0.75	0.617	82.3
1	0.845	84.5
2	1.656	82.8
3	2.622	87.4
4	3.480	87.0
5	4.330	86.6
average		85.9



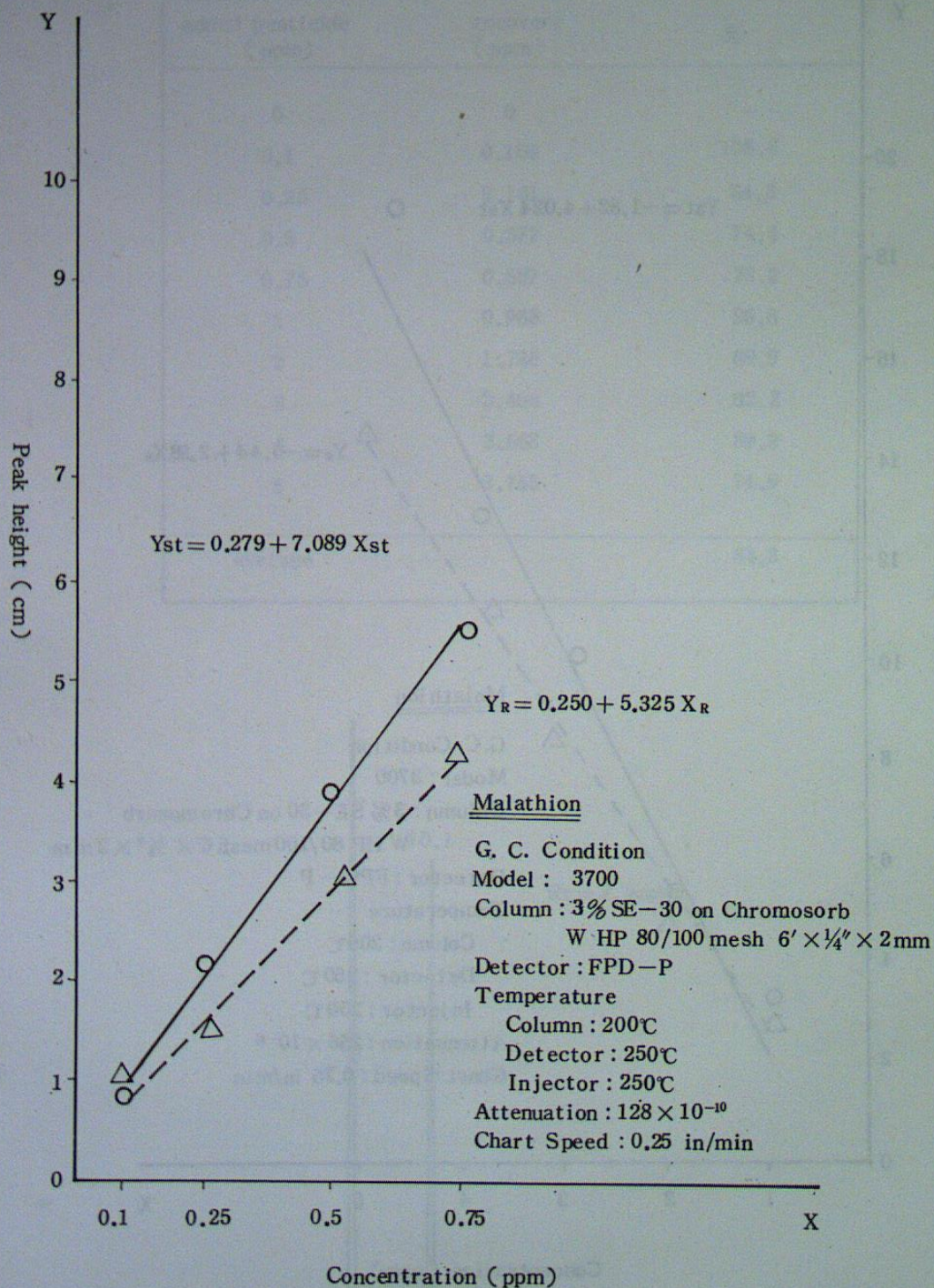


圖 II - 2(a) Malathion之標準曲線及回收曲線

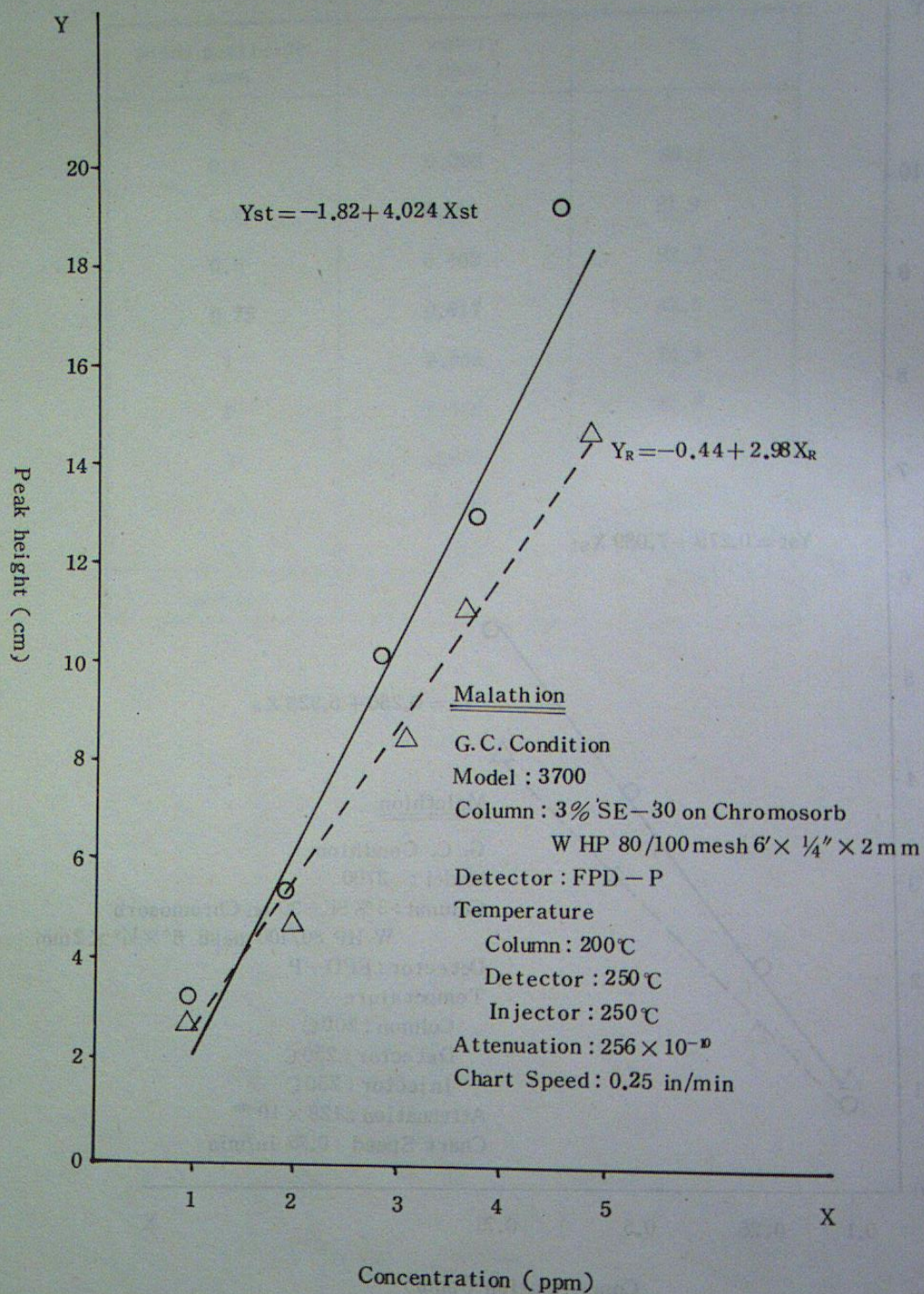
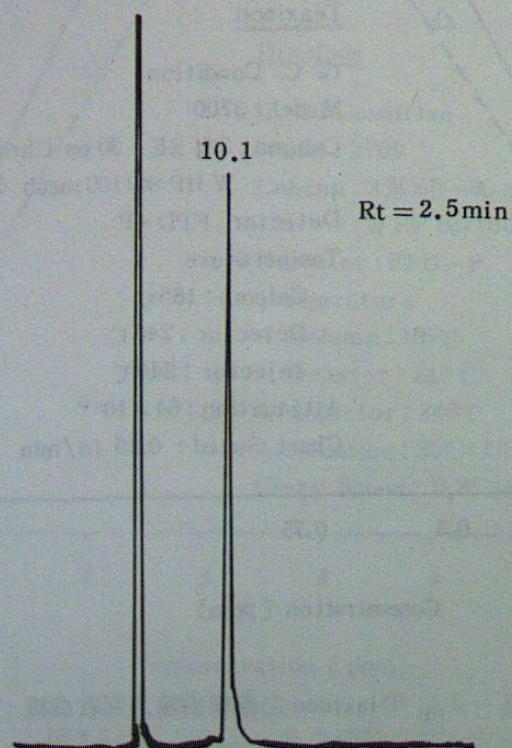


圖 II - 2 (b) Malathion 之標準曲線及回收曲線

表 II - 2 Malathion 之回收率

added pesticide (ppm)	recovery (ppm)	%
0	0	—
0.1	0.109	108.6
0.25	0.161	64.3
0.5	0.372	74.4
0.75	0.587	78.2
1	0.968	96.8
2	1.798	89.9
3	2.466	82.2
4	3.568	89.2
5	3.745	74.9
average		84.3



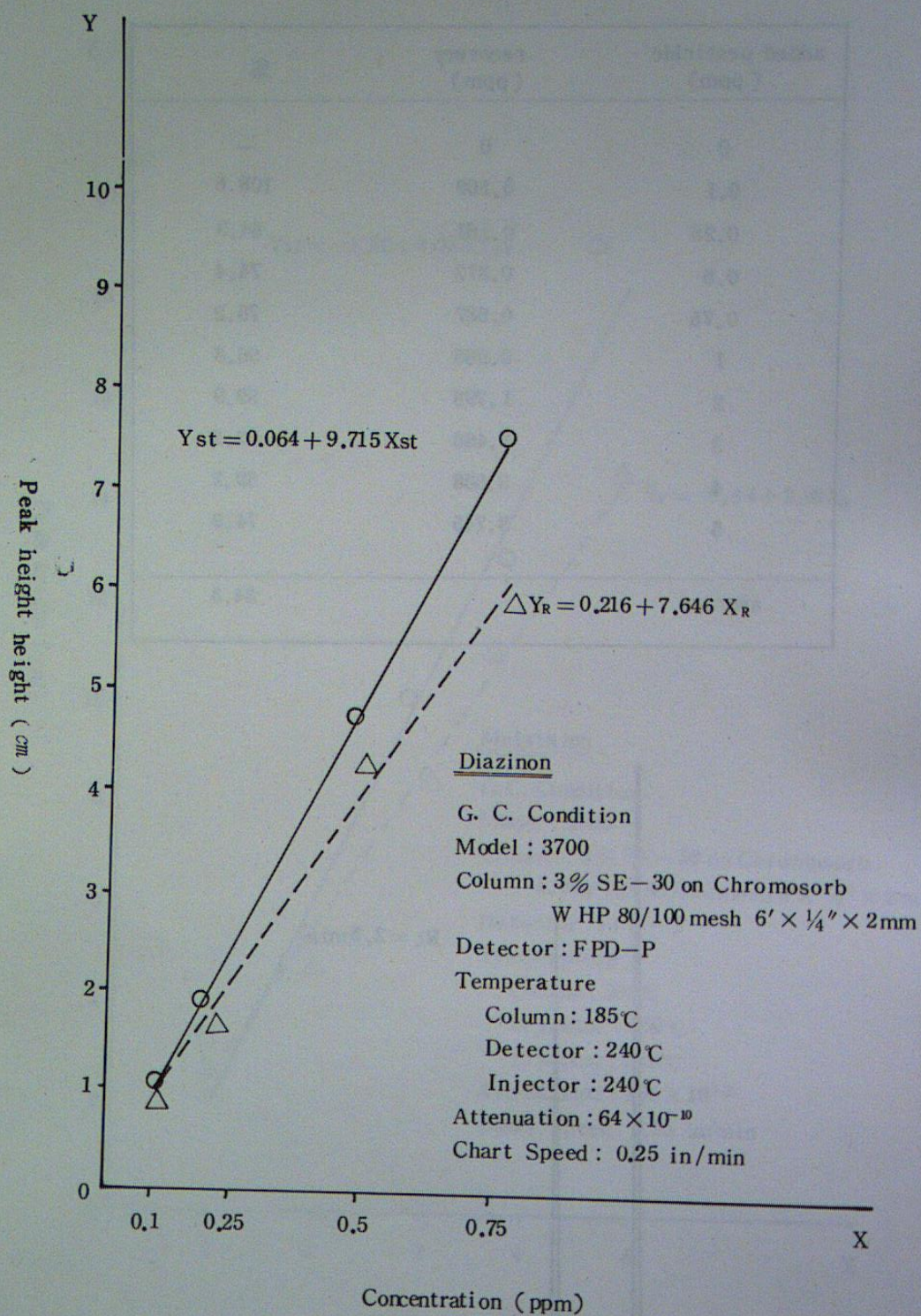


圖 II-3 (a) Diazinon 之標準曲線及回收曲線

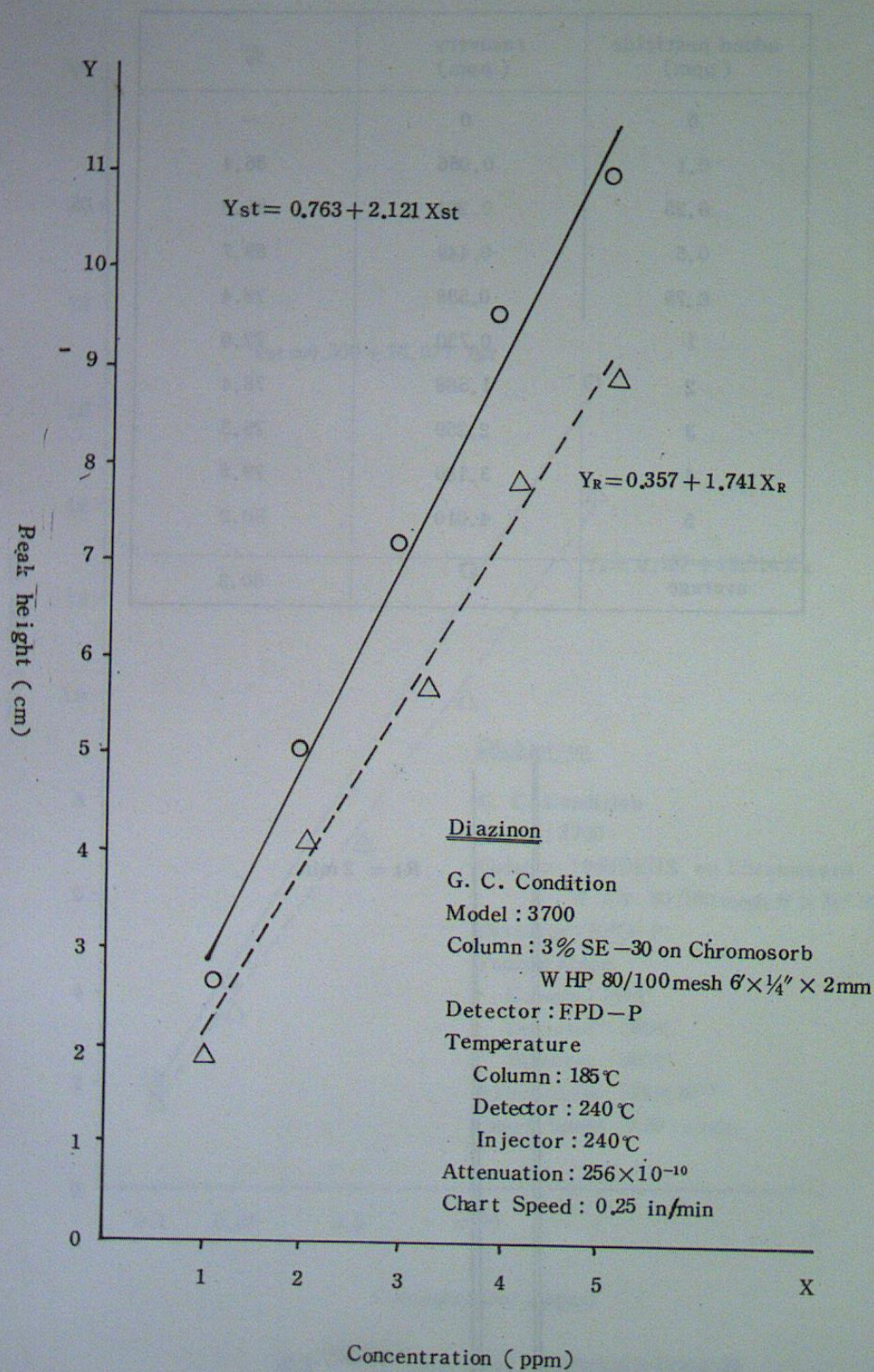
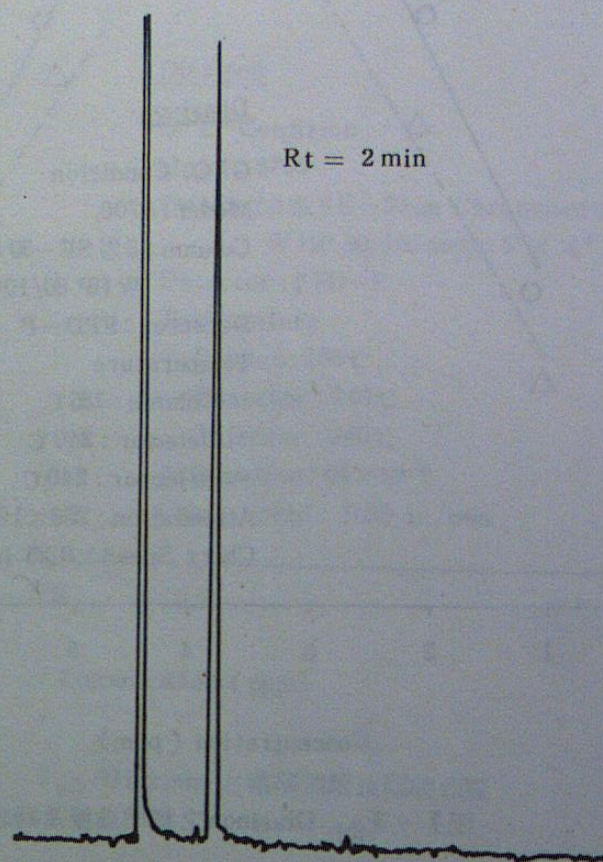


圖 II - 3 (b) Diazinon 之標準曲線及回收曲線

表 II - 3 Diazinon 之回收率

added pesticide (ppm)	recovery (ppm)	%
0	0	—
0.1	0.086	86.4
0.25	0.204	81.6
0.5	0.449	89.7
0.75	0.588	78.4
1	0.730	73.0
2	1.568	78.4
3	2.259	75.3
4	3.180	79.5
5	4.010	80.2
average		80.3



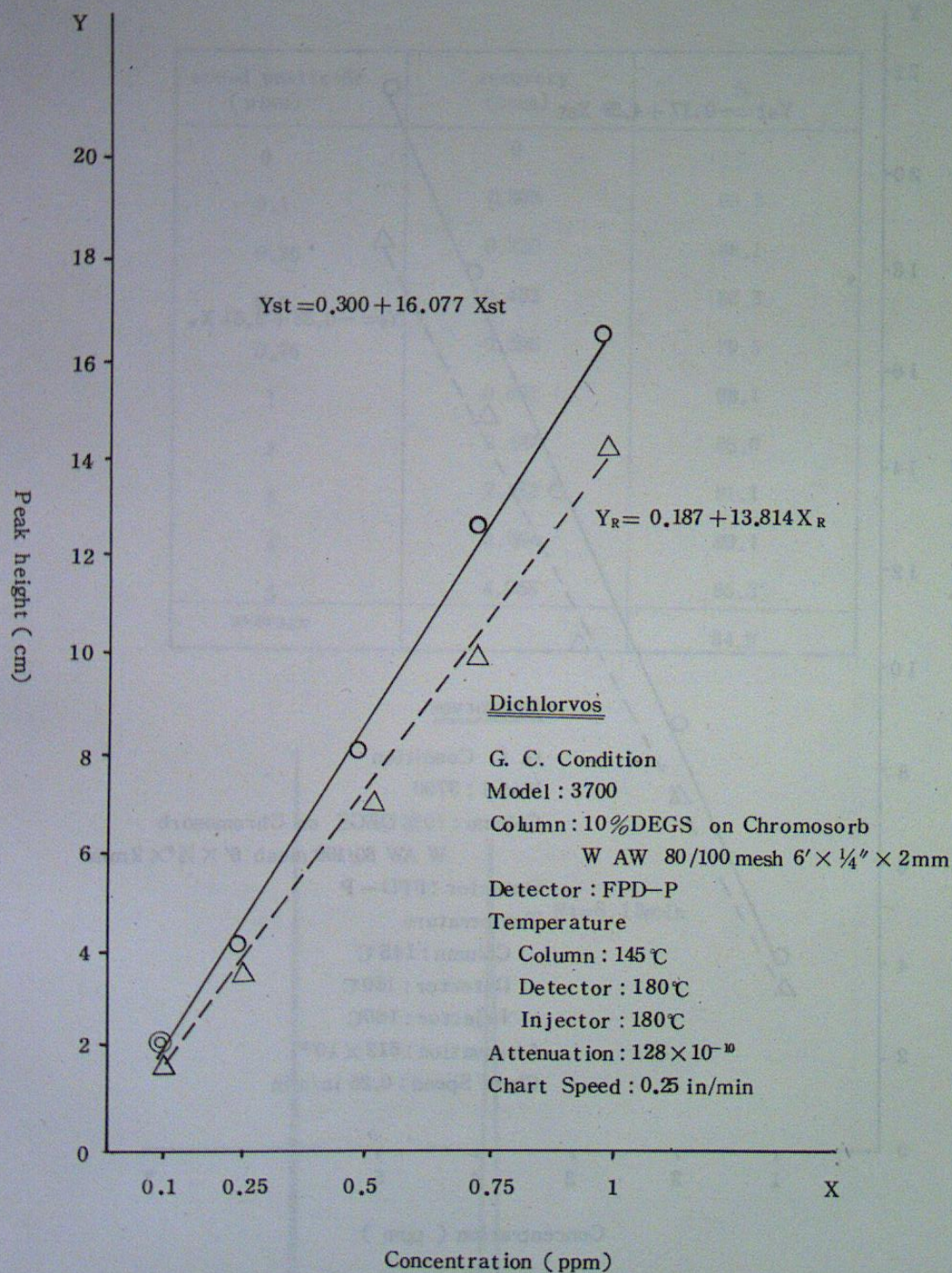


圖 II - 4 (a) Dichlorvos 之標準曲線及回收曲線

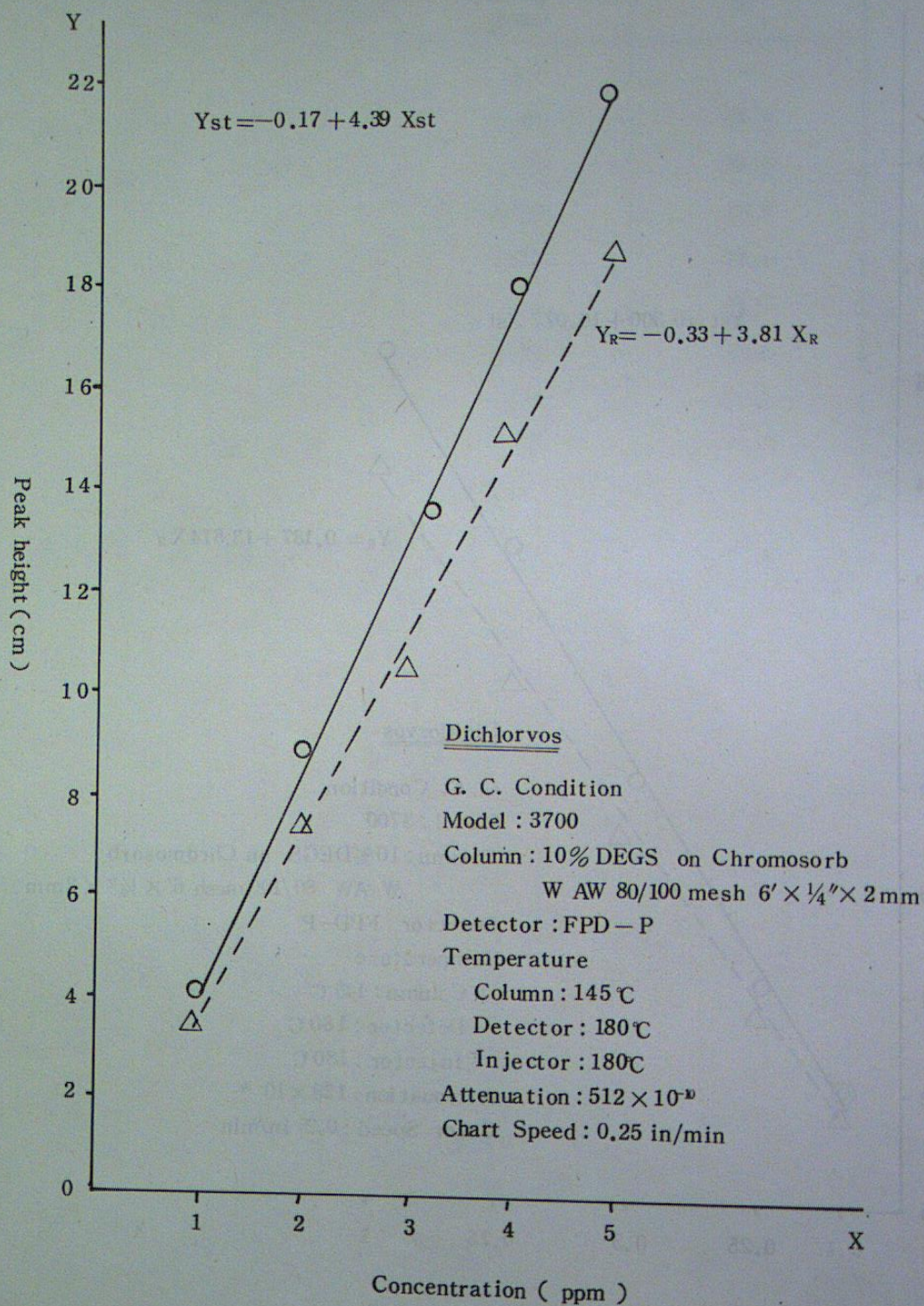
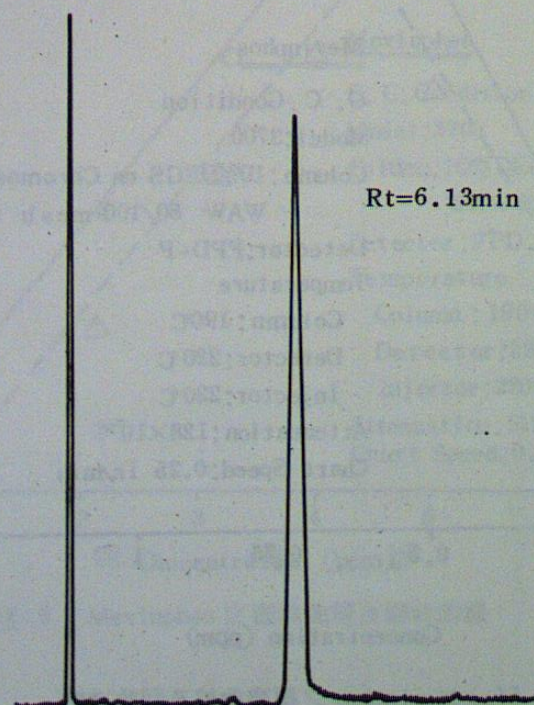


圖 II - 4 (b) Dichlorvos 之標準曲線及回收曲線

表 I - 4 Dichlorvos 之回收率

added pesticide (ppm)	recovery (ppm)	%
0	0	-
0.1	0.083	83.3
0.25	0.220	88.1
0.5	0.432	86.3
0.75	0.596	79.5
1	0.881	88.1
2	1.660	83.0
3	2.433	81.1
4	3.564	89.1
5	4.265	85.3
average		84.9



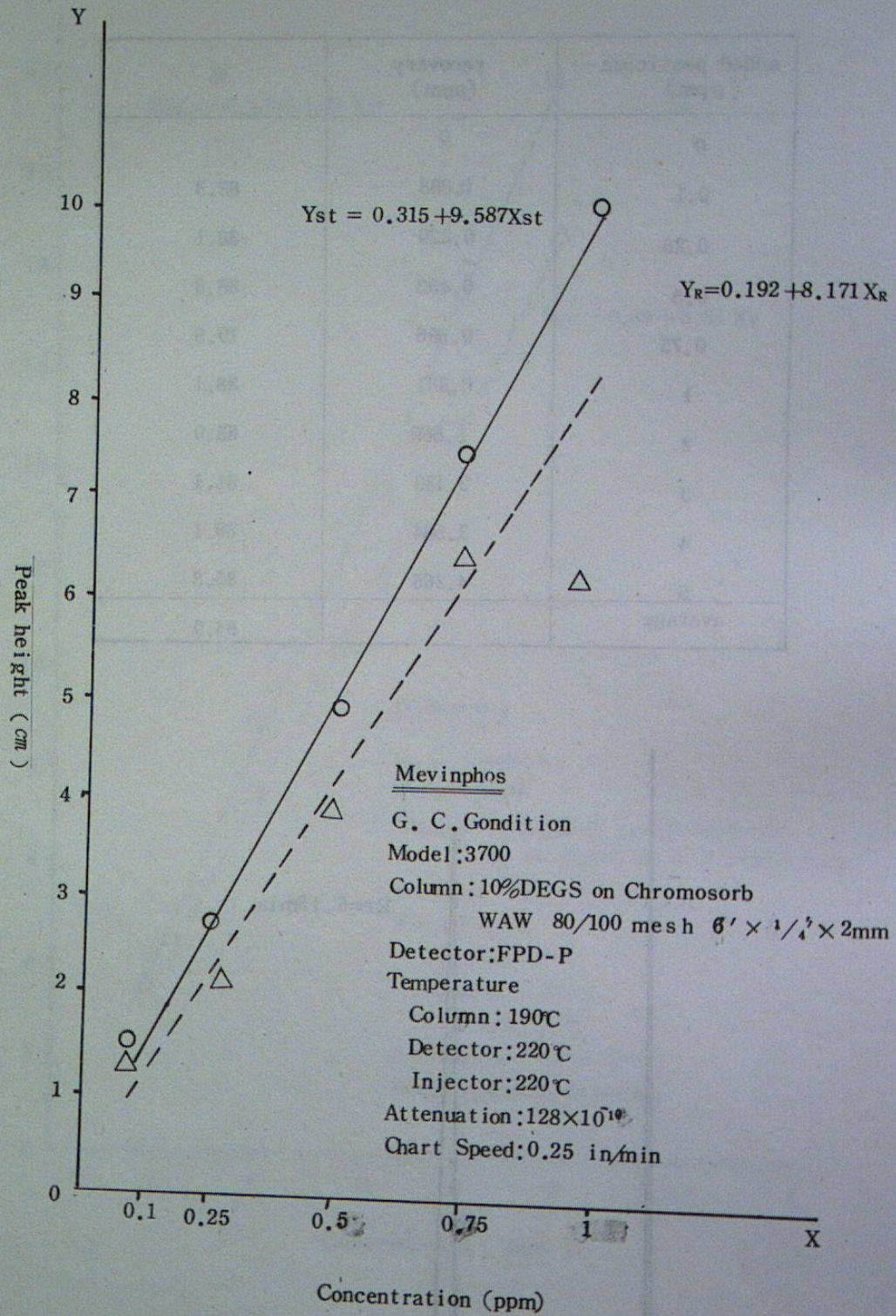


圖 I-5(a) Mevinphos 之標準曲線及回收曲線

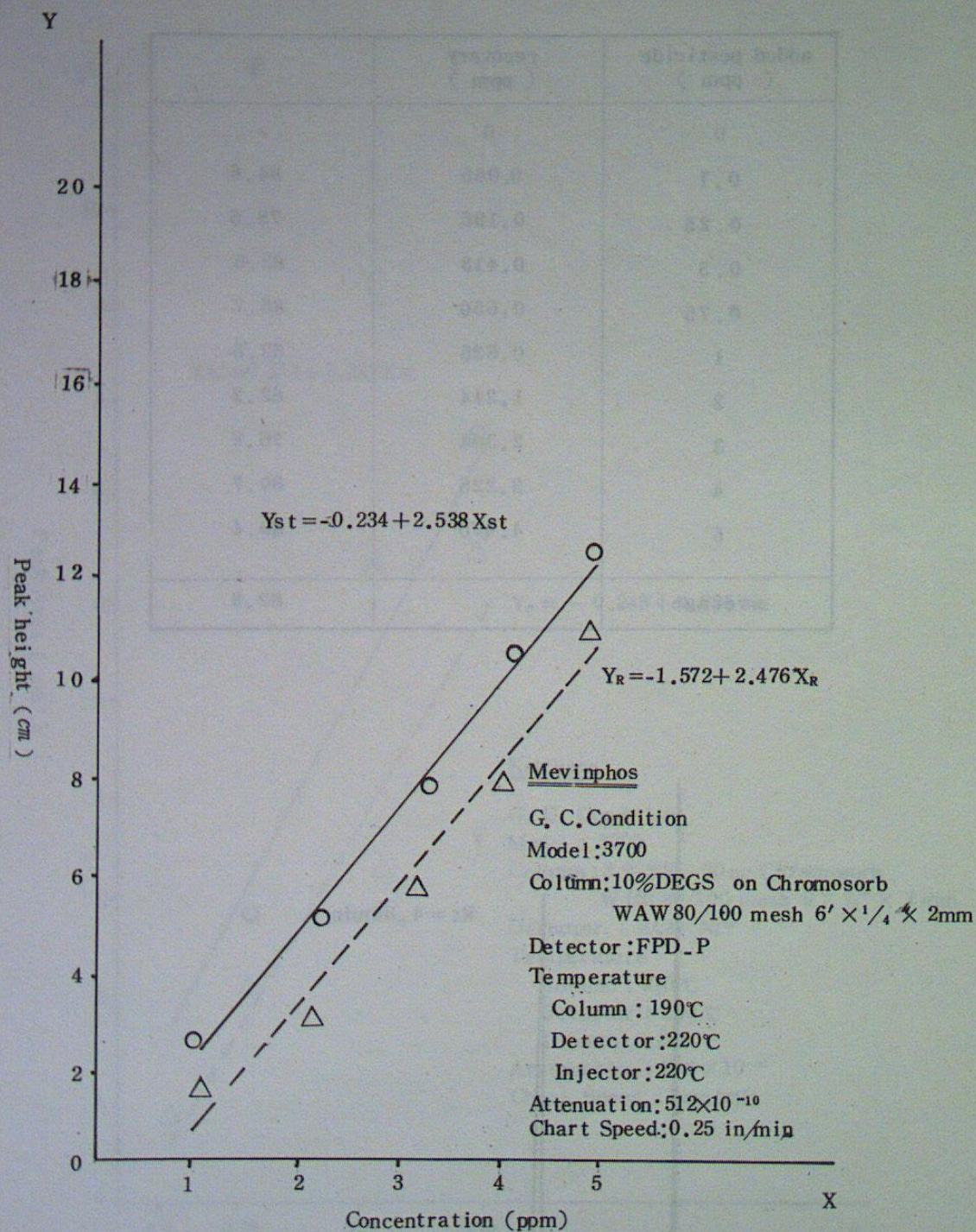
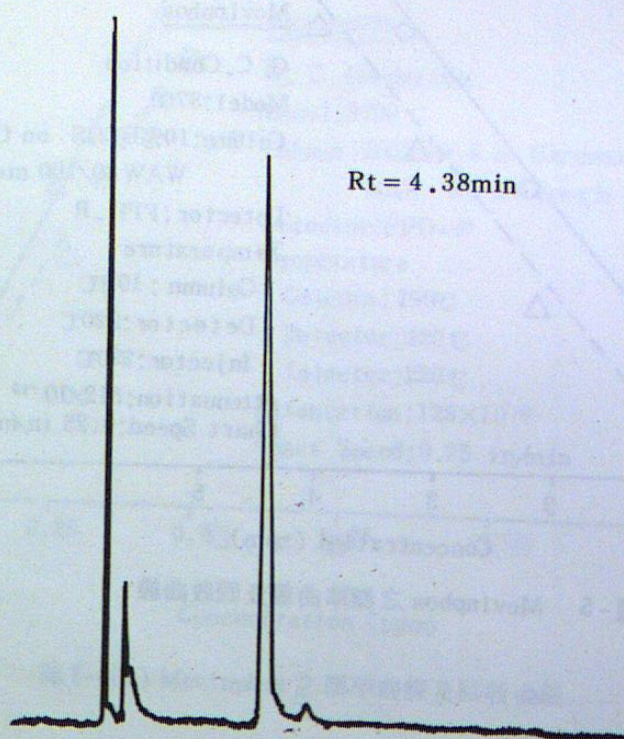


圖 II-5 Mevinphos 之標準曲線及回收曲線

表 II - 5 Mevinphos 之回收率

added pesticide (ppm)	recovery (ppm)	%
0	0	-
0.1	0.085	84.6
0.25	0.196	78.5
0.5	0.413	82.6
0.75	0.650	86.7
1	0.625	62.5
2	1.244	62.2
3	2.304	76.8
4	3.228	80.7
5	4.470	89.4
average		82.8



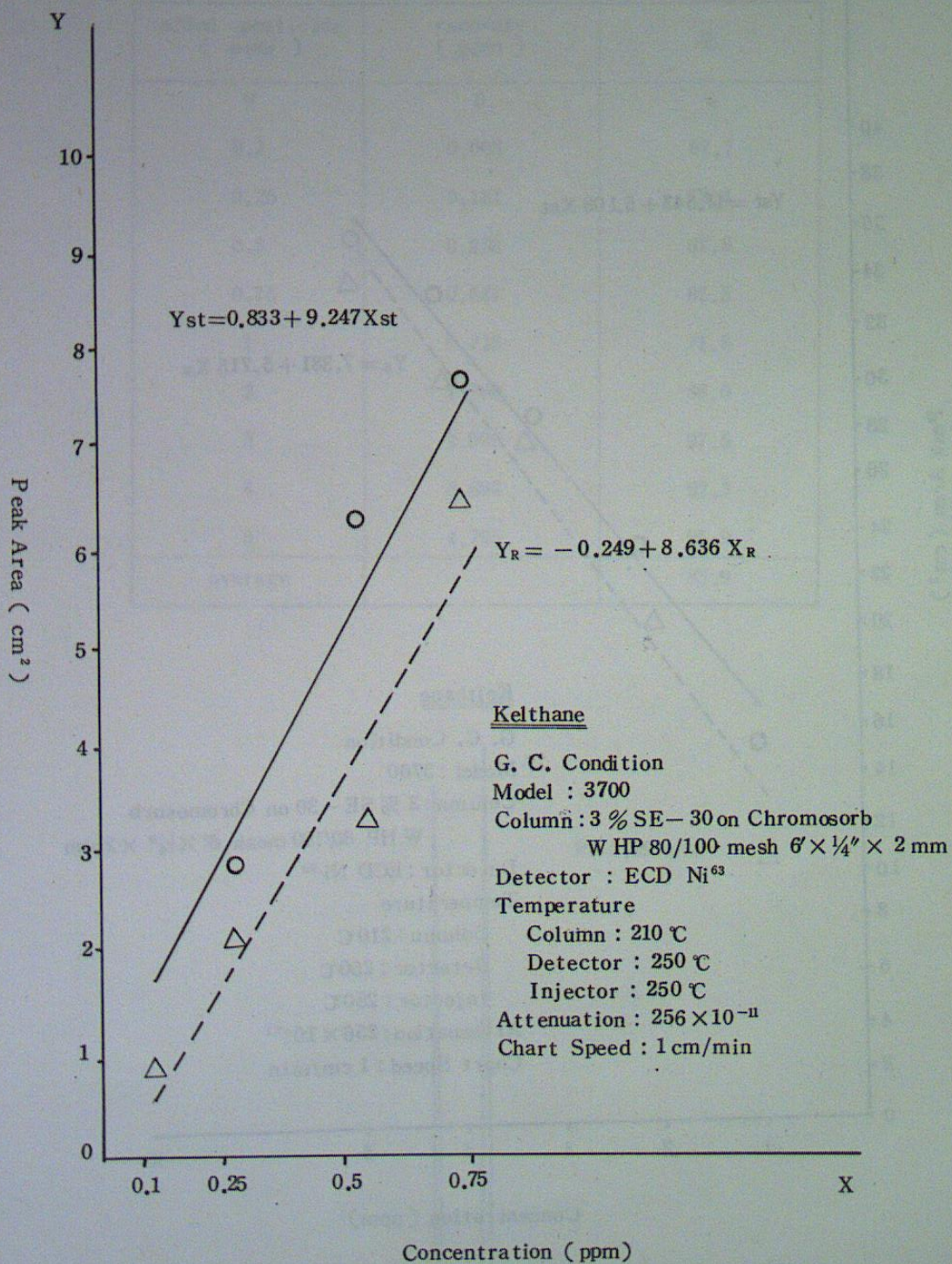


圖 II - 6(a) Kelthane 之標準曲線及回收曲線

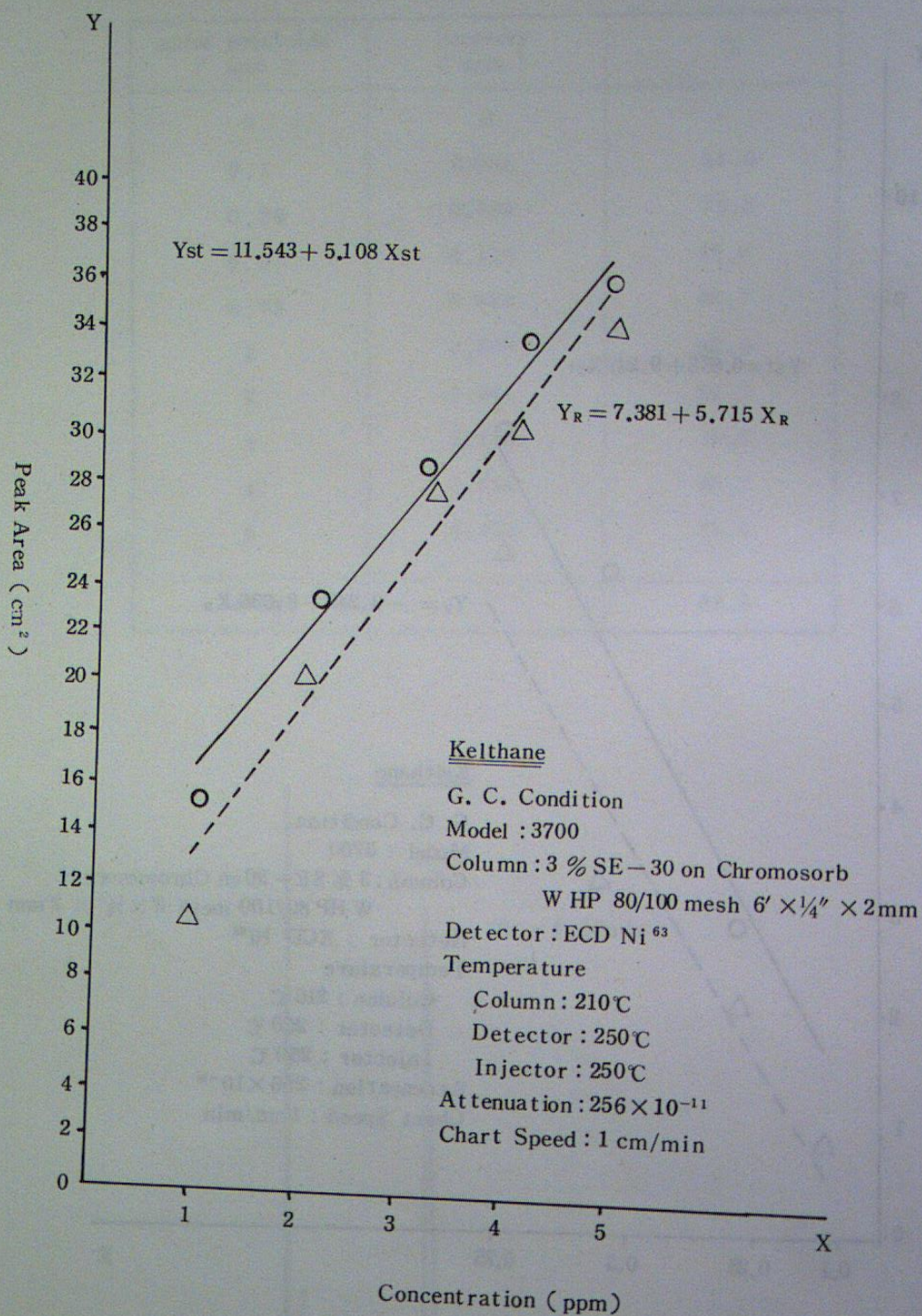
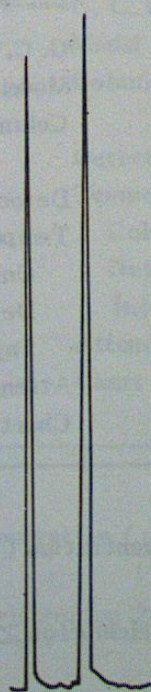


圖 II - 6(b) Kelthane 之標準曲線及回收曲線

表Ⅱ - 6 Kelthane 之回收率

added pesticide (ppm)	recovery (ppm)	%
0	0	-
0.1	0.068	67.7
0.25	0.181	72.4
0.5	0.258	51.6
0.75	0.641	85.5
1	0.718	71.8
2	1.760	88.0
3	2.928	97.5
4	3.692	92.3
5	4.795	95.9
average		83.9



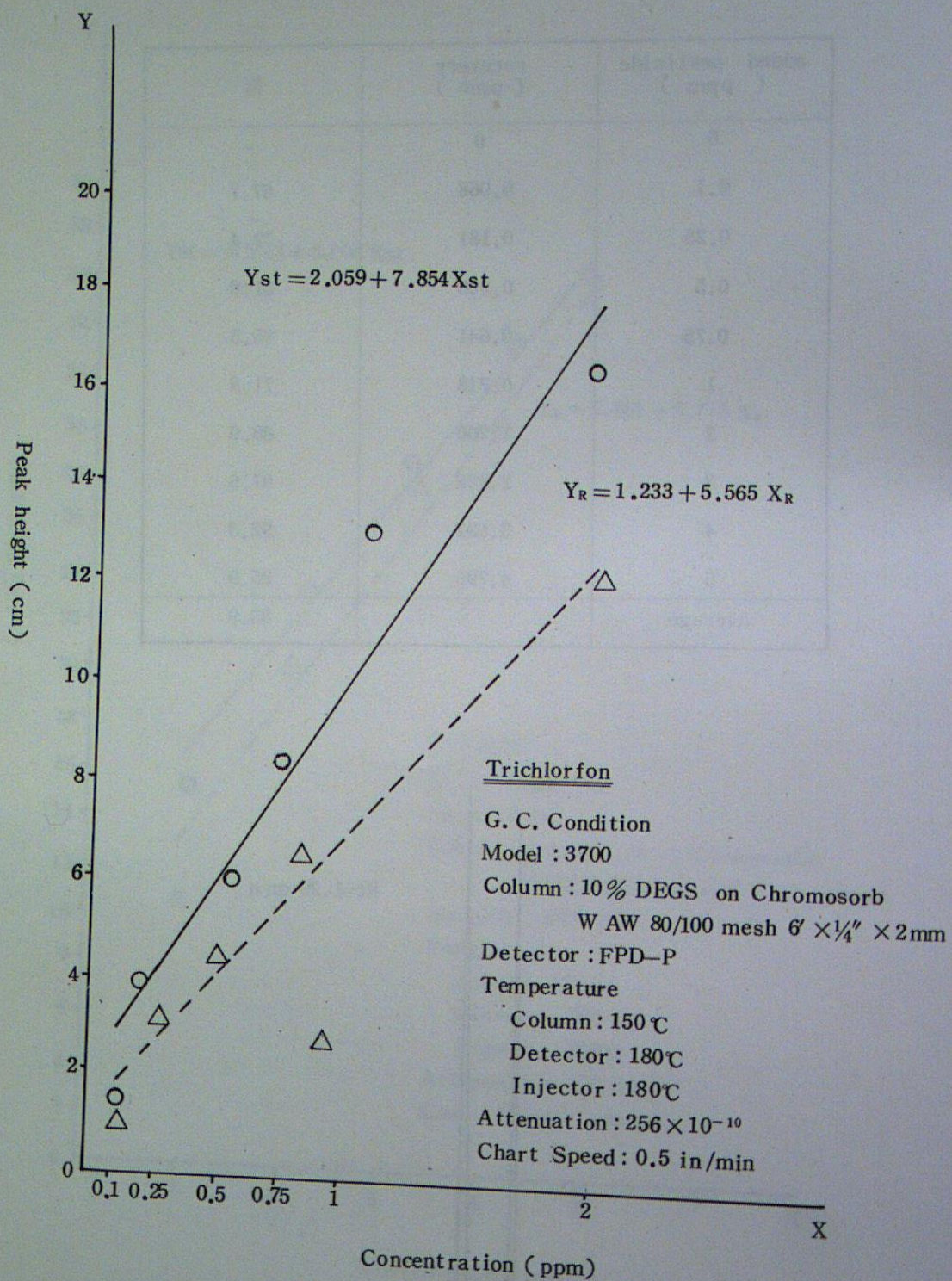


圖 II - 7 (a) Trichlorfon 之標準曲線及回收曲線

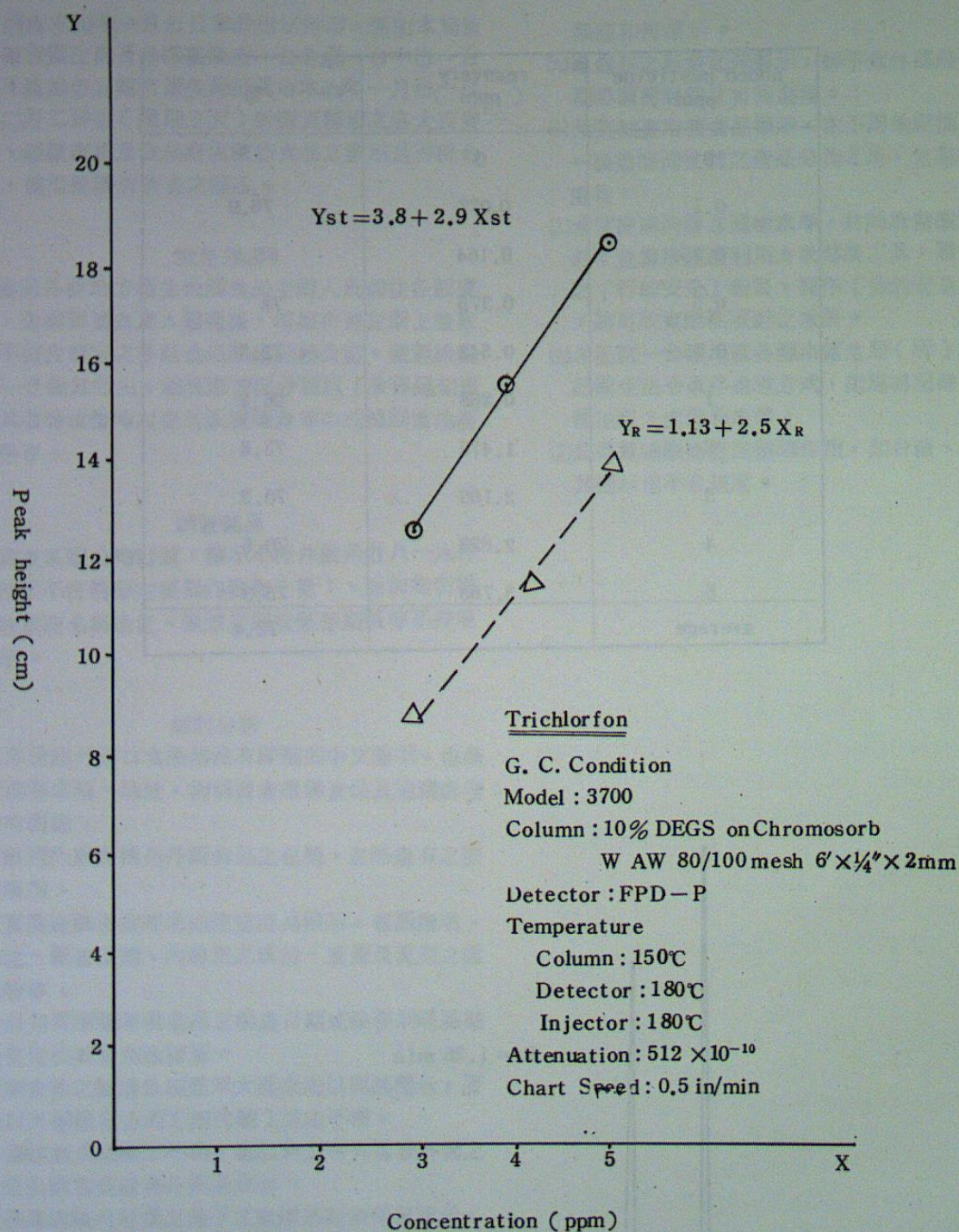
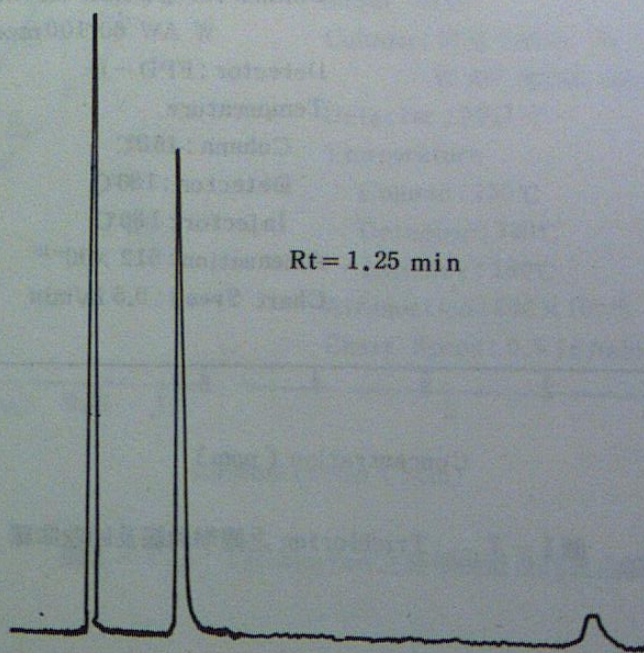


圖 II - 7 (b) Trichlorfon 之標準曲線及回收曲線

表 II - 7 Trichlorfon 之回收率

added pesticide (ppm)	recovery (ppm)	%
0	0	
0.1	0.077	76.9
0.25	0.164	65.5
0.5	0.375	75
0.75	0.542	72.3
1	0.268	26.8
2	1.476	73.8
3	2.106	70.2
4	2.820	70.5
5	3.765	75.3
average		72.4



本項
同台灣
南市及
起至二
公司、
規定

本局會
場所
標示不
後一
」促
生局

共計
，其
、製
定標

(一)大
什
其
(二)少
元
(三)財
其
力
(四)
:
(五)
(六)
(七)

(八)

*