

# 台灣東部地區市售柑橘類水果及其果汁中 二、四地之殘留量

徐錦豐 洪達朗

行政院衛生署藥物食品檢驗局東部檢驗站

## 摘 要

本調查首先針對台灣東部地區市售柑橘類水果及其果汁中二、四地(2,4-D)殘留量之檢驗作探討,發現柑橘類水果取20g,添加1N硫酸5ml後,以丙酮萃取濃縮,再以二氯甲烷萃取濃縮;果汁則取100g添加1N硫酸5ml,食鹽10g後,以醋酸乙酯萃取濃縮。上述濃縮液再以甲醇定容行衍生化,可節省濃縮之時間及免除淨化之過程,最後以氣相層析儀分析定量。柑橘類水果檢體中添加1.0、2.0及4.0 $\mu\text{g/g}$ 之二、四地或果汁檢體中添加0.20、0.40及0.80 $\mu\text{g/g}$ 之二、四地時,其回收率分別為柑橘類水果88.2-92.3%,果汁90.3-94.5%,變異係數皆小於10%。本方法對柑橘類水果的最低檢出量為0.10 $\mu\text{g/g}$ ,柑橘類果汁為0.02 $\mu\text{g/g}$ 。

依此方法抽驗市售柑橘類水果及其果汁中二、四地農藥之殘留情形,於八十三年度自宜蘭、花蓮、臺東三縣市抽購葡萄柚25件、柳丁25件,檢驗結果均未驗出( $\leq 0.10\mu\text{g/g}$ )。檸檬20件中雖有2件之殘留量為0.28與0.42ppm,但均仍未超過衛生署公告之殘留農藥安全容許量標準2ppm。至於葡萄柚汁15件、柳橙汁15件及檸檬汁15件,則均未檢出( $\leq 0.02\mu\text{g/g}$ )。顯示市售柑橘類水果及其果汁均無超量之二、四地農藥殘留。

## 前 言

柑橘類水果之生產具季節性,然而目前消費者往往可以在傳統市場或超級市場購買到非生產季節之此類水果,這除歸功於冷藏設備之更新外,農藥之噴灑、浸漬或防腐劑之添加,是促使柑橘類水果貯藏時間得以延長之主因。農民為增加產量,減少病蟲害之損失,往往在收穫前或收穫後,施以農藥或防腐劑<sup>(1)</sup>。但各國為保護消費者之健康,均定有其使用之限量<sup>(2)</sup>。如我國目前允許二、四地(2,4-D)農藥在柑橘類水果中殘留限量,其安全容許量為2.0ppm<sup>(3)</sup>。

二、四地(2,4-dichlorophenoxy acetic acid, 2,4-D),屬苯氧族(phenoxy family),具有酸性,外觀呈無色結晶,與鹼土金屬結合成易溶於水之物質

<sup>(4)</sup>,其毒性方面,會腐蝕皮膚,侵害眼睛與損壞腎臟及呼吸道<sup>(5)</sup>,對老鼠之急性口服半致死量(LD<sub>50</sub>)為375mg/Kg<sup>(4)</sup>。二、四地原本施用於水田、旱田,作為除草劑或植物之生長調節劑<sup>(6,7,8,9,10)</sup>,目前則被應用在噴灑於收穫後之柑橘類上當防腐劑,以維持產品之品質<sup>(10)</sup>。為維持柑橘類水果在非生產季節時之供應,使用二、四地之量可能超量,而使產品殘留過量。為了解市售柑橘類水果是否殘留超量之二、四地,乃進行本調查。至於市售柑橘類果汁則由成熟之柑橘類水果壓榨而得,農藥有可能殘存於果汁中或隨壓榨之過程將果皮殘存之農藥流入果汁中,因此柑橘類果汁中二、四地之殘留量,亦一併列入調查。

目前應用於柑橘類水果中二、四地殘留量之檢驗方法,有行政院衛生署公告食品中殺草劑二、四地農藥殘留量檢驗方法<sup>(11)</sup>、日本Sekita等人<sup>(8)</sup>之方

Journal of Food and Drug Analysis. 1995. 3(2)

法與Tonogai等人<sup>(10)</sup>之檢驗方法。本實驗乃首先探討檢驗方法之改進，並就果汁之檢驗法一併列入，進而依所建立之方法調查市售柑橘類水果及其果汁中二、四地之殘留量。

## 材料與方法

### 一、檢體

本研究調查所使用之檢體係82年7月至83年6月間宜蘭縣、花蓮縣、臺東縣三縣市抽購，其中包括葡萄柚25件、柳丁25件、檸檬20件、葡萄柚汁15件、柳橙汁15件及檸檬汁15件，共計115件。抽購後之檢體攜回實驗室以冷藏於6°C備用。

### 二、試藥

甲醇(Lab Scan Analytical Science LC級);正己烷、二氯甲烷、醋酸乙酯、氯化鈉及無水硫酸鈉(和光試藥特級);硫酸(E. Merck);丙酮(皓峰試藥特級);二、四地標準品購自Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland。

### 三、標準溶液之調製

取二、四地標準品100mg，溶於丙酮使成100ml，供作標準原液，再以丙酮稀釋至0.5、1.0、2.0、4.0及6.0ppm等五種濃度供作標準溶液。

### 四、衍生化反應

分別各取標準溶液1ml置於離心管中，再以甲醇定容至5ml，加入濃硫酸一滴，於70°C水浴上加熱二小時，以無水硫酸鈉脫水，氮氣吹乾後，分別以正己烷定容至1ml<sup>(11)</sup>。

### 五、檢驗方法

柑橘類水果：

稱取切碎後之含果皮、果肉柑橘類水果20g，置入攪拌均質器內，加入1N硫酸5ml，丙酮100ml，高速攪拌1分鐘後，倒入附有濾紙之別區奈氏漏斗內，抽氣過濾入抽氣瓶中，殘渣再以丙酮100ml萃取，合併濾液，於40°C水浴中減壓濃縮去除丙酮，再以二氯甲烷100ml分次洗濃縮瓶，洗液倒入分液漏斗中，加10%氯化鈉溶液100ml，振盪5分鐘後，靜置分層，收集二氯甲烷層，水層再以二氯甲烷100ml萃取一次，合併二氯甲烷層，再以無水硫酸鈉脫水過濾，於40°C水浴中減壓濃縮至約2ml，加入甲醇洗濃縮瓶並定容至20ml，取5ml加濃硫酸一滴，進

行上述之衍生化反應，反應後以氮氣吹乾，後以正己烷定容至5ml，供作檢液。

柑橘類果汁：

稱取柑橘類果汁100g，倒入分液漏斗中，加1N硫酸5ml，氯化鈉10g與醋酸乙酯100ml，振盪5分鐘後，靜置分層，收集醋酸乙酯層，水層再以醋酸乙酯100ml萃取一次，合併醋酸乙酯層，再以飽和食鹽水100ml水洗醋酸乙酯，取醋酸乙酯層，以無水硫酸鈉脫水過濾，於40°C水浴中減壓濃縮至約2ml，加入甲醇洗濃縮瓶並定容至20ml，取5ml加濃硫酸一滴，同樣進行上述之衍生化反應，反應後以氮氣吹乾，後以正己烷定容至5ml，供作檢液。

### 六、定量操作

(一)儀器與設備

層析儀：Varian 3700氣相層析儀

檢出器：ECD(電子捕捉檢出器)

層析管：30m×0.554mm Megabore DB-608 (J&W Scientific)石英毛細層析管

積分儀：Chromjet Integrater

(二)氣相層析條件

管柱溫度：180°C

注入器及檢出器溫度：250°C

攜帶氣體：氮氣

流速：10ml/min

(三)標準曲線之繪製

上述五種不同濃度之標準溶液行衍生化反應後，各精確量取2μl，分別注入氣相層析儀，每一濃度作三重覆，由波峰所得平均面積及標準溶液之濃度繪製標準曲線。

(四)鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液各2μl，分別注入氣相層析儀，就檢液所得波峰之滯留時間，分別與標準溶液比較鑑別。並由檢液所得之波峰面積與標準曲線比較，求出檢液中二、四地之濃度，再以下式換算成檢體中二、四地之含量：

檢體中二、四地含量ppm

$$= \frac{(\text{檢液濃度 } C_{\mu\text{g/ml}}) \times (\text{檢液體積 } 5\text{ml})}{\text{檢體重量 } W\text{g}} \times \frac{20}{5}$$

式中C為檢液由檢量線求得之濃度(μg/ml);W為檢體重量(g)。

### 七、回收試驗

取20g經均質後之柑橘類水果三份，分別添加二、四地標準溶液，使其濃度分別為1.0、2.0及4.0μg/g;果汁檢體則取100g三份，分別添加二、四地標準

溶液，使其濃度分別為0.20、0.40及0.80 $\mu\text{g/g}$ ，以上每一濃度作三重覆，同時作空白試驗，其檢驗和定量如上所述，所得之資料以平均值及變異係數表示。

## 結果與討論

### 一、氣相層析儀之檢測圖譜

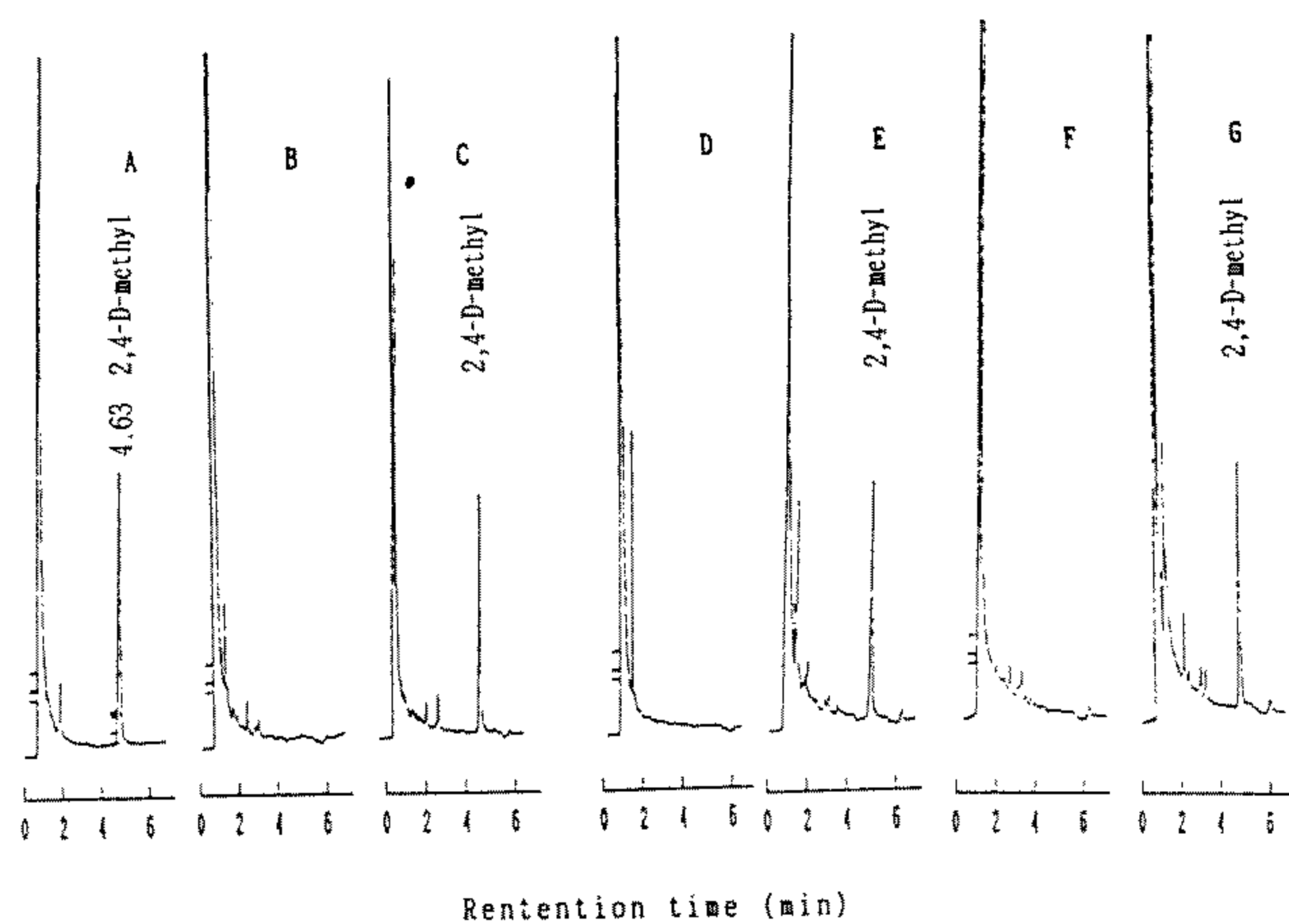
二、四地標準溶液，經衍生化後之層析圖譜如圖一A，可知二、四地甲基酯之滯留時間為4.6分鐘，層析效果良好。柑橘類水果及其果汁檢體添加二、四地標準溶液依上述方法分析，亦可得相當滿意之層析圖譜(圖一、二)。

### 二、檢體前處理之探討

#### (一)柑橘類水果

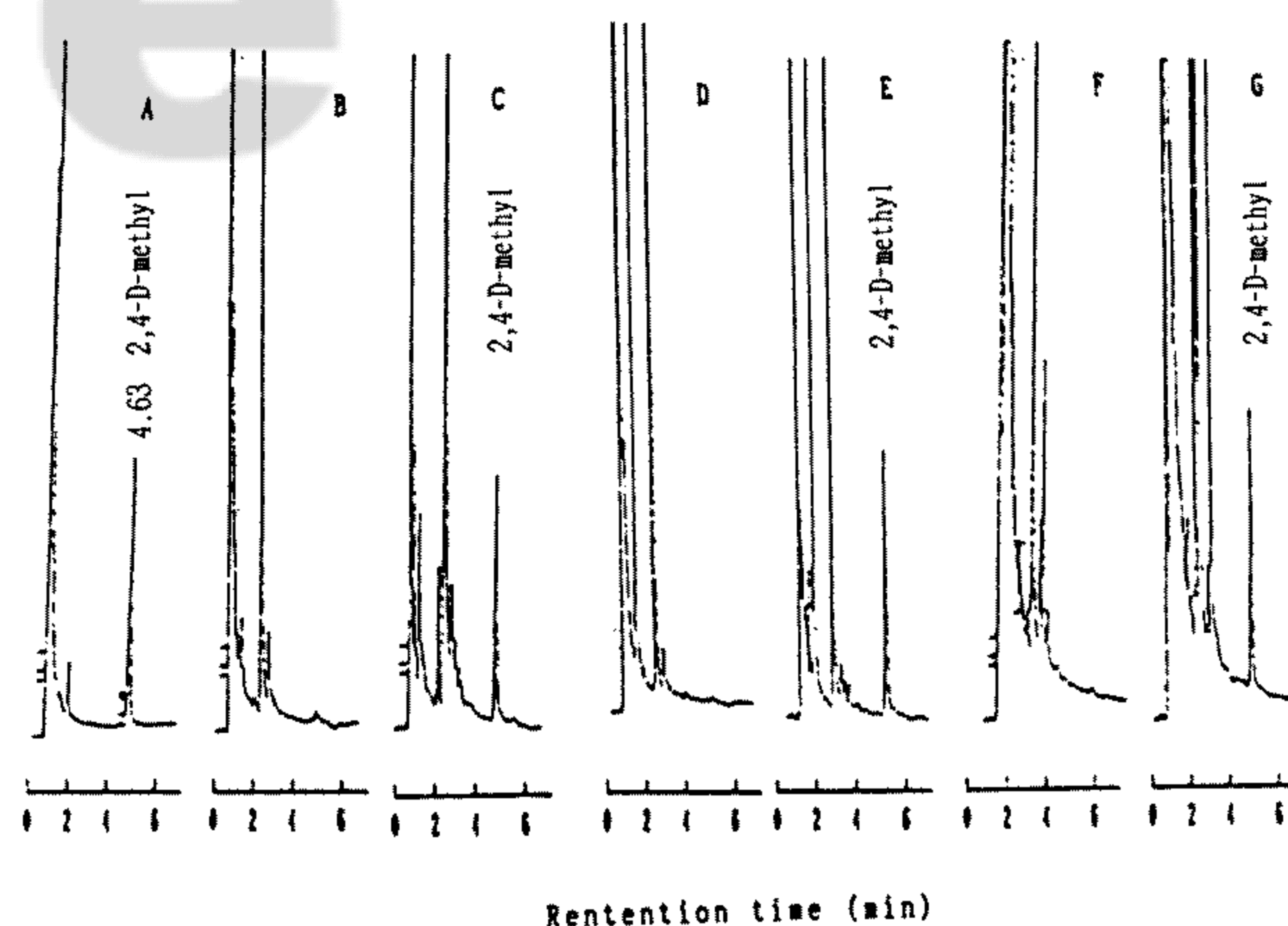
##### (1)溶媒萃取之探討

首先就本區內傳統市場或超級市場採購之柑橘類水果，以冷藏方式運回實驗室行預備實驗，依行政院衛生署公告方法——食品中殺草劑二、四地農藥殘留量之檢驗方法<sup>(11)</sup>、日本Tonogai等<sup>(10)</sup>及Sekita等<sup>(8)</sup>對柑橘類水果中二、四地殘留量之檢驗



**Figure 1.** G.C. chromatograms of methyl ester of 2,4-D in citrus fruit.

- (A) : a standard solution of 1.0ppm 2,4-D.
- (B) : blank test in grapefruit.
- (C) : grapefruit sample spiked with 1.0 $\mu\text{g/g}$  2,4-D.
- (D) : blank test in citrus.
- (E) : citrus sample spiked with 1.0 $\mu\text{g/g}$  2,4-D.
- (F) : blank test in lemon.
- (G) : lemon sample spiked with 1.0 $\mu\text{g/g}$  2,4-D.



**Figure 2.** G.C. chromatograms of methyl ester of 2,4-D in citrus fruit juice.

- (A) : a standard solution of 1.0ppm 2,4-D.
- (B) : blank test in grapefruit juice.
- (C) : grapefruit juice sample spiked with 0.20 $\mu\text{g/g}$  2,4-D.
- (D) : blank test in citrus juice.
- (E) : citrus juice sample spiked with 0.20 $\mu\text{g/g}$  2,4-D.
- (F) : blank test in lemon juice.
- (G) : lemon juice sample spiked with 0.20 $\mu\text{g/g}$  2,4-D.

方法(簡稱Tonogai法和sekita法)作比較(表一)，發現行政院衛生署公告方法之回收率為91.4%，Tonogai法回收率為90.6%，Sekita法回收率為86.2%，三者之間以Sekita法回收率最低，處理過程亦最複雜，而行政院衛生署公告方法之回收率與Tonogai法二者之間並無明顯差異。然以Tonogai法之丙酮溶媒萃取，其毒性較行政院衛生署公告方法以甲醇溶媒萃取<sup>(12)</sup>，且去除丙酮所須減壓濃縮時間約5分鐘(丙酮:B.P56.5°C<sup>(13)</sup>)亦較去除甲醇所須減壓濃縮時間10~12分鐘(甲醇:64.7°C<sup>(13)</sup>)節省5~7分鐘，為維護檢驗人員之健康及節省操作時間，本實驗研究採丙酮作第一次溶媒萃取。

經丙酮溶媒萃取後之檢液，行減壓濃縮去除丙酮，再以行政院衛生署公告方法使用二氯甲烷，Tonogai法使用醋酸乙酯作第二次溶媒萃取比較，發現以二氯甲烷萃取後行減壓濃縮之方法較易操作，不易產生濃稠狀，因此本實驗採二氯甲烷作第二次溶媒萃取。萃取後之檢液將它減壓濃縮至快乾，以免乾後回收率下降<sup>(15)</sup>。

#### (2)淨化處理之探討

上述濃縮物經衍生化反應後之檢液，以無水硫

**Table 1.** Comparison on recovery of 2,4-D from spiked to grapefruit with various methods

Method	2,4-D spiked ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery <sup>a</sup> (%)
D.H. <sup>c</sup>	2.0	91.4(2.12) <sup>b</sup>
Tonogai et al <sup>(10)</sup>	2.0	90.6(3.32)
Sekita et al <sup>(8)</sup>	2.0	86.2(4.61)

<sup>a</sup>Average of triplicate.

<sup>b</sup>Number in parenthesis is the coefficient of variation (CV,%)

<sup>c</sup>D.H.:Department of Health, Executive Yuan, published method<sup>(11)</sup>.

酸鈉脫水，氮氣吹乾，以正己烷溶解並定容至5ml。依行政院衛生署公告方法，此溶解液仍須進行淨化處理以除去雜質，本實驗依Tonogai法、張等<sup>(15)</sup>與蔡等<sup>(16)</sup>之方法，將檢體採樣重量由公告方法之50g降低至20g，第二次溶媒萃取減壓濃縮後之檢液，以甲醇定容由5ml改成20ml，取5ml行衍生化反應後，其樣品之氣相層析圖如圖一所示，可得分離效果良好之層析圖譜，其原因可能為檢體之採樣重量減少2.5倍，第二次減壓濃縮後之檢液，以甲醇定容由5ml增加至20ml，相對稀釋4倍，及行政院衛生署公告二、四地殘留農藥安全容許量由原先果皮:0.5ppm、果肉:0.1ppm<sup>(17)</sup>，均調整為2.0ppm<sup>(3)</sup>，安全容許量放寬4-20倍所致。標準曲線上之標準溶液濃度配製相對提升4-20倍，氣相層析儀檢出器相對感度可以降低，所對應之雜訊亦可相對消除，如此不但可以節省淨化處理所需之溶媒，亦可節省人力及時間。檢驗方法之建立，建議能隨公告安全容許量之調整而作適當之修正。

#### (二)柑橘類果汁

本實驗曾依柑橘類水果之檢驗方法，應用於柑橘類果汁中，但是發現以二氯甲烷溶媒萃取柑橘類果汁中之二、四地時，振盪靜置後之二氯甲烷層乳化現象嚴重，無法與水溶液層明顯分層，回收率亦僅五成左右，改以Tonogai法用醋酸乙酯溶媒萃取，則分層效果良好，回收率90.3-94.5%明顯提升，推測其原因可能與果汁中之果膠較易與極性較低之二氯甲烷溶媒作用有關(二氯甲烷極性:3.4，醋酸乙酯極性:4.3<sup>(18)</sup>)。萃取後之檢液經衍生化反應後，以正己烷定容至5ml供分析。發現在無需行淨化處理，而且可節省溶媒、人力及時間下，層析圖譜仍一樣令人滿意(圖二)。

### 三、標準曲線之製作及檢出限量

依二、四地標準溶液檢測求得劑量與吸收峰面積關係為 $Y = 1160 + 232610X$ ，其中Y為波峰面積，單位為uv.sec。X為二、四地劑量，單位為ppm。回歸係數 $r = 0.9996$ 。最低檢出限量柑橘類水果為 $0.10\mu\text{g/g}$ ，柑橘類果汁為 $0.02\mu\text{g/g}$ 。

### 四、回收試驗

將均質過之柑橘類水果或果汁檢體，添加二、四地標準溶液，依上述檢驗方法進行回收試驗，其結果如表二、三所示。柑橘類水果之回收率為88.2-92.3%，變異係數3.1-5.3%。柑橘類果汁之回收率為90.3%~94.5%，變異係數3.0~5.2%。無論柑橘類水果或果汁其回收率均在90.0%左右，變異係數均小10%，顯示本實驗研究之檢驗方法再現性與精確性均良好。

### 五、市售柑橘類水果及其果汁中2,4-D殘留量之調查

由宜蘭縣、花蓮縣及臺東縣三縣市抽購葡萄柚25件、柳丁25件，檢驗結果均未檢出( $\leq 0.10\mu\text{g/g}$ )，檸檬20件中檢出2件，其殘留量分別為0.28與0.42ppm，未超過衛生署公告之殘留農藥安全容許量標準2ppm<sup>(3)</sup>。Sekita等人<sup>(8)</sup>曾就美國進口至日本之柳丁、葡萄柚及檸檬中檢測二、四地農藥殘留，亦僅在檸檬中發現有殘留0.01-0.21ppm之二、四地農藥。

**Table 2.** Recoveries of 2,4-D in spiked citrus fruits with modified method

Sample Fruit	2,4-D spiked ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery <sup>a</sup> (%)
Citrus	1.0	90.7(4.1) <sup>b</sup>
	2.0	91.9(5.0)
	4.0	89.8(3.1)
Grapefruit	1.0	92.3(4.0)
	2.0	90.4(5.3)
	4.0	91.6(3.5)
Lemon	1.0	88.2(3.8)
	2.0	91.8(4.5)
	4.0	90.3(5.1)

<sup>a</sup>Average of triplicate.

<sup>b</sup>Number in parenthesis is the coefficient of variation (CV,%)

**Table 3.** Recoveries of 2,4-D in spiked citrus fruit juices with modified method

Juice	2,4-D spiked ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery <sup>a</sup> (%)
Citrus	0.2	91.9(5.2) <sup>b</sup>
	0.4	90.8(4.1)
	0.8	92.6(3.9)
Grapefruit	0.2	92.5(3.0)
	0.4	94.5(4.2)
	0.8	93.8(3.6)
Lemon	0.2	90.3(3.4)
	0.4	92.7(4.1)
	0.8	91.6(3.7)

<sup>a</sup>Average of triplicate.

<sup>b</sup>Number in parenthesis is the coefficient of variation (CV,%)

至於葡萄柚汁15件、柳橙汁15件及檸檬汁15件，則均未檢出( $\leq 0.10\mu\text{g/g}$ )，顯示市售柑橘類水果及其果汁均無超量之二、四地農藥殘留。

### 誌 謝

本研究調查期間，承蒙本局第四組張科長碧秋、蘇淑珠小姐、程俊龍先生提供寶貴意見及資料；本站林正毅同事鼎力協助；本局周組長薰修在研究報告整理期間，詳加批閱與指正，特此誌謝。

本研究調查係由藥物食品檢驗局83年度食品衛生市售調查計畫中提撥經費。

### 參考文獻

- 徐聖煦.1985.農藥化學.pp.1-17.正中書局.台北市.
- 東京都生活文化局消費者部.收獲後使用の農藥に関する調査(III).1991.食品工業.34:81-89.
- 行政院衛生署.1993.殘留農藥安全容許量.衛署食字第8246254號公告.
- The Royal Society of Chemistry. 1987. The Agrochemicals Handbook, 2nd ed. p.A111/Aug 87. Hartley, D. and Kidd, H.(ed). The Royal Society of Chemistry, England, U.K.
- Sell, C. R. and Maltien, J.C. 1983. Procedure for the Determination of Residues of 2,4-dichlorophenoxy Acetic Acid in Demal Exposure Pads, Hand Rinses, Urine and Perspiration from Agricultural Workers Exposed to the Herbicide. J. Agric. Food. Chem. 31(3): 572-575.
- Bristol, D.W., Cook, L.W., Koterba, M.T. and Nelson, D.C. 1982. Determination of Free and Hydrolyzable Residues of 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid and 2,4-dichlorophenol in Potatoes. J. Agric. Food Chem. 30: 137-144.
- Lee, H.B., Stokker, Y.D and Chau, A.S.Y. 1986. Chemical Derivatization Analysis of Pesticide Residues. X. Analysis of Ten Acid Herbicide in Natural Waters. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 69(3):557-560.
- Sekita, H., Takeda, M., Saito, Y and Uchiyama, M. 1982. Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods. XXXVI. Analytical Method for Multi-residues of Chlorinated Phenoxy Agricultural Chemicals (2,4-D, 2,4,5-T and 2,4,5-TP) in Fruits. Eisei Kagaku. 28(4): 219-227.
- Allender, W.J. 1989. Determination of Chlorophenoxy Herbicides in Plant Material Exposed to Spray Drift. J. Chromatogr. 27:193-196.
- Tonogai, Y., Tsumura, Y., Nakamura, Y and Ito Yoshio. 1992. Analysis of Post-harvest Application Pesticides in Citrus Fruits.食衛誌.33(1):23-30.
- 行政院衛生署.1993.食品中殺草劑二、四地農藥殘留檢驗.衛署食字第8264420號公告.
- 程俊龍,劉兆宏,周薰修.1994.以氣相層析/質譜分析法建立蔬果中農藥之多重殘留量檢驗方法.行政院衛生署八十三年度科技研究發展計畫全程報告.pp.10-12.
- The Merck Index.1984. Tenth Edition. pp.16-58.南山堂出版社.臺北.
- 楊福麟,詹榮弘.1994.應用高效能液相層析法分析定量市售柑橘類果汁中聯苯及鄰羥聯苯之殘留.八十三年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編.pp.111-120.
- 張美惠,賴昭伶,李萃萃,鄭秋真,周薰修.1990.多重殘留分析法於蔬菜中殘留農藥之偵測.藥

Journal of Food and Drug Analysis. 1995. 3(2)

物食品檢驗局調查研究年報.8:236-246.

16. 蔡佳芬, 顏枝梅, 張碧秋, 周薰修. 1993. 農產品中托福松、二福隆、得滅克及歐殺滅殘留量標準檢驗方法之建立, 藥物食品分析. 1(1):71-80.

17. 食品衛生法規彙編. 1992. 食品添加物使用範圍

及用量標準. 行政院衛生署編. p.17-24:22-23.

18. Synder, L.R. 1978. Classification of the Solvent Properties of Common Liquid. J. Chromatogr. Sci. 16:223-224.

## Levels of 2,4-D Residues in Marketed Citrus Fruits and Juices Collected from Eastern Taiwan Area

JIN-FUNG SHYU AND JASON DALANG HONG

*National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan 161-2, Kuei Yang Street, Nan Kang, Taipei, Taiwan, R.O.C.*

### ABSTRACT

An assay method for 2,4-D residues in citrus fruits and juices was developed to evaluate the levels in marketed products collected from the eastern Taiwan area. The method was modified slightly from the standard method established by Department of Health, R.O.C.. Citrus samples were extracted with solvents, which was removed by evaporation with a rotary evaporator under reduced pressure. The concentration of 2,4-D residue was then quantified with

GC after methylation in the presence of sulfuric acid. A total of 25 grapefruits and 15 grapefruit juices, 25 citrus and 15 citrus juices, and 20 lemons and 15 lemon juices were sampled and analysed. Among all the samples analysed only two lemon samples were detected to have low level of 2,4-D residues (0.28 and 0.42 ppm). No significant amount of 2,4-D residues was found in all other samples.

**Key Words** : 2,4-D, citrus fruits, citrus fruit juices.