

農產品中極性農藥及其代謝物之多重殘留分析方法開發

楊舒涵 劉玉婷 林書緯 洪于淨 張淑涵 高雅敏 林美智 曾素香

衛生福利部食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

本研究參考歐盟QuPPE方法(Quick Polar Pesticides Method)，建立以液相層析串聯質譜儀(Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometer, LC-MS/MS)分析蔬果類、穀類及乾豆類、茶類與植物油類中8項極性農藥及其代謝物，包括嘉磷塞、嘉磷塞代謝物1 (Aminomethylphosphonic acid, AMPA)、嘉磷塞代謝物2 (*N*-acetyl-glyphosate)、固殺草(Glufosinate-ammonium)、固殺草代謝物1 (3-(Methylphosphinico)propionic acid, MPPA)、固殺草代謝物2 (*N*-Acetyl-glufosinate)、益收生長素(Ethephon)及福賽得(Fosetyl-Al)之多重殘留檢驗方法。其前處理流程先依基質調整水分含量，添加內部標準品後以含1%甲酸之甲醇溶液(植物油基質改以含1%甲酸之70%甲醇溶液)萃取，置於-20℃冷凍90分鐘，依基質複雜程度搭配乙腈或C18吸附劑淨化後以LC-MS/MS分析。本研究選用Anionic Polar Pesticide (APP)層析管柱，以1.2%甲酸之水溶液及含0.5%甲酸之乙腈溶液為移動相進行層析。確效試驗以含6項內標校正之標準曲線進行蘋果、白米、茶葉及菜籽油等4種代表性農產品基質中8項極性農藥及其代謝物之添加回收試驗，變異係數除茶葉中AMPA於添加濃度0.05 ppm時為23.7%外，其餘極性農藥品項之平均回收率範圍介於55.4-133.4%，變異係數皆小於17.6%，皆符合歐盟SANTE/11312/2021規範，定量極限(0.01-0.1 ppm)於各基質中皆符合我國農藥殘留容許量標準要求，亦可接軌多數國際標準。本研究使用APP層析管柱可穩定分析8項極性農藥及其代謝物，適用基質涵蓋蔬果類、穀類、茶類及植物油，可供例行監測使用，保障民眾健康安全。

關鍵詞：極性農藥、代謝物、液相層析串聯質譜儀

前 言

極性農藥為一群分子量及辛醇/水之分布係數(K_{ow})皆小，具兩性性質且缺乏化學基團的農藥，其易溶於水層而難以分配至有機溶劑層中，傳統上常需透過耗時的衍生化反應，分析非常不易；由於其因具有低成本、高效能及廣效性等優勢，常作為除草劑、殺菌劑及生長調節劑等廣為施用。我國針對嘉

磷塞等4項極性農藥訂有農藥殘留容許量標準(Maximum Residue Level, MRL)⁽¹⁾，依照作物類別大致區分為三類，第一類為蔬果類，如梨果類及葉菜類等高水分含量作物，MRL介於0.05-100 ppm；第二類為穀類及乾豆類，如米類及堅果類等，MRL介於0.1-10 ppm；第三類為茶類，MRL介於0.1-30 ppm (表一)。衛生福利部食品藥物管理署(下稱食藥署)於106年4月19日公開建議檢驗方法「食品中殘留農藥

表一、臺灣、歐盟及日本之農產品中極性農藥之殘留容許量標準

國際普通名稱	作物類別	臺灣	歐盟	日本	殘留定義
		殘留容許量(ppm)			
Glyphosate	蔬果類	0.1-0.5	0.1-50	0.1-40	日本：大豆、玉米和油菜籽採Glyphosate及 <i>N</i> -acetyl-glyphosate合併計算，以Glyphosate計；其餘僅計算Glyphosate，以Glyphosate計。 歐盟：Glyphosate。
	穀類	0.1-10	0.1-20	0.1-30	
	茶類	0.1	0.1-2	0.1-1	
Glufosinate-ammonium	蔬果類	0.05-2	0.03-5	0.01-5	歐盟及日本：Glufosinate-ammonium、MPPA及 <i>N</i> -Acetyl-glufosinate合併計算，以Glufosinate計。
	穀類	0.1-2.0	0.03-0.9	0.1-2	
	茶類	-	0.1	0.1-0.5	
Ethephon	蔬果類	1.0-3.0	0.05-7	0.05-10	歐盟及日本：Ethephon。
	穀類	0.2-2.0	0.05-1	0.05-2	
	茶類	5.0	0.1	0.05-2	
Fosetyl-Al	蔬果類	0.1-100	2-1,500	0.5-1,000	歐盟：採Fosetyl、Phosphonic acid及其鹽類合併計算，以Fosetyl計。 日本：採Fosetyl-Al及Phosphonic acid合併計，以Fosetyl-Al計。
	穀類	-	2-150	0.5	
	茶類	30	2-2,000	0.5-1440	

檢驗方法－極性農藥及其代謝物多重殘留分析方法(TFDAP0006.00)」⁽²⁾，使用Hypercarb層析管柱分析穀類及乾豆類中7項極性農藥，但此管柱需於實驗分析前以樣品基質進行管柱平衡而費時，為改善此缺點以及擴增適用基質，108年研究⁽³⁾選擇以Obelisc N (HILIC)層析管柱分析9項極性農藥於蔬果、穀類及豆類、茶類等3種基質之實驗，確效實驗結果顯示至少有5項極性農藥適用此管柱，且無需於分析前以樣品基質平衡管柱，惟該方法因無淨化之前處理流程，僅透過高稀釋倍數(50倍)降低基質對於訊號之干擾，而稀釋倍數過高易生檢驗結果失真之風險。110年研究⁽⁴⁾針對此問題進一步改善前處理流程及擴充蜂蜜基質，前處理流程經改善後，依不同基質稀釋倍數為2.5-25倍，有效降低稀釋倍數，惟仍有部分品項之LOQ無法滿足MRL需求。且隨Obelisc N (HILIC)層析管柱使用時間增長，其層析圖譜會出現再現性不佳之現象，需定期將管柱進行「再生(re-condition)」，以維持管柱之分析效果，

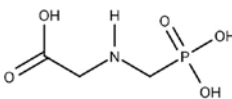
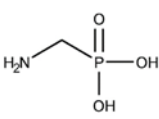
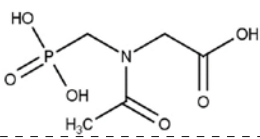
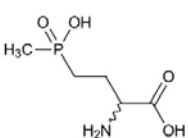
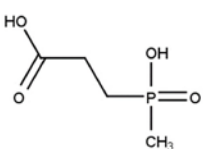
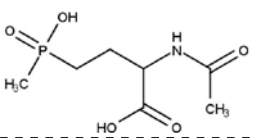
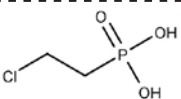
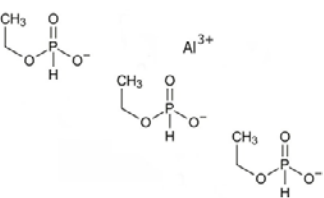
顯示此管柱仍有不夠穩定之情形，亦會耗費分析時間。因此本研究參考歐盟之QuPPE-PO (Quick Polar Pesticides Method-Products of Plant and Honey)方法⁽⁵⁾，開發以液相層析串聯質譜儀(Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometer, LC-MS/MS)分析蔬果、穀類及乾豆類、茶葉與植物油中嘉磷塞、固殺草、益收生長素、福賽得及其代謝物等8項極性農藥(表二)之檢驗方法，期能解決過去相關研究之不足，建立操作便利、穩定性高、適用較多基質及滿足極性農藥監測濃度需求之檢驗方法。

材料與方法

一、檢體來源

本研究測試所需之蘋果、白米、茶葉及菜籽油等檢體係購自大臺北地區之賣場或網路平台。以未檢出本研究標的極性農藥檢體均質後，作為空白檢體。白米、茶葉及菜籽油檢體置於室溫，蘋果檢體置於冷凍儲存備用。

表二、8項極性農藥及其代謝物之特性

No.	國際普通名稱 (普通名稱)	作用	種類	結構式	Log P	pKa
1	Glyphosate (嘉磷塞)	殺草劑	本體		-3.2	0.78, 2.29, 5.96, 11
2	Aminomethylphosphonic acid (AMPA)		代謝物		-2.76	—
3	N-Acetyl-glyphosate		代謝物		-2.4	—
4	Glufosinate-ammonium (固殺草)	殺草劑	本體		-3.96	0.8, 2.9, 9.8
5	3-(Methylphosphinico) propionic acid, MPPA		代謝物		-1.6	—
6	N-Acetyl-glufosinate		代謝物		—	—
7	Ethephon (益收生長素)	生長調節劑	本體		-1.89	4.7
8	Fosetyl-Al (福賽得)	殺菌劑	本體		-2.1	2.82, 7.21

二、試藥

(-)試劑

甲酸採用質譜級(純度98%)，甲醇及乙腈均採用液相層析級，均購自Merck公司(Darmstadt, Germany)；

Octadecylsilane, end-capped (C18 EC)採用分析級，購自Agilent公司(Santa Clara, CA, USA)；乙二胺四乙酸鈣二鈉鹽(Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA Na₂-Ca)採用試藥級，購自Sigma-Aldrich®公司(Saint Louis, MO, USA)。

(二) 對照用標準品

3-(Methylphosphinico)propionic acid (MPPA) (純度99.9%)購自HPC Standards公司(Cunnersdorf, Germany); Glyphosate (純度98.5%)購自Chem Service公司(West Chester, PA, USA); Fosetyl-Al (純度93.5%)、Glufosinate-ammonium (純度100%)及Aminomethylphosphoric acid (AMPA) (純度99.0%)皆購自AccuStandard®公司(New Haven, CT, USA); Ethephon (純度97%)、*N*-Acetyl-glufosinate (純度92.6%)及*N*-Acetyl-glyphosate (純度95.5%)皆購自Dr. Ehrenstorfer公司(Augsburg, Germany)。

(三) 同位素內部標準品

3-(Methylphosphinico)propionic acid- d_3 sodium salt (純度96%)、Glufosinate- d_3 -hydrochloride (純度95%)及*N*-Acetyl-glyphosate- d_3 (純度98%)，皆購自Toronto Research Chemicals公司(Toronto, Ontario, Canada); Fosetyl-Al- d_{15} (純度90.7%)購自Dr. Ehrenstorfer公司; Glyphosate-2- ^{13}C , ^{15}N (純度99.6%)及*N*-Acetyl- d_3 -glufosinate (純度100%)皆購自Sigma-Aldrich®公司; AMPA- ^{13}C , ^{15}N , d_2 (純度99.4%)購自Cambridge Isotope Laboratories公司(Tewksbury, MA, USA)。

三、儀器設備與裝置

- (一) 離心機(Allegra 25R Centrifuge, Beckman Coulter, USA)。
- (二) 高速分散裝置(GenoGrinder®, SPEX SamplePrep, USA)。
- (三) 旋渦混合器(Vortex-Genie 2 mixer, Scientific Industries, USA)。
- (四) 高效能液相層析串聯式質譜儀(ACQUITY UPLC I-Class PLUS/ Xevo TQ Absolute, Waters, USA)。

四、試劑之調製

(一) 含1%甲酸之甲醇溶液

取甲酸10.20 mL，加甲醇使成1,000 mL。

(二) 含1%甲酸之70%甲醇溶液

取甲酸10.20 mL及甲醇700 mL，加去離子水使成1,000 mL。

(三) 含0.5%甲酸之50%甲醇溶液

取去離子水與含1%甲酸之甲醇溶液，以1:1 (v/v)比例混勻。

(四) 10% EDTA溶液

取EDTA Na_2 -Ca 13.24 g，以去離子水溶解使成100 mL。

五、移動相溶液之調製

(一) 移動相A (1.2%甲酸溶液)

取甲酸12.24 mL，加去離子水使成1,000 mL，以濾膜過濾。

(二) 移動相B (含0.5%甲酸之乙腈溶液)

取甲酸5.10 mL，加乙腈使成1,000 mL，以濾膜過濾。

六、內部標準溶液之配製

取適量Glyphosate-2- ^{13}C , ^{15}N 等6項農藥內部標準品，精確稱定，分別以適當溶劑(表三)溶解並以塑膠容量瓶定容至10 mL，作為同位素內部標準(下稱內標)原液1，冷藏貯存於樣品瓶中。另取適量內標原液1以適當溶劑稀釋至100 $\mu g/mL$ ，作為內標原液2，冷藏貯存於樣品瓶中。臨用時取適量各內標原液2混合，以含0.5%甲酸之50%甲醇溶液稀釋至5 $\mu g/mL$ ，供作添加回收試驗及標準曲線配製用。

七、標準溶液之配製

取Glyphosate等8項農藥對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以適當溶劑(表三)溶解並以塑膠容量瓶定容至10 mL，作為標準原液1，冷藏貯存於樣品瓶中；另取適量標準原

表三、8項極性農藥及其代謝物與其對應之6項同位素內部標準品之配製溶劑

No.	Compound	Solvent
1	Glyphosate	10% ACN in water
2	AMPA	0.5% FA in ACN
3	<i>N</i> -Acetyl-glyphosate	10% ACN in water
4	Glufosinate	10% ACN in water
5	MPPA	Deionized water
6	<i>N</i> -Acetyl-glufosinate	10% ACN in water
7	Ethephon	10% ACN in water + 1% FA
8	Fosetyl-Al	10% ACN in water
9	Glyphosate -2- ¹³ C, ¹⁵ N (I.S. ^a)	10% ACN in water
10	AMPA- ¹³ C, ¹⁵ N, d ₂ (I.S. ^a)	Deionized water
11	<i>N</i> -Acetyl-glyphosate-d ₃ (I.S. ^a)	10% ACN in water
12	Glufosinate-d ₃ (I.S. ^a)	10% ACN in water
13	MPPA-d ₃ (I.S. ^a)	10% ACN in water
14	Fosetyl-Al-d ₁₅ (I.S. ^a)	10% ACN in water

^aInternal standard.

液1以適當溶劑稀釋至100 µg/mL，供作標準原液2，冷藏貯存於樣品瓶中。臨用時取適量各標準原液2混合，以含0.5%甲酸之50%甲醇溶液稀釋至5 µg/mL，供作添加回收試驗用；另取適量標準原液2以含0.5%甲酸之50%甲醇溶液稀釋至2 µg/mL，供作標準曲線配製用。

八、液相層析串聯式質譜儀測定條件

(一)液相層析儀

層析管柱使用Anionic Polar Pesticide (APP) Column (2.1 mm × 100 mm, particle size 130 Å, 5 µm)，層析條件如表四。

(二)串聯式質譜儀

離子源採電灑式離子源(Electrospray ion source)，進行負離子模式，搭配多重反應偵測模式(Multiple Reaction Monitoring, MRM)進行偵測。質譜儀之分析參數如表四，MRM偵測之離子對如表五。

九、檢液之調製

(一)蔬果類

取均質之檢體約10 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入去離子水1.5 mL，使檢體之水分含量為10 g^(註)，加入5 µg/mL內標溶液50 µL及含1%甲酸之甲醇溶液10 mL，以高速分散裝置於1,000 rpm振盪15分鐘後，於-20°C冷凍90分鐘以上。於-10°C以5,000 ×g離心5分鐘，取上清液4 mL，置於15 mL離心管(內含C18 EC吸附劑200 mg)，以高速分散裝置於1,000 rpm振盪1分鐘後，於-10°C以5,000 ×g離心5分鐘。取上清液800 µL，置於微量離心管中，加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1,000 µL，經濾膜過濾，供作檢液。

(二)穀類

取均質之檢體約5 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入去離子水9 mL，使檢體之水分含量為10 g^(註)，加入5 µg/mL內標溶液100 µL及含1%甲酸之甲醇溶液10 mL，另添加甲酸100 µL及10% EDTA溶液1 mL，以高速分散裝置於1,000 rpm振盪15分鐘後，於-20°C冷凍90分鐘以上。於-10°C以5,000 ×g離心5分鐘，取上清液2 mL，置於15 mL離心管(內含乙腈2 mL)，以高速分散裝置於1,000 rpm振盪1分鐘後，於-10°C以5,000 ×g離心5分鐘。取上清液800 µL，置於微量離心管中，加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1,000 µL，經濾膜過濾，供作檢液。

(三)茶類

取均質之檢體約2 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入去離子水10 mL，使檢體之水分含量為10 g^(註)，加入5 µg/mL內標溶液50 µL及含1%甲酸之甲醇溶液10 mL，以高速分散裝置於1,000 rpm振

表四、液相層析及質譜分析條件

Parameter	Condition
LC system	ACQUITY UPLC I-Class PLUS with Sample manager
Column	Anionic Polar Pesticide (5 μ m, 2.1 mm $\times$ 100 mm)
Strong wash (SNW)	50% Methanol in water
Weak wash (WNW)	90:10 Acetonitrile: water
Seal wash	10% Methanol in water
Column temperature	50°C
Sample temperature	10°C
Injection volume	10 μ L
Flow rate	0.5 mL/min
Mobile phase	A : 1.2% Formic acid in water B : 0.5% Formic acid in acetonitrile
Gradient program	Time (min) A (%) B (%)
	0 10 90
	0.5 10 90
	1.5 80 20
	4.5 90 10
	17.5 90 10
	17.6 10 90
Analytical time	23 min
MS instrument	Xevo TQ Absolute
Ionization mode	ESI negative
Capillary voltage (kV)	3.0
Desolvation temperature (°C)	600
Desolvation gas flow (L/hr)	1,000

盪15分鐘後，於-20°C冷凍90分鐘以上。於-10°C以5,000 $\times$ g離心5分鐘，取上清液4 mL，置於15 mL 離心管(內含C18 EC吸附劑200 mg)，以高速分散裝置於1,000 rpm振盪1分鐘後，於-10°C以5,000 $\times$ g離心5分鐘。取上清液800 μ L，置於微量離心管中，加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1,000 μ L，經濾膜過濾，供作檢液。

註：依據不同基質水分含量，添加適量去離子水於檢體中，使檢體之水分含量約為10 g，以茶葉

為例，其經乾燥加工無水分含量，取檢體2 g製備檢液時，於水分調整時需再添加去離子水10 mL。

(四)植物油類

取均質之檢體約5 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入5 μ g/mL內標溶液50 μ L及含1%甲酸之70%甲醇溶液10 mL，以高速分散裝置於1,000 rpm振盪15分鐘後，於-20°C冷凍90分鐘以上。於-10°C以5,000 $\times$ g離心5分鐘，取上清液4 mL，置於15 mL 離心管(內含C18吸附劑200 mg)，以

表五、8項極性農藥及其代謝物與其對應之6項同位素內部標準品之多重反應偵測模式參數(ESI)

No. Compound	Ion pair Precursor ion (<i>m/z</i>) > product ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Internal standard
1 Glyphosate	168 > 63 ^a 168 > 150	21 21	19 9	Glyphosate -2- ¹³ C, ¹⁵ N
2 AMPA	110 > 81 ^a 110 > 63	30 30	12 20	AMPA- ¹³ C, ¹⁵ N, d ₂
3 <i>N</i> -Acetyl-glyphosate	210 > 150 ^a 210 > 63	16 10	14 26	<i>N</i> -Acetyl-glyphosate-d ₃
4 Glufosinate	180 > 95 ^a 180 > 63	28 28	18 30	Glufosinate-d ₃
5 MPPA	151 > 133 ^a 151 > 107	15 20	12 19	MPPA-d ₃
6 <i>N</i> -Acetyl-glufosinate	222 > 59 ^a 222 > 136	30 30	15 20	-
7 Ethephon	143 > 107 ^a 143 > 79	15 15	8 8	-
8 Fosetyl	109 > 81 ^a 109 > 63	18 19	43 17	Fosetyl-d ₃
9 Glyphosate -2- ¹³ C, ¹⁵ N (I.S.)	170 > 63	28	18	
10 AMPA- ¹³ C, ¹⁵ N, d ₂ (I.S.)	114 > 81	32	12	
11 <i>N</i> -Acetyl-glyphosate-d ₃ (I.S.)	213 > 63	28	24	
12 Glufosinate-d ₃ (I.S.)	183 > 63	28	30	
13 MPPA-d ₃ (I.S.)	154 > 63	20	25	
14 Fosetyl-d ₃ (I.S.)	114 > 82	21	14	

^aQuantitative ion.

高速分散裝置於1,000 rpm振盪1分鐘後，於-10°C以5,000 ×g離心5分鐘。取上清液400 μL，置於微量離心管中，加入含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1,000 μL，經濾膜過濾，供作檢液。

十、標準曲線之製作

精確量取2 μg/mL標準溶液1-100 mL、5 μg/mL內標溶液2 mL及適量含0.5%甲酸之50%甲醇溶液，使體積為1 mL，混合均勻，分別注入LC-MS/MS中分析，製作0.002-0.2 μg/mL之標準曲線。

十一、基質效應評估

以標準曲線(Standard Calibration Curve, SCC)及基質匹配檢量線(Matrix-Matched Calibration Curve, MMC)之斜率評估基質效應，計算公式為：

$$\text{基質效應(\%)} = \frac{(\text{MMC之斜率} - \text{SCC之斜率})}{\text{SCC之斜率}} \times 100\%$$

十二、添加回收及重複性試驗

茶類之空白檢體取約2 g；白米之空白檢體取約5 g；蔬果類之空白檢體取約10 g，精確稱定，加入適量標準溶液及內標溶液，使

茶類及白米類檢體內農藥含量分別為0.05及0.1 ppm，使蔬果類檢體內農藥含量分別為0.025及0.05 ppm。上述空白檢體經添加標準品後，靜置30分鐘，依所建立之方法進行5重複回收試驗，同時作空白試驗，計算5重複試驗間之平均回收率及變異係數(Coefficient of Variation, CV)，並選擇高濃度執行中間精密度之評估，計算10重複試驗間之變異係數。添加濃度與平均回收率及變異係數之規範參考歐盟SANTE/11312/2021⁽⁶⁾之規範，中間精密度則參考食藥署之食品化學檢驗方法之確效規範⁽⁷⁾，以評估本方法之準確性及重複性是否合乎規範。

十三、定量極限之評估

取茶葉檢體約2 g；取白米檢體約5 g；蔬果類檢體約10 g，精確稱定，分別加入適量標準溶液，依所建立之方法製備檢液並分析。以所設定之定量離子訊號S/N ratio ≥ 10 ，定性離子之S/N ratio ≥ 3 ，且其平均回收率與變異係數符合歐盟SANTE/11312/2021確效規範之最低添加量作為定量極限(Limit of Quantification, LOQ)。

結果與討論

一、質譜儀之最適分析條件

本研究利用電灑游離法配合MRM模式偵測，以LC-MS/MS分析對照用標準品，以訊號較強之產物離子為定量離子對，以訊號次高之產物離子為定性離子對，8項極性農藥及其代謝物之定量及定性離子對如表五。

二、層析管柱及條件之選擇

歐盟第12.2版QuPPe-PO方法⁽⁵⁾中所列出之層析管柱依分離原理主要分為三大類，一為佔多數的親水性作用液相層析(Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography, HILIC)；二

為以多孔石墨碳材質(carbon)組成的管柱進行分離；三則為陰離子交換層析(anion exchange chromatography)。由此文獻分析結果可看出，以HILIC分離的管柱包含Waters Anionic Polar Pesticide (APP) Column及Sielc Obelisc N可良好分離約13-14項極性農藥，另 Jonatan Dias等人⁽⁸⁾之研究結果亦表示使用APP層析管柱可獲得良好層析圖譜。參考歐盟文件⁽⁵⁾Method 1.6 b所列之層析條件及質譜參數，搭配1.2%甲酸之水溶液及含0.5%甲酸之乙腈溶液作為移動相，以高有機相轉換為高水相之梯度進行親水性分析物之層析分離，總層析時間共22分鐘。以LC-MS/MS分析，100 ng/mL之8項極性農藥及其代謝物之標準品層析圖譜如圖一，顯示8項極性農藥及其代謝物於此層析條件下可良好分離，其中嘉磷塞代謝物2 (N-acetyl-glyphosate)之波峰寬度較寬，約有2.5分鐘，其寬度與歐盟QuPPe文件⁽⁵⁾中呈現之圖譜相似。

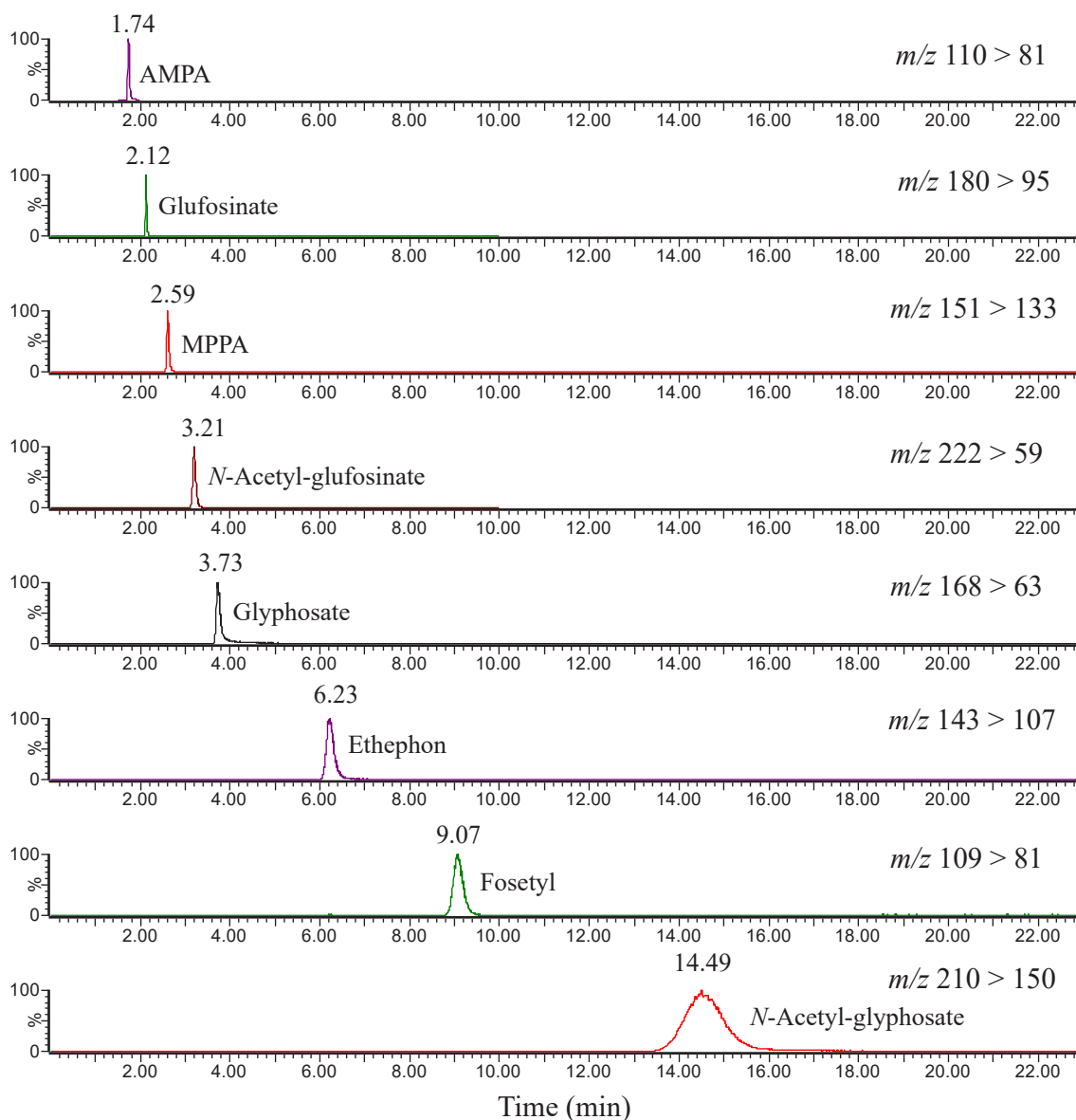
三、前處理流程之建立

本研究之前處理流程如圖二，係參考歐盟第12.2版QuPPe-PO⁽⁵⁾方法，依基質組成分為蔬果類、茶類、穀類及植物油類，萃取前先依據該文獻⁽⁵⁾Table 48調整檢體水分含量至10克，後續萃取過程於穀類基質，額外添加甲酸及10%之EDTA溶液，植物油類則考量其特性屬脂肪基質，故參考食藥署113年11月13日公開之「動物產品中極性農藥及其代謝物之多重殘留分析方法(TFDAP0033.00)」⁽⁹⁾中脂肪類基質之前處理流程。

四、基質效應評估

(-)8項極性農藥及其代謝物於4類農產品基質中之基質效應

8項極性農藥及其代謝物於4類農產品基質中之基質效應如表六，除菜籽油無基質效應外，益收生長素及福賽得於各基質中之基質效應為 $\pm 20\%$ 內，其餘6項農藥於3

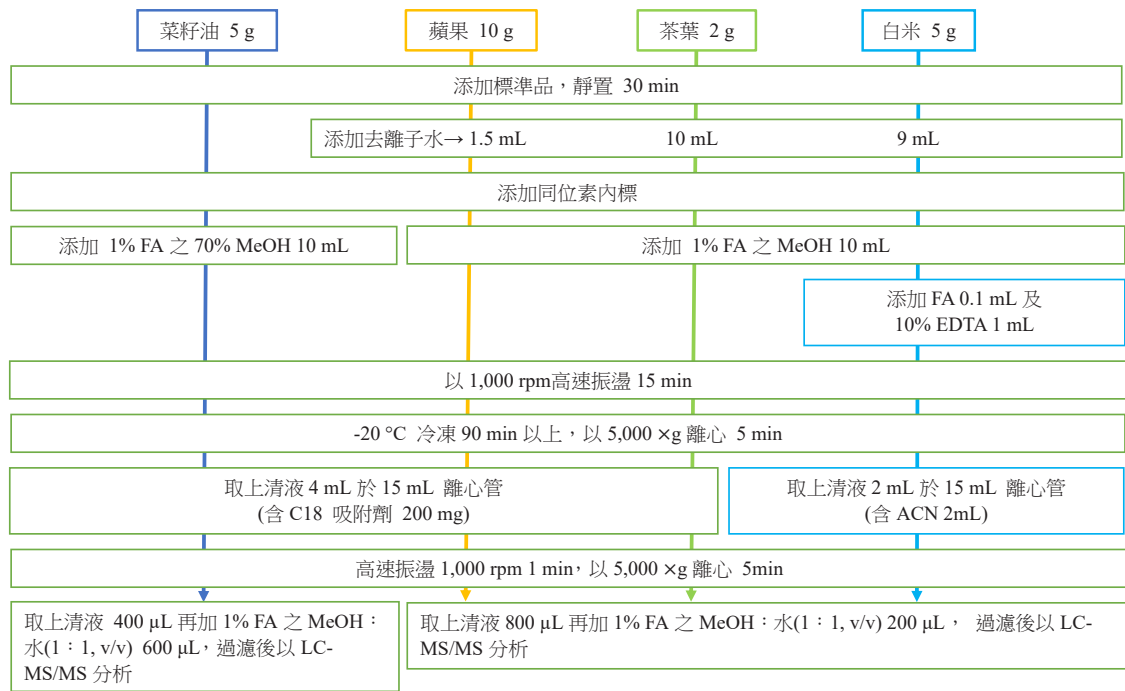


圖一、以LC-MS/MS分析100 ng/mL AMPA等8項極性農藥及其代謝物標準品之MRM層析圖譜

類農產品皆有不同程度之基質增強或抑制之現象。

(二)以6項同位素內部標準品校正後之極性農藥及其代謝物於3類農產品之基質效應
歐盟QuPPe文獻⁽⁵⁾中提到固殺草代謝物2

(N-Acetyl-glufosinate)之同位素內部標準品(N-Acetyl-glufosinate-d₃)可能透過水解轉換為固殺草而導致偽陽性；另該文獻也提到益收生長素(Ethephon)之同位素內部標準品(Ethephon-d₄)會轉換成亞磷酸，亦可



圖二、4類農產品基質中8項極性農藥及其代謝物多重殘留分析方法之前處理流程

表六、8項極性農藥及其代謝物於4類農產品之基質效應

No.	Compound	Matrix effects (%)				Matrix effects (%) ^a		
		Apple	Rice	Tea	Canola oil	Apple	Rice	Tea
1	Glyphosate	9.90	39.22	-23.68	0.35	0.13	1.63	-1.48
2	AMPA	-91.33	-37.07	-98.74	3.35	-17.25	-6.96	-12.71
3	<i>N</i> -Acetyl-glyphosate	30.34	41.24	34.29	2.88	-8.12	-4.04	-3.64
4	Glufosinate	-63.39	-3.52	-80.84	2.03	12.00	-0.36	3.29
5	MPPA	-5.56	18.52	-49.77	-0.34	-2.21	0.21	2.47
6	<i>N</i> -Acetyl-glufosinate	-1.87	11.21	-41.27	0.93	-	-	-
7	Ethephon	-7.15	12.06	-8.51	-0.56	-	-	-
8	Fosetyl	0.83	12.03	6.78	1.90	-5.98	-3.44	-4.46

^aCalibrated with isotope-labeled internal standards.

能影響定量。由於本研究以多重農藥模式進行探討，為避免造成固殺草及益收生長素之定量問題，故不使用固殺草代謝物2及益收生長素之同位素內部標準品進行後

續實驗。
添加0.05 mg/kg之6項同位素內部標準品於3類農產品基質中進行校正，結果如表六，基質效應皆小於 ± 20%，顯示以標

準曲線搭配6項同位素內標可有效校正基質效應。

五、確效試驗及定量極限

確效之添加濃度係綜合考量我國「農藥殘留容許量標準」，其中極性農藥之殘留容許量為0.05-100.0 ppm，因此，本研究之確效試驗以含6項內標之標準曲線進行蘋果、白米、茶葉及菜籽油等4種代表性農產品基質中8項極性農藥及其代謝物之添加回收試驗。製作0.002-0.2 µg/mL之標準曲線相關係數皆大於0.99，顯示於此濃度範圍之線性關係良好。4類農產品基質之平均回收率為55.4-133.4%，變異係數除茶葉中0.05 ppm之嘉磷塞代謝物1 (AMPA)為23.7%外，其餘皆小於14.3%，中間精密度皆小於17.6% (表七及表八)。

考量本研究為多重殘留分析方法，且極性農藥分析之困難度較大，其回收率之容許範圍可適度擴大，但重複性需良好，故另參考歐盟 SANTE 11312/2021⁽⁶⁾之確效規範，於重複性之變異係數小於20%之條件下，回收率範圍介於

30-140%亦符合該確效規範。

本研究8項極性農藥及其代謝物於蘋果之定量極限均為0.025 ppm；於白米之定量極限均為0.05 ppm；於茶葉中除AMPA定量極限為0.1 ppm外，其餘農藥之定量極限均為0.05 ppm；於菜籽油之定量極限為0.01 ppm，上述定量極限皆可滿足我國、歐盟及日本之農產品中待測標的極性農藥之殘留容許量標準。

六、以市售產品進行方法適用性驗證

為驗證本方法於市售農產品之適用性，本研究於大臺北地區之傳統市場、量販店、大賣場及網路平台等來源隨機購入9件產品，包括3件蔬果、5件穀類及乾豆類及1件茶葉，以所開發之方法檢驗前揭產品中8項極性農藥及其代謝物，結果均未檢出。

結 論

本研究所開發之農產品中極性農藥及其代謝物多重殘留分析方法，以含6項內標校正之

表七、8項極性農藥及其代謝物添加於蘋果及白米中之平均回收率、變異係數及定量極限

Compound	Apple						Rice					
	Intra-day ^a				Inter-day ^b		Intra-day ^a				Inter-day ^b	
	0.025 ppm		0.05 ppm		0.05 ppm		0.05 ppm		0.1 ppm		0.1 ppm	
	Rec. (%)	CV (%)	Rec. (%)	CV (%)	CV (%)	LOQ (ppm)	Rec. (%)	CV (%)	Rec. (%)	CV (%)	CV (%)	LOQ (ppm)
Glyphosate	106.4	2.8	105.2	1.6	1.3	0.025	102.3	4.0	103.6	5.4	5.6	0.05
AMPA	94.9	3.7	96.0	2.6	1.8	0.025	98.5	3.0	96.2	1.3	1.8	0.05
N-Acetyl-glyphosate	101.4	1.4	104.5	2.2	1.6	0.025	100.1	2.2	100.2	1.6	2.4	0.05
Glufosinate	107.6	3.9	106.7	2.1	2.9	0.025	108.6	3.6	107.5	2.1	2.2	0.05
MPPA	111.4	1.9	105.8	1.7	2.9	0.025	98.6	2.1	101.2	1.1	1.5	0.05
N-Acetyl-glufosinate ^c	86.1	2.3	87.6	3.5	10.3	0.025	100.6	1.6	97.4	2.3	2.5	0.05
Ethephon ^c	128.1	1.3	108.9	0.7	13.7	0.025	87.0	1.8	82.3	1.5	4.3	0.05
Fosetyl	97.0	1.2	102.5	1.6	1.8	0.025	87.7	3.9	87.8	1.5	1.9	0.05

^aN=5; ^bN=10.

^cNot calibrated with isotope-labeled internal standards.

表八、8項極性農藥及其代謝物添加於茶葉及菜籽油中之平均回收率、變異係數及定量極限

Compound	Tea						Canola oil					
	Intra-day ^a				Inter-day ^b		Intra-day ^a				Inter-day ^b	
	0.05 ppm		0.1 ppm		0.1 ppm		0.01 ppm		0.05 ppm		0.05 ppm	
	Rec. (%)	CV (%)	Rec. (%)	CV (%)	CV (%)	LOQ (ppm)	Rec. (%)	CV (%)	Rec. (%)	CV (%)	CV (%)	LOQ (ppm)
Glyphosate	103.3	4.9	102.2	3.6	3.0	0.05	133.4	6.4	99.3	4.5	4.7	0.01
AMPA	67.0	23.7	66.3	14.3	17.6	0.1	117.0	6.0	105.3	1.5	6.7	0.01
N-Acetyl-glyphosate	101.6	2.7	95.9	1.4	1.2	0.05	106.1	3.8	91.6	3.8	3.8	0.01
Glufosinate	103.0	4.0	99.2	2.4	4.3	0.05	115.6	4.6	111.7	2.9	7.8	0.01
MPPA	110.2	2.1	100.4	2.0	1.8	0.05	103.9	3.2	102.1	2.0	3.1	0.01
N-Acetyl-glufosinate ^c	55.7	6.2	55.4	4.4	4.8	0.05	108.5	4.7	104.2	1.1	5.0	0.01
Ethephon ^c	78.2	5.5	79.5	1.1	1.9	0.05	128.7	4.9	92.9	5.8	5.4	0.01
Fosetyl	95.3	4.8	92.5	2.2	2.5	0.05	98.9	5.0	83.7	3.2	2.9	0.01

^aN=5; ^bN=10.
^cNot calibrated with isotope-labeled internal standards.

標準曲線可同時分析蔬果類、穀類及乾豆類、茶類與植物油類共4類農產品中含嘉磷塞等8項極性農藥及其代謝物之含量，方法之定量極限於蘋果均為0.025 ppm，穀類及乾豆類均為0.05 ppm，茶葉類除嘉磷塞代謝物1 (AMPA)為0.1 ppm外，其餘均為0.05 ppm，植物油類定量極限均為0.01 ppm，不僅可滿足我國農產品中殘留容許量標準，亦可接軌多數國際標準。相較於食藥署現行公開之極性農藥檢驗方法，本研究方法前處理流程簡單，層析管柱於分析前不需耗時平衡，且由於動相不含鹽類，可降低鹽類對儀器損耗的風險，另，各農藥之滯留時間穩定，定量極限亦可滿足法規需求，大幅優化現行之極性農藥檢驗方法，後續將公開此檢驗方法，作為邊境查驗及後市場調查使用，以保障國人飲食安全。

參考文獻

1. 衛生福利部。2024。農藥殘留容許量標準。113年11月18日衛授食字第1131302967

號令修正。
2. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。食品中殘留農藥檢驗方法－極性農藥及其代謝物多重殘留分析方法(TFDAP0006.01)。110年9月11日公布修正。
3. 彭冠智、洪于淨、劉誌成、游蕎瑀等。2019。極性農藥及其代謝物多重殘留分析方法之精進及優化。衛生福利部食品藥物管理署108年度研究成果報告。
4. 彭冠智、洪于淨、游蕎瑀、劉玉婷等。2021。極性農藥及其代謝物多重殘留分析方法之精進及優化。衛生福利部食品藥物管理署110年度研究成果報告。
5. Anastassiades, M., Schäfer, A.K., Kolberg D. I., Eichhorn, E. *et al.* 2023. Quick method for the analysis of highly polar pesticides in food involving extraction with acidified methanol and LC or IC MS/MS measurement - I. food of plant origin (QuPPE PO Method) – Version 12.2. EURL-SRM.
6. European Commission Directorate General

- for Health and Food Safety. 2019. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Guidance SANTE 11312/2021 v2. [https://eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727]
7. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。食品化學檢驗方法之確效規範。110年11月1日公布修正。
 8. Dias, J., López, S.H., Mol, H. and KOK, A. 2021. Influence of different hydrophilic interaction liquid chromatography stationary phases on method performance for the determination of highly polar anionic pesticides in complex feed matrices. *J. Sep. Sci.* 44(11): 2165-2176.
 9. 衛生福利部食品藥物管理署。2024。動物產品中殘留農藥檢驗方法－極性農藥及其代謝物多重殘留分析方法 (TFDAP0033.00)。113年11月13日公布。

Development of the Multi-Residue Analytical Method for Polar Pesticides and their Metabolites in Foods

SHU-HAN YANG, YU-TING LIU, SHU-WEI LIN, YU-CHING HUNG,
SHU-HAN CHANG, YA-MIN KAO, MEI-CHIH LIN
AND SU-HSIANG TSENG

Division of Research and Analysis, TFDA, MOHW

ABSTRACT

This study developed a multi-residue analytical method for 8 polar pesticides and their metabolites in vegetables, fruits, grains, legumes, tea, and vegetable oils using a liquid chromatograph tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) with reference to the European Union's QuPPe (Quick Polar Pesticides) method. The target analytes included glyphosate, glyphosate metabolites [aminomethylphosphonic acid (AMPA) and *N*-acetyl-glyphosate], glufosinate-ammonium, glufosinate metabolites [3-(methylphosphinico)propionic acid (MPPA) and *N*-acetyl-glufosinate], ethephon, and fosetyl-Al. The sample preparation process involved adjusting water content based on the matrix, adding internal standards, extracting with methanol containing 1% formic acid (with 70% methanol for vegetable oil), freezing at -20°C for 90 minutes, subsequently purifying using acetonitrile or C18 adsorbents depending on matrix complexity, prior to LC-MS/MS analysis. The method employed an Anionic Polar Pesticide (APP) column with 1.2% formic acid and acetonitrile containing 0.5% formic acid as the mobile phase. Method validation was conducted through spiking 8 polar pesticides and their metabolites in four representative agricultural product matrices (apple, rice, tea, and canola oil), and constructing standard curves with 6 isotope-labeled internal standards. The method demonstrated average recoveries of 55.4-133.4% with coefficients of variation below 17.6%, except for AMPA in tea at 0.05 ppm (23.7%). These results meet the European Union SANTE/11312/2021 guidelines. The limits of quantification (LOQs) were satisfied with Taiwan's "Standards for Pesticide Residual Limits in Foods" requirements for polar pesticide residues (0.01-0.1 ppm) and aligned with international standards. This developed method used the APP column demonstrated reliable analysis of the 8 polar pesticides and their metabolites without the need for additional column equilibration. It is applicable for diverse food matrices across fruits, vegetables, grains, legumes, tea, and vegetable oil, contributing for routine inspection to ensure the public health and safety.

Key words: polar pesticides, metabolites, LC-MS/MS