

## 食品中殘留農藥檢驗方法—多重殘留分析方法(六)

### Method of Test for Pesticide Residues in Foods - Multiresidue Analysis (6)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於蔬果類、穀類、乾豆類、茶類、香辛植物及其他草本植物等食品中bioresmethrin等31項農藥(品項見附表一及附表二)多重殘留分析。
2. 檢驗方法：檢體採用QuEChERS方法(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)前處理後，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：CORTECS UPLC C18，1.6  $\mu\text{m}$ ，內徑2.1 mm  $\times$  10 cm，或同級品。
      - 2.1.1.3. 保護管：CORTECS UPLC C18，1.6  $\mu\text{m}$ ，內徑2.1 mm  $\times$  5 mm，或同級品。
    - 2.1.2. 攪拌均質器(Blender)。
    - 2.1.3. 粉碎機(Grinder)。
    - 2.1.4. 高速分散裝置(High speed dispersing device)：SPEX SamplePrep P 2010 GenoGrinder<sup>®</sup>，1000 rpm以上，或其他具振盪功能之裝置。
    - 2.1.5. 離心機(Centrifuge)：可達3000  $\times g$ 以上，控制溫度可達15 $^{\circ}\text{C}$ 以下者。
    - 2.1.6. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。
  - 2.2. 試藥：甲酸及醋酸銨均採試藥特級；乙腈及甲醇均採液相層析級；氯化鈉、檸檬酸鈉、檸檬酸氫二鈉、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 $^{\circ}\text{C}$ 可達18  $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；bioresmethrin等31項農藥對照用標準品；磷酸三苯酯(triphenylphosphate, TPP)內部標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 離心管：15 mL及50 mL，PP材質。
    - 2.3.2. 濾膜：孔徑0.22  $\mu\text{m}$ ，PTFE材質。
    - 2.3.3. 容量瓶：25 mL及50 mL，褐色。
    - 2.3.4. 陶瓷均質石(Ceramic homogenizer)<sup>(註1)</sup>：採用Bond Elut QuEChERS P/N 5982-9313，或同級品。

- 2.3.5. 萃取用粉劑<sup>(註2)</sup>：含無水硫酸鎂4 g、氯化鈉1 g、檸檬酸鈉1 g及檸檬酸氫二鈉0.5 g。
- 2.3.6. 淨化用離心管 I<sup>(註2)</sup>：含PSA 150 mg及無水硫酸鎂900 mg，檢液負荷量6 mL，適用於I類(新鮮之蔬果類、香辛植物及其他草本植物等水分含量高之檢體)。
- 2.3.7. 淨化用離心管II<sup>(註2)</sup>：含PSA 150 mg、無水硫酸鎂900 mg及C18 150 mg，檢液負荷量6 mL，適用於II類(穀類及乾豆類等蠟、油脂及醣類含量高之檢體)。
- 2.3.8. 淨化用離心管III<sup>(註2)</sup>：含PSA 150 mg、無水硫酸鎂855 mg及GCB 45 mg，檢液負荷量6 mL，適用於III類(乾燥之茶類、蔬果類、香辛植物及其他草本植物等色素含量高之檢體)。

註1：陶瓷均質石可視檢體黏稠度自行評估使用。

註2：可依需求自行評估使用市售各種萃取及淨化用組合套組。

#### 2.4. 試劑之調製：

##### 2.4.1. 乙腈：甲醇(4:1, v/v)溶液：

取乙腈與甲醇以4：1 (v/v)之比例混勻。

##### 2.4.2. 含1%甲酸之乙腈：甲醇(4:1, v/v)溶液：

取甲酸10 mL及乙腈：甲醇(4:1, v/v)溶液990 mL混合均勻。

#### 2.5. 移動相溶液之調製：

##### 2.5.1. 移動相溶液A：

取醋酸銨0.39 g，以去離子水溶解使成1000 mL，加入甲酸1 mL混合均勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

##### 2.5.2. 移動相溶液B：

取醋酸銨0.39 g，以甲醇溶解使成1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

#### 2.6. 內部標準溶液之調製：

取磷酸三苯酯內部標準品約50 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至50 mL，作為內部標準原液，於冷凍避光貯存。

##### 2.6.1. 取適量內部標準原液以甲醇稀釋至50 µg/mL，供作2.8.節檢液調製用之內部標準溶液。

##### 2.6.2. 取適量內部標準原液以甲醇稀釋至5 µg/mL，供作2.9.節基質匹配檢量線溶液調製使用之內部標準溶液。

#### 2.7. 標準溶液之配製：

取bioresmethrin、克美素(chlormequat)、賽滅淨(cyromazine)、dicamba、

達滅淨(diclomezine)、多寧(dodine)、fluoroimide、氟氯比(fluroxypyr)、依滅草(imazapyr)、MCPA、快克草(quinclorac)、三氯比(triclopyr)及硫賜安(thiocyclam)對照用標準品各約25 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至25 mL；取亞喜芬(acifluorfen)、bicyclopyrone、亞速隆(ethoxysulfuron)、氟硫滅(flusulfamide)、勃激素A3(gibberellic acid)、依速隆(imazosulfuron)、mesotrione、美速隆(metazosulfuron)、加撲草(MCPB)、歐索林酸(oxolinic acid)、oxpoconazole fumarate及trinexapac-ethyl對照用標準品各約25 mg，精確稱定，分別以乙腈溶解並定容至25 mL；取dichlorprop、imazapic、鈉得爛(naptalam)及克枯爛(tecloftalam)對照用標準品各約25 mg，精確稱定，分別以丙酮溶解並定容至25 mL；取二、四地(2,4-D)及dinoseb對照用標準品約25 mg，以乙醇溶解並定容至25 mL，作為標準原液，於冷凍避光貯存。臨用時取適量各標準原液混合，以乙腈稀釋至1 µg/mL，供作標準溶液。

## 2.8. 檢液之調製：

### 2.8.1. I類(適用於新鮮之蔬果類、香辛植物及其他草本植物等水分含量高之檢體)：

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%甲酸之乙腈：甲醇(4:1, v/v)溶液10 mL及50 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，再以高速分散裝置於1000 rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，3000 ×g離心5分鐘。取上清液6 mL，置於淨化用離心管I，以高速分散裝置於1000 rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，3000 ×g離心2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，經濾膜過濾，供作檢液。

### 2.8.2. II類(適用於穀類及乾豆類等蠟、油脂及醣類含量高之檢體)：

將檢體磨碎均質，取約5 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入預冷之去離子水10 mL，混勻並靜置20分鐘，加入含1%甲酸之乙腈：甲醇(4:1, v/v)溶液10 mL及50 µg/mL內部標準溶液10 µL，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，再以高速分散裝置於1000 rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，3000 ×g離心5分鐘。取上清液6 mL，置於淨化用離心管II，以高速分散裝置於1000 rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，3000 ×g離心2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，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8.3. III類(適用於乾燥之茶類、蔬果類、香辛植物及其他草本植物等色素含量高之檢體)：

將檢體磨碎均質，取約2 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入預冷之去離子水10 mL，混勻並靜置20分鐘，加入含1%甲酸之乙腈：甲醇(4:1, v/v)溶液10 mL及50 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，再以高速分散裝置於1000 rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，3000 ×g離心5分鐘。取上清液6 mL，置於淨化用離心管III，以高速分散裝置於1000rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，3000 ×g離心2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，經濾膜過濾，供作檢液。

2.9. 基質匹配檢量線製作：

取空白檢體，依2.8.節調製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1 µg/mL標準溶液2~200 µL、5 µg/mL內部標準溶液10 µL及甲醇，使體積為1 mL，混合均勻，供作基質匹配檢量線溶液，依下列條件進行分析。就各農藥與內部標準品波峰面積比，與對應之各農藥濃度，製作0.002~0.2 µg/mL之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件<sup>(註3)</sup>：

層析管：CORTECS UPLC C18，1.6 µm，內徑2.1 mm ×10 cm。

保護管：CORTECS UPLC C18，1.6 µm，內徑2.1 mm × 5 mm。

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 → 2.0	99 → 50	1 → 50
2.0 → 8.0	50 → 30	50 → 70
8.0 → 15.0	30 → 1	70 → 99
15.0 → 18.0	1 → 1	99 → 99
18.0 → 18.5	1 → 99	99 → 1
18.5 → 20.5	99 → 99	1 → 1

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：5 µL。

介面電壓(Interface voltage)：

電灑離子化正離子(ESI<sup>+</sup>)採用4 kV，

電灑離子化負離子(ESI<sup>-</sup>)採用3 kV。

介面溫度(Interface temperature)：270°C。

霧化氣體流速(Nebulizing gas flow)：3.0 L/min。

加熱氣體流速(Heating gas flow)：15.0 L/min。

脫溶劑管溫度(Desolvent line temperature)：200°C。

加熱塊溫度(Heat block temperature)：350°C。

乾燥氣體流速(Drying gas flow)：5.0 L/min。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、Q1/Q3 聚焦電壓(Q1/Q3 Pre Bias)與碰撞電壓(collision voltage)如附表一及附表二。

註3：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。

#### 2.10. 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5 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.9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<sup>(註4)</sup>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：由各農藥之基質匹配檢量線求得檢液中各農藥之濃度(µg/mL)

V：萃取檢體之含1%甲酸之乙腈：甲醇(4:1, v/v)溶液之體積(10 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註4：相對離子強度由定性離子與定量離子之波峰面積相除而得(≤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表一及表二。

2. 檢驗步驟中添加之磷酸三苯酯(triphenylphosphate, TPP)內部標準品，由於無法代表所有農藥的物化特性，故於計算各農藥濃度時不一定要納入計算式。建議可用於確認流程，作為品質管制參考。

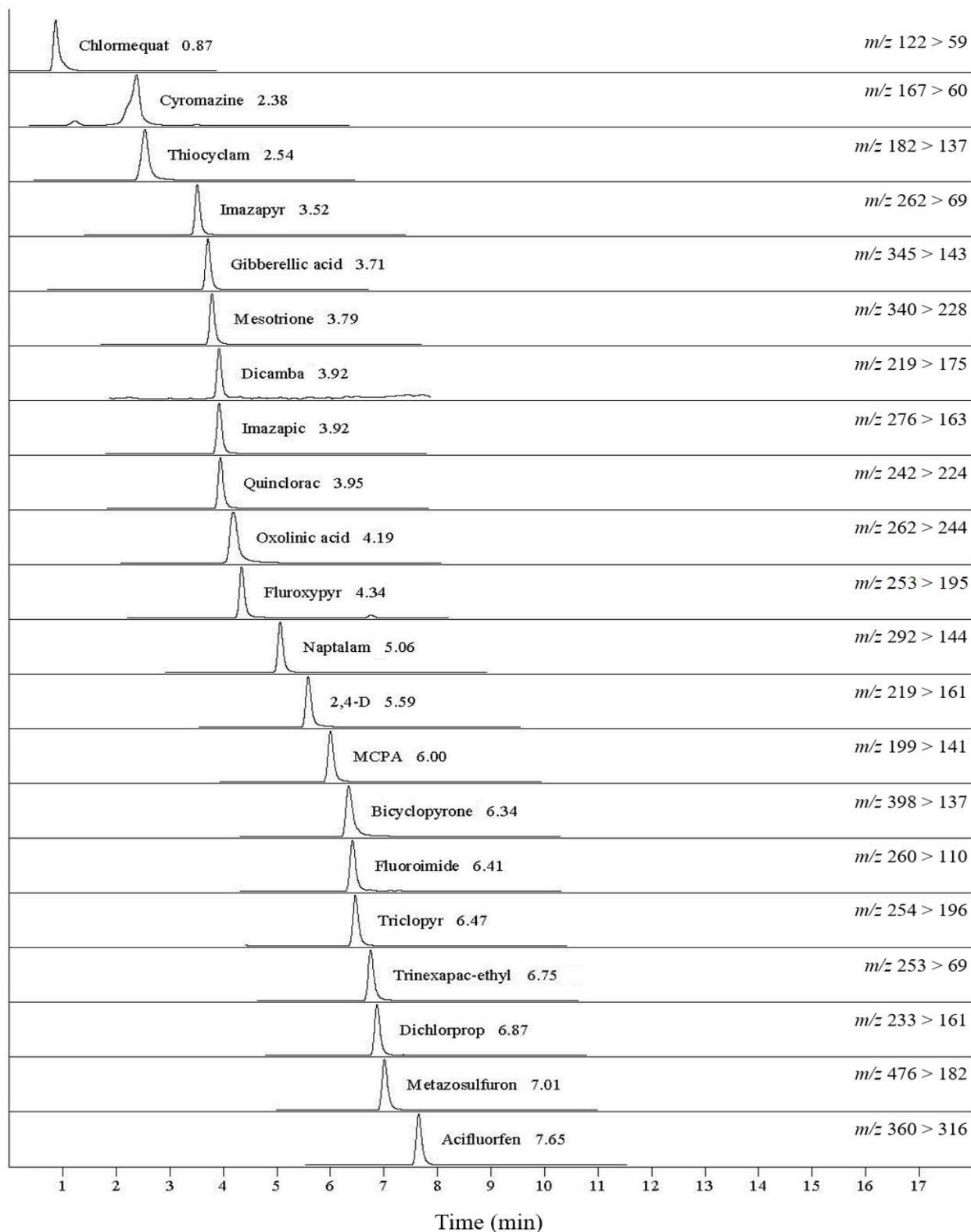
3. 本檢驗方法不適用於I類中bioresmethrin之檢驗；本檢驗方法不適用於II類中fluoroimide之檢驗；本檢驗方法不適用於III類中dicamba、多寧、fluoroimide及硫賜安之檢驗。

4. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

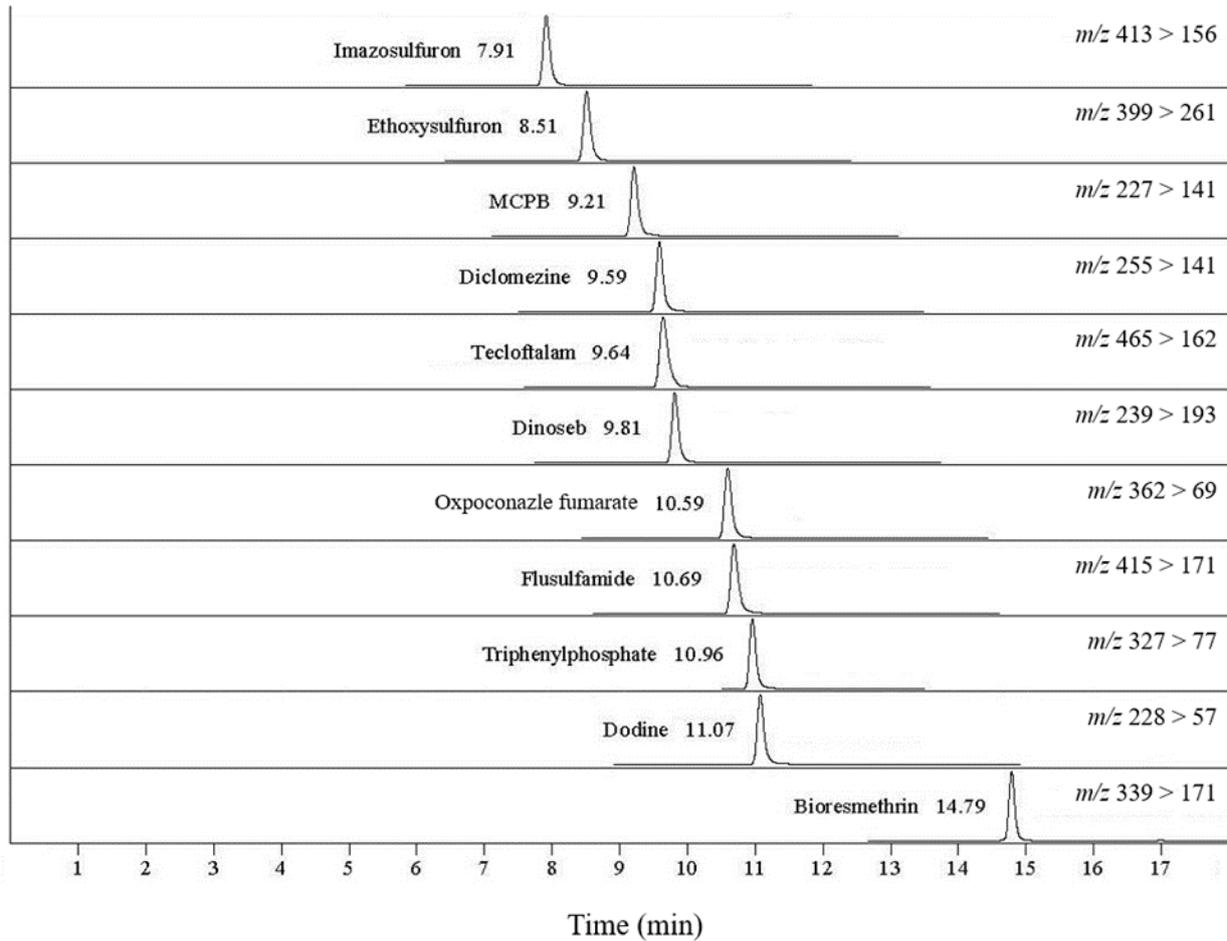
參考文獻：

1. European Committee for Standardization. 2018. Foods of plant origin– Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE– Modular QuEChERS-method. NF EN 15662:2018 (English version).
2. 游蕎瑤、陳俊宇、彭冠智、廖家鼎、高雅敏、王德原、陳惠芳、林韶凱、莊瑋臻、黃鎮華、徐慈鴻。2018。農產品中17項農藥殘留分析方法之探討。食品藥物研究年報，9: 39-51。

### 參考層析圖譜



圖、以LC-MS/MS分析chlormequat等31項農藥標準品及內部標準品之MRM圖譜



圖、以LC-MS/MS分析chlormequat等31項農藥標準品及內部標準品之MRM圖譜(續)

附表一、Bioresmethrin等19項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數(LC-MS/MS正離子模式)

項次	分析物		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)	Q1/Q3 聚焦電壓 (V)	碰撞電壓 (V)	I類 <sup>a</sup>	II類 <sup>b</sup>	III類 <sup>c</sup>
1	Bioresmethrin	—	339 > 171* 339 > 143	28/30 27/26	15 21	—	0.02	0.05
2	Chlormequat	克美素	122 > 59* 124 > 65 122 > 58 122 > 63	28/22 16/23 27/25 12/10	22 23 26 22	0.01	0.02	0.05
3	Cyromazine	賽滅淨	167 > 60* 167 > 125 167 > 108 167 > 85	17/10 16/12 16/10 17/14	21 21 19 20	0.01	0.02	0.05
4	Diclomezine	達滅淨	255 > 141* 255 > 80	13/24 13/13	30 29	0.01	0.02	0.05
5	Dodine	多寧	228 > 57* 228 > 60 228 > 186	20/20 21/18 20/20	25 20 24	0.01	0.02	—
6	Ethoxysulfuron	亞速隆	399 > 261* 399 > 218	19/17 19/14	11 20	0.01	0.02	0.05
7	Fluoroimide	—	260 > 110* 260 > 168 262 > 110	13/10 14/16 13/18	33 23 32	0.05	—	—
8	Imazapic	—	276 > 163* 276 > 145	25/15 25/25	27 35	0.01	0.02	0.05
9	Imazapyr	依滅草	262 > 69* 262 > 86	24/11 23/14	28 27	0.01	0.02	0.05
10	Imazosulfuron	依速隆	413 > 156* 413 > 258 415 > 260	20/15 12/17 13/26	19 26 27	0.01	0.02	0.05
11	Mesotrione	—	340 > 228* 340 > 104	16/14 17/17	16 30	0.01	0.02	0.05
12	Metazosulfuron	美速隆	476 > 182* 476 > 295	17/18 11/30	20 17	0.01	0.02	0.05
13	Naptalam	鈉得爛	292 > 144* 292 > 149 292 > 127	30/13 14/14 15/25	11 21 42	0.01	0.02	0.05
14	Oxolinic acid	歐索林酸	262 > 244* 262 > 216	25/15 25/21	15 23	0.01	0.02	0.05

項次	分析物		離子對			定量極限(ppm)		
	英文名	中文名	前驅離子( <i>m/z</i> ) > 產物離子( <i>m/z</i> )	Q1/Q3 聚焦 電壓 (V)	碰撞 電壓 (V)	I類 <sup>a</sup>	II類 <sup>b</sup>	III類 <sup>c</sup>
15	Oxpoconazole fumarate	—	362 > 69* 362 > 179	17/11 18/16	24 25	0.01	0.02	0.05
16	Quinclorac	快克草	242 > 224* 242 > 161	29/21 27/15	15 36	0.01	0.02	0.05
17	Tecloftalam	克枯爛	465 > 162* 463 > 162 467 > 450	14/15 10/16 12/15	14 16 8	0.01	0.02	0.05
18	Thiocyclam	硫賜安	182 > 137* 182 > 73 182 > 104	18/13 22/12 22/17	16 24 27	0.01	0.02	—
19	Trinexapac-ethyl	—	253 > 69* 253 > 185 253 > 207	26/11 26/12 12/20	22 12 12	0.01	0.02	0.05
I.S.	Triphenylphosphate	磷酸三 苯酯	327 > 77	26/13	45	—	—	—

<sup>a</sup>適用於新鮮之蔬果類、香辛植物及其他草本植物等水分含量高之檢體

<sup>b</sup>適用於穀類及乾豆類等蠟、油脂及醣類含量高之檢體

<sup>c</sup>適用於乾燥之茶類、蔬果類、香辛植物及其他草本植物等色素含量高之檢體

\*定量離子對，定性離子對可視基質情況選擇合適之至少一對離子對

附表二、二、四地等12項農藥之多重反應偵測模式參數(LC-MS/MS負離子模式)

項次	分析物		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)	Q1/Q3 聚焦電壓 (V)	碰撞電壓 (V)	I類 <sup>a</sup>	II類 <sup>b</sup>	III類 <sup>c</sup>
1	2,4-D	二、四地	219 > 161* 219 > 125 221 > 163	10/15 14/11 22/30	12 26 14	0.01	0.01	0.05
2	Acifluorfen	亞喜芬	360 > 316* 360 > 286 362 > 318	19/14 19/18 11/15	12 17 12	0.01	0.02	0.05
3	Bicyclopyrone	—	398 > 137* 398 > 175	19/13 19/10	33 28	0.01	0.02	0.05
4	Dicamba	—	219 > 175* 221 > 177	23/23 25/22	8 8	0.05	0.04	—
5	Dichlorprop	—	233 > 161* 233 > 125 235 > 163	11/15 11/12 11/10	13 26 14	0.01	0.02	0.05
6	Dinoseb	達諾殺	239 > 193* 239 > 163	11/18 11/16	25 32	0.01	0.02	0.05
7	Fluroxypyr	氟氣比	253 > 195* 253 > 233	12/30 12/10	13 9	0.01	0.02	0.2
8	Flusulfamide	氟硫滅	415 > 171* 413 > 171 413 > 349 413 > 179	21/16 21/11 21/16 21/15	36 28 40 37	0.01	0.02	0.05
9	Gibberellic acid	勃激素 A3	345 > 143* 345 > 239	16/21 16/10	28 15	0.01	0.02	0.2
10	MCPA	—	199 > 141* 201 > 143	21/13 21/13	14 14	0.01	0.01	0.05
11	MCPB	加撲草	227 > 141* 229 > 143	23/13 24/16	14 12	0.01	0.02	0.05
12	Triclopyr	三氯比	254 > 196* 256 > 198	13/20 28/22	13 12	0.01	0.02	0.05

<sup>a</sup>適用於新鮮之蔬果類、香辛植物及其他草本植物等水分含量高之檢體

<sup>b</sup>適用於穀類及乾豆類等蠟、油脂及醣類含量高之檢體

<sup>c</sup>適用於乾燥之茶類、蔬果類、香辛植物及其他草本植物等色素含量高之檢體

\*定量離子對，定性離子對可視基質情況選擇合適之至少一對離子對