

禽畜產品中殘留農藥檢驗方法—克美素、賽滅淨、大刈特及巴拉刈之檢驗

Method of Test for Pesticide Residues in Livestock and Poultry Products -

Test of Chlormequat, Cyromazine, Diquat and Paraquat

1. 適用範圍：本檢驗方法適用禽畜產品之肌肉、雞蛋、內臟及乳中克美素(chlormequat)、賽滅淨(cyromazine)、大刈特(diquat)及巴拉刈(paraquat)等4項農藥殘留之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/ tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：SIELC Obelisc R，5 μm ，內徑2.1 mm \times 15 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 粉碎機(Grinder)。
 - 2.1.3. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.4. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.5. 高速分散裝置(High speed dispersing device)：SPEX SamplePrep 2010 GenoGrinder[®]，1000 rpm以上，或同級品。
 - 2.1.6. 離心機(Centrifuger)：可達5000 $\times g$ 以上，溫度控制可達15 $^{\circ}\text{C}$ 以下者。
 - 2.2. 試藥：甲酸及甲酸銨均採用試藥特級；甲醇及乙腈均採用液相層析級；octadecylsilane (C18)採用分析級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 M $\Omega\cdot\text{cm}$ 以上)；克美素、賽滅淨、大刈特及巴拉刈對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：15 mL及50 mL，PP材質。
 - 2.3.2. 容量瓶：10 mL，PP材質。
 - 2.3.3. 超濾離心管(Ultrafiltration filter)：15 mL，具可截留10 kDa分子量之濾膜，PP材質。
 - 2.3.4. 濾膜：孔徑0.22 μm ，PTFE材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 含1%甲酸之甲醇溶液：
取甲酸5 mL，加甲醇使成500 mL。
 - 2.4.2. 含0.5%甲酸之50%甲醇溶液：

取1%甲酸之甲醇溶液500 mL，加去離子水使成1000 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 移動相溶液A：

取甲酸銨3.16 g，以去離子水溶解使成1000 mL，以甲酸調整pH值至3.0，供作移動相溶液A。

2.5.2. 移動相溶液B：乙腈。

2.6. 標準溶液之配製：

取克美素、賽滅淨、大刈特及巴拉刈對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以含1%甲酸之甲醇溶液溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷凍避光貯存。臨用時取適量各標準原液，以含1%甲酸之甲醇溶液稀釋至0.5 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 肌肉及雞蛋：

將肌肉檢體均質，取約2 g，精確稱定；雞蛋檢體去除外殼後，將蛋白與蛋黃混勻，取約2 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，添加適量去離子水(肌肉加0.4 mL；雞蛋加0.5 mL)以調整檢體水分含量至2 mL，再加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液10 mL，先以高速分散裝置於1000 rpm振盪5分鐘，再於80°C水浴中超音波振盪15分鐘，冷卻後，再以高速分散裝置於1000 rpm振盪1分鐘，於-20°C，冷凍至少90分鐘，取出後立即以5000 ×g離心5分鐘。取上清液2 mL (a)，置於15 mL離心管(含乙腈2 mL (b)及C18 100 mg)中，以高速分散裝置於1000 rpm振盪1分鐘，以3000 ×g離心5分鐘，取上清液，經濾膜過濾，取濾液0.8 mL (c)，加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1 mL (d)，混合均勻，供作檢液。

2.7.2. 乳及內臟：

將檢體均質，取約2 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，添加適量去離子水(乳加0.3 mL；肝臟加0.6 mL；腎臟加0.4 mL)以調整檢體水分含量至2 mL，再加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液10 mL，先以高速分散裝置於1000 rpm振盪5分鐘，再於80°C水浴中超音波振盪15分鐘，冷卻後，再以高速分散裝置於1000 rpm振盪1分鐘，於-20°C冷凍至少90分鐘，取出後立即以5000 ×g離心5分鐘。取上清液2 mL (a)，置於15 mL離心管(含乙腈2 mL (b)及C18 100 mg)中，以高速分散裝置於1000 rpm振盪1分鐘，以3000 ×g離心5分鐘，取上清液3 mL，置於超濾離心管中，以5000 ×g離心5分鐘，取濾液0.8 mL (c)，

加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1 mL (d)，混合均勻，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線之製作：

取空白檢體，依2.7.節調製之上清液，分別量取0.8 mL (c)，分別加入標準溶液1~100 μ L及適量含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1 mL (d)，混合均勻，供作基質匹配檢量線溶液，依下列條件進行分析。就各農藥之波峰面積，與對應之各農藥濃度，製作0.0005~0.05 μ g/mL之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註)：

層析管：SIELC Obelisc R，5 μ m，內徑2.1 mm \times 15 cm。

移動相溶液：A液與B液以下列條件進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 \rightarrow 1.0	20 \rightarrow 40	80 \rightarrow 60
1.0 \rightarrow 4.0	40 \rightarrow 80	60 \rightarrow 20
4.0 \rightarrow 6.0	80 \rightarrow 80	20 \rightarrow 20
6.0 \rightarrow 6.5	80 \rightarrow 20	20 \rightarrow 80
6.5 \rightarrow 10.0	20 \rightarrow 20	80 \rightarrow 80

移動相流速：0.4 mL/min。

注入量：2 μ L。

離子化模式：ESI正離子。

毛細管電壓(Capillary voltage)：3.5 kV。

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

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

進樣錐氣體流速(Cone gas flow)：10 L/hr。

溶媒揮散流速(Desolvation flow)：900 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如附表。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及基質匹配檢量線溶液各2 μ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.8.節條件進行分析。就檢液與基質匹配檢量線溶液所得

波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各農藥之含量(ppm)：

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

C：由基質匹配檢量線求得檢液中各農藥之濃度(μg/mL)

V：檢體調整後之水分含量及萃取檢體之含0.5%甲酸之50%甲醇溶液之體積(12 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數(2.5)，由(a+b)×d/(a×c)求得

註：相對離子強度由定性離子與定量離子對之波峰面積比而得(≤100%)，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

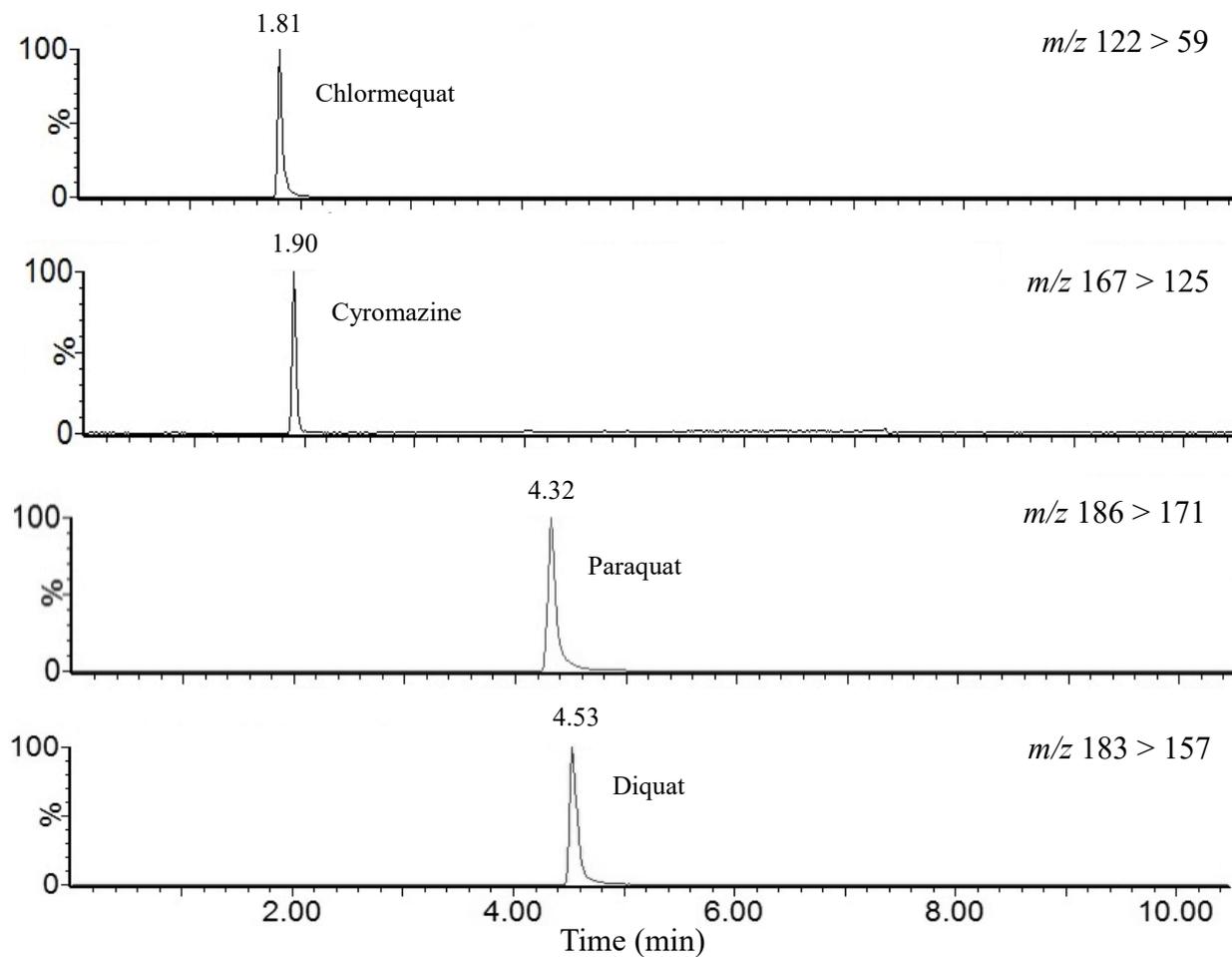
附註：1. 本檢驗方法之定量極限如附表。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. 衛生福利部。2019。食品中殘留農藥檢驗方法－殺草劑巴拉刈之檢驗(TFDAP0014.00)。108年8月5日公布。
2. Anastassiades, M., Kolberg, D. I., Eichhorn, E., Wachtler, A. K., Benkenstein, A., Zechmann, S., Mack, D., Wildgrube, C., Barth, A., Sigalov, I., Görlich, S., Dörk, D. and Cerchia, G. 2021. Quick method for the analysis of numerous highly polar pesticides in food involving extraction with acidified methanol and LC-MS/MS measurement. I. Food of plant origin (QuPPE-PO-Method)- Version 11.1. EURL-SRM.
3. Anastassiades, M., Wachtler, A. K., Kolberg, D. I., Eichhorn, E., Benkenstein, A., Zechmann, S., Mack, D., Barth, A., Wildgrube, C., Sigalov, I., Görlich, S., Dörk, D. and Cerchia, G. 2019. Quick method for the analysis of numerous highly polar pesticides in food involving extraction with acidified methanol and LC-MS/MS measurement. II. Food of animal origin (QuPPE AO Method) - Version 3.2. EURL-SRM.

參考層析圖譜



圖、以LC-MS/MS分析chlormequat等4項農藥標準品之MRM圖譜

附表、克美素等4項農藥之多重反應偵測模式參數及定量極限

項次	分析物		定量離子對			定性離子對			定量極限(ppm)			
	英文名	中文名	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	肌肉	內臟	雞蛋	乳
1	Chlormequat	克美素	122 > 59	37	20	124 > 65	32	18	0.05	0.05	0.05	0.05
2	Cyromazine	賽滅淨	167 > 125	30	18	167 > 108	30	20	0.01	0.05	0.01	0.01
3	Diquat	大刈特	183 > 157	50	18	184 > 156 184 > 106	20 20	20 17	0.01	0.01	0.01	0.01
4	Paraquat	巴拉刈	186 > 171	10	15	186 > 155	40	36	0.01	0.01	0.01	0.01