

食品中殘留農藥檢驗方法—二·四地、四氣丹、蓋普丹及益發靈之檢驗(草案)  
Method of Test for Pesticide Residues in Foods –Test of 2,4-D, Captafol,  
Captan and Dichlofluanid

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二·四地(2,4-D)、四氣丹(Captafol)、蓋普丹(Captan)及益發靈(Dichlofluanid)之農藥殘留分析。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph /tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)及氣相層析串聯質譜儀(gas chromatograph/tandem mass spectrometer, GC/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：Atlantis T3<sup>®</sup>，3 μm，內徑 2.1 mm × 10 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 氣相層析串聯質譜儀：
      - 2.1.2.1. 離子源：電子撞擊游離(electron impact ionization, EI)。
      - 2.1.2.2. 層析管：VF-5MS 毛細管，內膜厚度 0.25 μm，內徑 0.25 mm × 30 m，或同級品。
    - 2.1.3. 攪拌均質器(Blender)。
    - 2.1.4. 粉碎機(Grinder)。
    - 2.1.5. 振盪器(Shaker)。
    - 2.1.6. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
    - 2.1.7. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。
  - 2.2. 試藥：丙酮採用殘留量級；乙酸乙酯、乙腈、甲醇及正己烷均採用液相層析級；醋酸銨及氯化鈉均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 MΩ·cm 以上)；二·四地、四氣丹、蓋普丹及益發靈對照用標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 廣口瓶：500 mL，PE 材質。
    - 2.3.2. 抽氣瓶：500 mL。

- 2.3.3. 布赫納漏斗(Buchner funnel)：直徑 11 cm。
- 2.3.4. 液/液萃取匣(Liquid/liquid extraction cartridge)：多孔性矽藻土，Varian Chem Elut cartridge，檢液負荷量 20 mL，附流速控制閥，或同級品。
- 2.3.5. 濃縮瓶：300 mL。
- 2.3.6. 濾膜：孔徑 0.22  $\mu\text{m}$ ，Nylon 材質。
- 2.3.7. 容量瓶：25 mL，褐色。
- 2.4. 試劑之調製：
- 2.4.1. 正己烷：丙酮(1:1, v/v)溶液：  
取正己烷與丙酮以 1:1 (v/v)比例混勻。
- 2.4.2. 20%氯化鈉溶液：  
稱取氯化鈉 20 g，以去離子水溶解使成 100 mL。
- 2.5. 移動相溶液之調製：
- 2.5.1. 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，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液 A。
- 2.5.2. 移動相溶液 B  
取甲醇 450 mL 與去離子水 50 mL 混合後，加入醋酸銨 0.19 g，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液 B。
- 2.6. 標準溶液之配製：
- 2.6.1. 取二·四地及益發靈對照用標準品各約 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°C 避光貯存。取適量標準原液混合後，以乙腈稀釋至 10  $\mu\text{g/mL}$ ，作為混合標準原液。臨用時，取適量混合標準原液以甲醇稀釋至 1  $\mu\text{g/mL}$ ，供作 LC/MS/MS 分析用標準溶液。
- 2.6.2. 取四氯丹及蓋普丹對照用標準品各約 25 mg，精確稱定，以丙酮溶解並定容至 25 mL，作為標準原液，於-18°C 避光貯存備用。取適量標準原液混合後，以正己烷：丙酮(1:1, v/v)溶液稀釋至 10  $\mu\text{g/mL}$ ，作為混合標準原液。臨用時，取適量混合標準原液以正己烷：丙酮(1:1, v/v)溶液稀釋至 1  $\mu\text{g/mL}$ ，供作 GC/MS/MS 分析用標準溶液。
- 2.7. 檢液之調製：

## 2.7.1. 萃取：

### 2.7.1.1. 蔬果類、香辛植物及其他草本植物(鮮食)<sup>(註)</sup>：

取均質後之檢體約 18 g，精確稱定，置於廣口瓶中，加入丙酮 70 mL，振搖萃取 3 分鐘，倒入附有濾紙之布赫納漏斗內，抽氣過濾入抽氣瓶，殘渣再以丙酮 30 mL 重複萃取 1 次，過濾後合併濾液，於 35°C 以下水浴減壓濃縮至無丙酮，加入 20% 氯化鈉溶液 2 mL，混合均勻後，供淨化用。

註：水分含量 < 80 % 之蔬果檢體，可酌量添加適當水分 2~5 mL 以利萃取。

### 2.7.1.2. 穀類及乾豆類：

取磨粉後之檢體約 9 g，精確稱定，置於廣口瓶中，加去離子水 18 mL，靜置 20 分鐘，加入丙酮 70 mL，振搖萃取 3 分鐘，倒入附有濾紙之布赫納漏斗內，抽氣過濾入抽氣瓶，殘渣再以丙酮 30 mL 重複萃取 1 次，過濾後合併濾液，於 35°C 以下水浴減壓濃縮至無丙酮，加入 20% 氯化鈉溶液 2 mL，混合均勻後，供淨化用。

### 2.7.1.3. 茶類、香辛植物及其他草本植物(乾燥)：

取磨粉後之檢體約 2 g，精確稱定，置於廣口瓶中，加去離子水 18 mL，靜置 20 分鐘，加入丙酮 70 mL，振搖萃取 3 分鐘，倒入附有濾紙之布赫納漏斗內，抽氣過濾入抽氣瓶，殘渣再以丙酮 30 mL 重複萃取 1 次，過濾後合併濾液，於 35°C 以下水浴減壓濃縮至無丙酮，加入 20% 氯化鈉溶液 2 mL，混合均勻後，供淨化用。

## 2.7.2. 淨化：

取 2.7.1. 節供淨化用溶液，注入液/液萃取匣，靜置 20 分鐘。以乙酸乙酯 80 mL 分次溶洗濃縮瓶，洗液注入液/液萃取匣進行沖提，流速控制為每分鐘約 3~5 mL，收集沖提液，於 35°C 以下水浴減壓濃縮至乾，殘留物以正己烷：丙酮(1:1, v/v)溶液溶解並定容至 5 mL (V)，供作檢液原液(I)。取檢液原液(I) 1 mL，以氮氣吹至剛乾，以甲醇溶解並定容至 1 mL，供作檢液原液(II)，取 200  $\mu$ L 與甲醇 800  $\mu$ L，混合均勻，經濾膜過濾後，以 LC/MS/MS 分析。另取檢液原液(I) 500  $\mu$ L 與正己烷：丙酮(1:1, v/v)溶液 500  $\mu$ L，混合均勻，經濾膜過濾後，以 GC/MS/MS 分析。

## 2.8. 鑑別試驗：

## 2.8.1. LC/MS/MS：

精確量取檢液及標準溶液各 10  $\mu\text{L}$ ，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就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<sup>(註1)</sup>鑑別之。

液相層析串聯質譜分析測定條件<sup>(註2)</sup>：

層析管：Atlantis T3<sup>®</sup>，3  $\mu\text{m}$ ，內徑 2.1 mm  $\times$  10 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 $\rightarrow$ 10.0	100 $\rightarrow$ 0	0 $\rightarrow$ 100
10.0 $\rightarrow$ 20.0	0 $\rightarrow$ 0	100 $\rightarrow$ 100
20.0 $\rightarrow$ 20.1	0 $\rightarrow$ 100	100 $\rightarrow$ 0
20.1 $\rightarrow$ 25.0	100 $\rightarrow$ 100	0 $\rightarrow$ 0

移動相流速：0.25 mL/min。

毛細管電壓(Capillary voltage)：

電灑離子化正離子( $\text{ESI}^+$ )採用 3.2 kV，

電灑離子化負離子( $\text{ESI}^-$ )採用 0.6 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：100 $^{\circ}\text{C}$ 。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：350 $^{\circ}\text{C}$ 。

進樣錐氣體流速(Cone gas flow)：50 L/hr。

溶媒揮散流速(Desolvation flow)：700 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子、進樣錐電壓(cone voltage)、碰撞能量(collision energy)及電灑離子化模式如下表。

分析物	離子化 模式	前驅離子( $m/z$ ) > 產物離子( $m/z$ )	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)
二·四地 (2,4-D)	$\text{ESI}^-$	219 > 161*	15	20
		221 > 163	15	20
益發靈 (Dichlofluanid)	$\text{ESI}^+$	333 > 224*	21	11
		333 > 123	21	26

\*定量離子對

## 2.8.2. GC/MS/MS :

精確量取檢液及標準溶液各 1  $\mu\text{L}$ ，分別注入氣相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就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<sup>(註1)</sup>鑑別之。

氣相層析串聯質譜分析測定條件<sup>(註2)</sup>：

層析管：VF-5MS 毛細管，內膜厚度 0.25  $\mu\text{m}$ ，內徑 0.25 mm  $\times$  30 m。

層析管溫度：初溫：100 $^{\circ}\text{C}$ ，2 min；

溫度上升速率：8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；

終溫：300 $^{\circ}\text{C}$ ，5 min。

移動相流速：氦氣，1 mL/min。

注入器溫度(Injector temperature)：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

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：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

偵測模式：多重反應偵測。偵測離子對及碰撞能量如下表：

分析物	前驅離子( $m/z$ ) 產物離子( $m/z$ )	碰撞能量 (eV)
四氯丹(Captafol)	183>78.6*	25
	149>105.4	7
蓋普丹(Captan)	149>79*	15
	149>105	5

\*定量離子對

註：1. 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( $\leq 100\%$ )，容許範圍如下：

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

2. 上述測定條件分析不適時，依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

## 2.9. 含量測定：

## 2.9.1. LC/MS/MS :

## 2.9.1.1. 基質匹配檢量線法(Matrix-matched calibration curve)

取空白檢體，依 2.7.節調製空白檢液原液(II)，分別量取 200  $\mu\text{L}$  (a)，分別加入 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  標準溶液 5~500  $\mu\text{L}$ ，再加入甲醇使成 1000  $\mu\text{L}$  (b)，混合均勻，依 2.8.1.節條件進行分析。就定量離子波峰面積與對應之濃度，製作成 0.005~0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之基質匹配檢量線，並依下列計算式求得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：由各農藥之基質匹配檢量線求得檢液中各農藥之濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

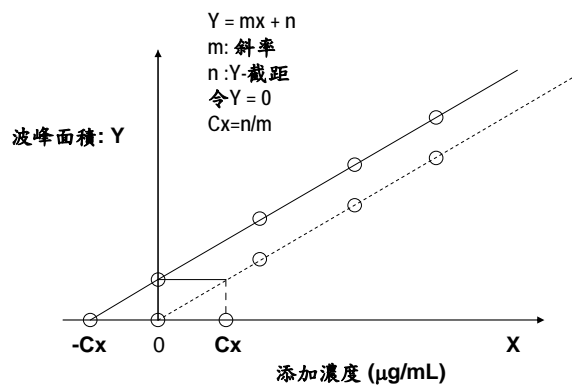
V：檢體定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

## 2.9.1.2. 標準品添加法(Standard addition)：

量取檢液原液(II) 200  $\mu\text{L}$  (a)，分別加入 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  標準溶液 0~400  $\mu\text{L}$ ，再加入甲醇使體積為 1000  $\mu\text{L}$  (b)，混合均勻，使添加農藥濃度為 0~0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，依 2.8.1.節條件進行分析。以定量離子波峰面積與添加濃度製作線性迴歸曲線  $y=mx + n$  (如圖一)，並依下列計算式求得檢體中各農藥之含量(ppm)：



圖一、標準品添加法線性迴歸曲線

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

C：檢液中各農藥之濃度，由 n/m 求得( $\mu\text{g/mL}$ )

V：檢體定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

## 2.9.2. GC/MS/MS：

### 2.9.2.1. 基質匹配檢量線法(Matrix-matched calibration curve)

取空白檢體，依 2.7 節調製空白檢液原液(I)，分別量取 500  $\mu\text{L}$  (a)，分別加入 1  $\mu\text{g/mL}$  標準溶液 5~500  $\mu\text{L}$ ，再加入正己烷：丙酮(1:1, v/v)溶液使成 1000  $\mu\text{L}$  (b)，混合均勻，依 2.8.2 節條件進行分析。就定量離子波峰面積與對應之濃度，製作成 0.005~0.5  $\mu\text{g/mL}$  之基質匹配檢量線，並依下列計算式求得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：由各農藥之基質匹配檢量線求得檢液中各農藥之濃度( $\mu\text{g/mL}$ )

V：檢體定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

### 2.9.2.2. 標準品添加法(Standard addition)：

量取檢液原液(I) 500  $\mu\text{L}$  (a)，分別加入 1  $\mu\text{g/mL}$  標準溶液 0~400  $\mu\text{L}$ ，再加入正己烷：丙酮(1:1, v/v)溶液使體積為 1000  $\mu\text{L}$  (b)，混合均勻，使添加農藥濃度為 0~0.4  $\mu\text{g/mL}$ ，依 2.8.2 節條件進行分析。以定量離子波峰面積與添加濃度製作線性迴歸曲線  $y = mx + n$  (如圖一)，並依下列計算式求得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：檢液中各農藥之濃度，由 n/m 求得( $\mu\text{g/mL}$ )

V：檢體定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

附註：

1. 本檢驗方法之定量極限除茶類、香辛植物及其他草本植物(乾燥)

外，二·四地為 0.02 ppm，四氯丹為 0.05 ppm，蓋普丹為 0.01 ppm，益發靈為 0.01 ppm；茶類、香辛植物及其他草本植物(乾燥)之定量極限則為前述個別農藥數值之 5 倍。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。