

禽畜產品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析方法

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

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於禽畜產品之肌肉及內臟中60項農藥多重殘留分析。
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)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：Acquity UPLC[®] HSS T3，1.8 μm ，內徑2.1 mm \times 10 cm，或同級品。
 - 2.1.1.3. 保護管柱：Acquity UPLC[®] HSS T3，1.8 μm ，內徑2.1 mm \times 5 mm，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：HP-5MS UI毛細管，內膜厚度0.25 μm ，內徑0.25 mm \times 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. 高速組織研磨振盪均質機(SPEX SamplePrep 2010 GenoGrinder[®])：1000 rpm以上，或同級品。
 - 2.1.6. 離心機(Centrifuge)：可達4000 $\times g$ 以上，控制溫度可達15 $^{\circ}\text{C}$ 以下者。
 - 2.1.7. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。
 - 2.2. 試藥：

冰醋酸、甲酸及醋酸銨均採試藥特級；正己烷及丙酮均採用殘留量級；乙腈及甲醇均採液相層析級；無水醋酸鈉、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 M $\Omega\cdot\text{cm}$ 以上)；農藥對照用標準品毆殺松(acephate)等60項(品項見表一、表二及表三)；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 μm ，PVDF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)^(註1)：採用Bond Elut QuEChERS P/N 5982-9313，或同級品。

2.3.5. 萃取用粉劑^(註2)：含無水硫酸鎂4 g及無水醋酸鈉1 g。

2.3.6. 淨化用離心管^(註2)：含PSA 375 mg、無水硫酸鎂750 mg、C18 EC 250 mg及GCB 45 mg，檢液負荷量5 mL。

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. 移動相溶液之調製：

2.4.1. 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及甲酸1 mL，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

2.4.2. 移動相溶液B：

取甲醇500 mL，加入醋酸銨0.19 g，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

2.5. 內部標準溶液之配製：

取磷酸三苯酯內部標準品約40 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-18°C避光貯存。

2.5.1. 取適量內部標準原液，以甲醇稀釋至75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作2.8.節檢液調製使用之內部標準溶液。

2.5.2. 取適量內部標準原液，以甲醇稀釋至7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作2.9.1.節LC/MS/MS分析用之內部標準溶液。

2.5.3. 取適量內部標準原液，以丙酮稀釋至7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作2.9.2.節GC/MS/MS分析用之內部標準溶液。

2.6. 試劑之調製：

2.6.1. 含1%醋酸之乙腈溶液：

取冰醋酸10 mL與乙腈990 mL混合均勻。

2.6.2. 丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液：

取丙酮與正己烷以1：1 (v/v)比例混勻。

2.7. 標準溶液之配製：

2.7.1. 取農藥對照用標準品各約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。取適量標準原液以甲醇稀釋至1 µg/mL，供作2.9.1.節LC/MS/MS分析用標準溶液。

2.7.2. 取農藥對照用標準品各約25 mg，精確稱定，以丙酮或正己烷溶解並定容至25 mL，作為標準原液，於-18°C避光貯存。取適量標準原液以丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液稀釋至1 µg/mL，供作2.9.2.節GC/MS/MS分析用標準溶液。

2.8. 檢液之調製：

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%醋酸之乙腈溶液10 mL及75 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，再以高速組織研磨振盪均質機於1000 rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，4000 ×g離心1分鐘。取上清液5 mL，避免取到油層，置於淨化用離心管，以高速組織研磨振盪均質機以1000 rpm振盪或以手激烈振盪1分鐘後，於15°C，4000 ×g離心5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，混合均勻，經濾膜過濾，供作檢液I，以LC/MS/MS分析。另取上清液1 mL，以氮氣吹至剛乾，殘留物以丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液1 mL溶解，混合均勻，經濾膜過濾，供作檢液II，以GC/MS/MS分析。

2.9. 基質匹配檢量線之製作：

2.9.1. LC/MS/MS：

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，分別加入適量甲醇、1 µg/mL標準溶液5~200 µL及7.5 µg/mL內部標準溶液^(註3) 10 µL，使體積為1 mL，混合均勻。依下列條件進行分析，就各農藥與內部標準品之波峰面積比，與對應之濃度，製作0.005~0.2 µg/mL之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註4)：

保護管柱：Acquity UPLC[®] HSS T3，1.8 µm，內徑2.1 mm × 5 mm。

層析管：ACQUITY UPLC[®] HSS T3，1.8 µm，內徑2.1 mm × 10 cm。

層析管溫度：30°C。

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 → 10.0	30 → 1	70 → 99
10.0 → 13.0	1 → 1	99 → 99
13.0 → 13.5	1 → 99	99 → 1
13.5 → 15.0	99 → 99	1 → 1

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：10 μ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：

電灑離子化正離子(ESI⁺)採用3.5 kV，

電灑離子化負離子(ESI⁻)採用1.6 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：150°C。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：450°C。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。離子對、進樣錐電壓 (cone voltage) 與碰撞能量 (collision energy) 如表一及表二。

2.9.2. GC/MS/MS：

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，分別加入適量丙酮：正己烷(1:1, v/v)、1 μ g/mL標準溶液5~200 μ L及7.5 μ g/mL內部標準溶液^(註3) 10 μ L，使體積為1 mL，混合均勻。依下列條件進行分析，就各農藥與內部標準品之波峰面積比，與對應之濃度，製作0.005~0.2 μ g/mL之基質匹配檢量線。

氣相層析串聯質譜分析測定條件^(註4)：

層析管：HP-5MS UI毛細管，內膜厚度0.25 μ m，內徑0.25 mm \times 30 m。

層析管溫度：初溫：60°C，1 min；

升溫速率：40°C/min；

中溫：170°C；

升溫速率：10°C/min；

終溫：310°C，2.25 min。

移動相氮氣流速：1 mL/min。

注入量：1 μ L。

注入器溫度(Injector temperature)：280°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：280°C。

偵測模式：多重反應偵測，偵測離子對及碰撞能量如表三。

註3：內部標準品回收率建議可當作品管樣品評估。

註4：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：

2.10.1. LC/MS/MS

精確量取檢液I及標準溶液各10 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.9.1.節條件進行分析。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^(註5)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%醋酸之乙腈溶液體積(10 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

2.10.2. GC/MS/MS

精確量取檢液II及標準溶液各1 µL，分別注入氣相層析串聯質譜儀中，依2.9.2.節條件進行分析。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^(註5)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%醋酸之乙腈溶液體積(10 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註5：相對離子強度由定性離子對與定量離子對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

$> 10 \sim 20$	± 30
≤ 10	± 50

附註：1. 本檢驗方法之定量極限如表一、表二及表三。

2. 本檢驗方法所列品項可依需求評估以GC/MS/MS或LC/MS/MS分析。

3. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. Lehotay, S. J., Maštovská, K. and Yun, S. J. 2005. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. J. AOAC Int. 88: 630-638.
2. European Committee for Standardization. 2009. Food of plant origin-determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE- QuEChERS-method. DIN EN 15662: 2009-02 (English version).

表一、毆殺松等23項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及定量極限(LC/MS/MS正離子模式)

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
1	Acephate	毆殺松	184 > 143	11	8	184 > 125	11	18	0.01	0.01
2	Aldicarb	得滅克	208 > 89	10	20	208 > 116	10	8	0.01	0.01
3	Bendiocarb	免敵克	224 > 167	20	8	224 > 109	20	18	0.01	0.05
4	Carbaryl	加保利	202 > 145	22	22	202 > 117	22	28	0.01	0.01
5	Carbendazim	貝芬替	192 > 160	27	18	192 > 132	27	28	0.01	0.01
6	Carbofuran	加保扶	222 > 165	34	16	222 > 123	34	16	0.01	0.05
7	Clofentezine	克芬蟎	303 > 138	22	22	303 > 102	22	35	0.05	0.05
8	Fenthion	芬殺松	279 > 247	30	12	279 > 169	30	18	0.01	0.01
9	Flusilazole	護矽得	316 > 165	32	26	316 > 247	32	16	0.01	0.01
10	Mecarbam	滅加松	330 > 227	21	8	330 > 97	21	35	0.01	0.01
11	Methiocarb	滅賜克	226 > 169	22	10	226 > 121	22	22	0.01	0.01
12	Methoprene	美賜平	279 > 81	24	24	279 > 95	24	22	0.01	0.01
13	Monocrotophos	亞素靈	224 > 127	20	16	224 > 98	20	12	0.01	0.01
14	Phoxim	巴賽松	299 > 129	20	11	299 > 153	20	7	0.01	0.01
15	Pirimicarb	比加普	239 > 72	28	18	239 > 182	28	15	0.01	0.01
16	Prochloraz	撲克拉	376 > 308	17	11	376 > 266	17	14	0.01	0.01
17	Propargite	毆蟎多	368 > 231	15	11	368 > 175	15	17	0.01	0.01
18	Propoxur	安丹	210 > 111	15	16	210 > 168	15	10	0.01	0.01
19	Spinosad A	賜諾殺 A	733 > 142	50	31	733 > 98	50	59	0.01	0.01
20	Spinosad D	賜諾殺 D	747 > 142	51	31	747 > 98	51	53	0.01	0.01

表一、毆殺松等 23 項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及定量極限(LC/MS/MS 正離子模式)(續)

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
21	Thiabendazole	腐絕	202 > 175	45	25	202 > 131	45	30	0.05	0.01
22	Trichlorfon	三氯松	257 > 109	22	18	257 > 79	22	30	0.01	0.01
23	Thiophanate-methyl	甲基多保淨	343 > 151	40	27	343 > 268	40	17	0.01	0.01
I.S.	Triphenylphosphate	磷酸三苯酯	327 > 77	40	35	-	-	-	-	-

表二、二福隆農藥之多重反應偵測模式參數及定量極限(LC/MS/MS 負離子模式)

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
1	Diflubenzuron	二福隆	309 > 289	-20	-10	309 > 156	-20	-10	0.01	0.01

表三、阿特靈等 36 項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及定量極限(GC/MS/MS)

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)	碰撞能量 (eV)	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	碰撞能量 (eV)	肌肉	內臟
1	Aldrin	阿特靈	263 > 193	35	263 > 228	20	0.01	0.01
2	Chlorfenvinphos	克芬松	267 > 159	20	323 > 267	15	0.01	0.01
3	Chlorpyrifos	陶斯松	314 > 258	15	314 > 286	10	0.01	0.01
4	cis-Chlordane	cis-可氣丹	373 > 266	20	373 > 301	10	0.01	0.01
5	Chlorpyrifos-methyl	甲基陶斯松	286 > 93	20	286 > 271	15	0.01	0.01
6	Cypermethrin	賽滅寧	163 > 127	5	181 > 152	20	0.01	0.01
7	o,p'-DDT	o,p'-滴滴涕	235 > 165	15	235 > 199	15	0.01	0.01
8	Deltamethrin	第滅寧	253 > 93	20	253 > 172	10	0.01	0.01
9	Diazinon	大利松	304 > 179	10	179 > 137	15	0.01	0.01
10	Dimethipin	穫萎得	118 > 58	5	124 > 76	5	0.01	0.01
11	Edifenphos	護粒松	173 > 109	10	310 > 173	15	0.01	0.01
12	alpha-Endosulfan	α-安殺番	241 > 206	15	241 > 170	25	0.01	0.01
13	beta-Endosulfan	β-安殺番	195 > 159	10	241 > 206	15	0.01	0.01
14	Endosulfan-sulfate	安殺番代謝物	272 > 237	15	387 > 253	10	0.01	0.01
15	Endrin	安特靈	263 > 193	25	263 > 228	20	0.01	0.01
16	Ethion	愛殺松	231 > 129	25	231 > 175	15	0.01	0.01
17	Etrimfos	益多松	292 > 181	10	292 > 153	20	0.01	0.01
18	Fenitrothion	撲滅松	277 > 109	20	277 > 260	10	0.01	0.01
19	Fensulfothion	繁福松	156 > 141	10	292 > 109	15	0.01	0.01
20	Fenvalerate	芬化利	167 > 125	10	125 > 89	20	0.01	0.01

表三、阿特靈等 36 項農藥及內部標準品之多重反應偵測模式參數及定量極限(GC/MS/MS)(續)

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)	碰撞能量 (eV)	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	碰撞能量 (eV)	肌肉	內臟
21	Heptachlor	飛佈達	272 > 237	15	237 > 167	30	0.01	0.01
22	Isofenphos	亞芬松	213 > 121	15	213 > 185	10	0.01	0.01
23	Lindane	靈丹	181 > 145	15	219 > 183	10	0.01	0.01
24	Methacrifos	滅克松	125 > 79	5	208 > 93	15	0.01	0.01
25	Methidathion	滅大松	145 > 85	10	145 > 58	15	0.01	0.01
26	Permethrin	百滅寧	183 > 153	15	163 > 127	5	0.01	0.05
27	Phenthoate	賽達松	274 > 121	10	274 > 246	10	0.01	0.01
28	Phorate	福瑞松	121 > 93	5	260 > 75	10	0.01	0.01
29	Phosalone	裕必松	182 > 111	15	182 > 138	10	0.01	0.01
30	Phosmet	益滅松	160 > 133	10	160 > 105	15	0.01	0.01
31	Pirimiphos-methyl	亞特松	290 > 125	20	290 > 151	20	0.01	0.01
32	Propiconazole	普克利	173 > 145	15	259 > 69	10	0.01	0.01
33	Terbufos	托福松	231 > 175	15	231 > 157	20	0.01	0.01
34	trans-Chlordane	trans-可氣丹	373 > 266	20	373 > 301	10	0.01	0.01
35	Triadimefon	三泰芬	208 > 181	10	208 > 111	20	0.01	0.01
36	Vinclozolin	免克寧	212 > 145	25	285 > 212	10	0.01	0.01
I.S.	Triphenylphosphate	磷酸三苯酯	326 > 169	30	-	-	-	-