

農產品中依瑞莫殘留量標準檢驗方法之建立

曾素香 張碧秋 周薰修

第四組

摘 要

本研究發展出利用高效液相層析法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 檢驗作物中依瑞莫殘留量之方法。依瑞莫以丙酮自西瓜、芒果中萃取出，減壓濃縮去丙酮後以濃鹽酸調整酸鹼度為 pH 1-2，以乙醚、正己烷振搖抽取去除雜質，取水層以碳酸氫鈉調整酸鹼度為中性，再以氯仿振搖抽取，所得氯仿萃取液減壓濃縮至乾後，以甲醇溶洗出殘留物並定容，所得檢液配合 HPLC 附 UV 檢出器以波長 298nm 檢測之。添加依瑞莫於西瓜及芒果中 1.0-3.0 ppm 檢體濃度，所得平均回收率為 80.3-85.0%，其最低檢出量在西瓜及芒果中皆為 0.01 ppm。

鍵語：農藥殘留量 (pesticide residue)、依瑞莫 (ethirimol)、高效液相層析 (HPLC)。

前 言

臺灣地區位居亞熱帶，為控制疾病以達到農作物增產的目的，農民常廣泛地施用農藥，而隨著農藥種類與使用量的增加，其安全性和殘留量等問題逐漸受到重視，衛生署乃逐年增列殘留農藥安全容許量標準，至民國 83 年 10 月已公告 270 種農藥於 19 類作物之「殘留容許量標準」⁽¹⁾，為配合此公告標準之檢驗及取締工作的執行，儘速建立標準檢驗方法實為當前迫切之工作，故編列本計劃以建立農藥依瑞莫之標準檢驗方法，作為往後檢驗工作之依據。

依瑞莫 (Ethirimol) 之化學名為 5-butyl-2-ethylamino-6-methyl pyrimidin-4-ol，屬 hydroxy pyrimidine 類農藥，其商品名為 Miligo⁽²⁾，屬於系統性殺菌劑 (systemic fungicide)，主要是用來防治禾穀類 (cereals and grasses) 作物之白粉病 (powdery mildew)，而對某些雙子葉植物 (如 melons, cucumbers) 亦有效⁽³⁾。依據衛生署公告的殘留容

許量標準，依瑞莫可使用於瓜果類及核果類，殘留容許量均為 2.0 ppm⁽¹⁾。

依瑞莫為白色晶體，對熱、酸及鹼安定，20 °C 時，其在水中的溶解度是 200 ppm，但在強酸或強鹼下則會形成可溶性的鹽類，使溶解度大為提升，而依瑞莫在氯仿、乙醇及丙酮中的溶解度則分別為 150、24 及 5 g/Kg⁽²⁾。

有關依瑞莫殘留量之分析方法，在文獻上的記載，多是針對水或土壤^(4,5,6,7,8,9)；其檢測方法有 HPLC-UV⁽⁴⁾、DSC⁽⁵⁾、GC-NPD⁽⁶⁾、TLC⁽⁸⁾ 及 HPLC-amperometric detection⁽⁹⁾ 等。而有關依瑞莫在農產品中殘留量的分析方法^(10,11,12)，僅 Edwards⁽³⁾ 這篇文獻較為詳盡，其他則多為多重殘留分析 (multiresidue analysis) 中的一部分^(10,12)。Edwards⁽³⁾ 是將依瑞莫進行衍生化後，利用 GC 檢測，此法較為費時，故本試驗僅參考其前處理部分，而另以 HPLC-UV 來作檢測。

材料與方法

一、試驗材料：

西瓜、芒果樣品購自傳統市場。

二、器具與裝置：

(一) 高效液相層析儀

溶媒輸送系統：Hitachi L-6200。

(二) 檢出器：

Hitachi L-4250 UV-VIS Detector

(三) 積分儀：

Himadzu C-R4A Chromatopac。

(四) 層析管柱：

Nucleosil C₁₈，5 μm，內徑 4.6 mm
× 25cm (Phenomenex)。

三、試藥：

丙酮、乙醚、正己烷、氯仿及甲醇採用殘量級；無水硫酸鈉、鹽酸及碳酸氫鈉採用試藥特級；依瑞莫標準品購自 Riedel-de Haen AG., Germany，純度 99%。

四、方法：

(一) 標準溶液之調製

精確稱取依瑞莫對照用標準品，溶於甲醇中配製成 1000 μg/mL 之標準原液，再以甲醇稀釋成 10 μg/mL 之標準溶液，貯於冰箱中備用，用前取出回溫。

(二) 檢液之調製

將檢體以均質機絞碎後，取 20 g 置於塑膠瓶內，加入丙酮 80 mL，振搖 3 分鐘，抽氣過濾，並以丙酮 80 mL 洗殘渣及塑膠瓶，合併濾液於 250 mL 濃縮瓶中，以 35 °C 水浴減壓濃縮至無丙酮。將濃縮液移至 250 mL 分液漏斗，並加水 15 mL 分三次洗濃縮瓶併入分液漏斗內，再加入 5 至 6 滴濃鹽酸，使水溶液呈強酸性 (pH1-2)，此時另取乙醚 25 mL 分三次洗濃縮瓶併入分液漏斗後振搖 2 分鐘，取水層至另一分液漏斗，加入 25 mL 正己烷振搖 2 分鐘，取水層至另一分液漏斗，並添加少量碳酸氫鈉 (約 0.25 g) 中和之 (pH6-7)。加氯仿 50 mL 至分液漏斗內，振搖抽取 2 分鐘，靜

置分層，氯仿層經無水硫酸鈉脫水後，收集於 250 mL 濃縮瓶，重覆上述步驟兩次，合併氯仿萃取液，以 35 °C 水浴減壓濃縮至乾，以甲醇溶洗濃縮瓶並定容至 5 mL 供作檢液。

(三) 高效液相層析偵測條件

層析管柱：Nucleosil C₁₈

檢出器：UV 298 nm

移動相溶液：水：甲醇 = 30 : 70(v/v)

流速：0.5 ml/min

注入量：20 μL

(四) 標準曲線之製作

取標準溶液以甲醇稀釋成 2、3、5、10 及 15 μg/mL，各取 20 μL 注入高效液相層析儀，以所得之波峰面積對濃度作圖，繪製成標準曲線。

(五) 鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各 20 μL，分別注入高效液相層析儀中，參照上述層析條件進行分析，就檢液所得波峰之滯留時間與標準溶液比較鑑別之，並依另取之標準溶液按上述方法作出檢量線，求出檢體中依瑞莫之含量 (ppm)：

$$\text{檢體中依瑞莫含量 (ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線或波峰高度求得檢液中依瑞莫之濃度 (μg/mL)

V：檢體最後定容之體積 (5 mL)

M：取樣分析檢體之重量 (20 g)

(六) 添加回收試驗及回收曲線之製作

取均質檢體 20 g，加入適量依瑞莫標準溶液，靜置 1 小時，於西瓜及芒果作成 1.0、2.0 及 3.0 ppm 等不同添加量，每一添加量作三重複，同時作空白試驗，依前述方法調製成檢液並加以分析，並繪出其濃度對波峰面積之回收曲線圖，將所得波峰面積與標準曲線比較即可求得檢液中依瑞莫的濃度，再依上式換算成檢體中依瑞莫濃度，將回收量除以添加量即得回收率。

(七) 最低檢出量試驗

取均質檢體 20 g，加入適量依瑞莫標準溶液於檢體，攪拌均勻，靜置 1 小時，於西瓜及芒果做成 0.01、0.02 及 0.03 ppm 三種不同檢體濃度添加量，依前述方法調製成檢液並加以分析，以估計最低檢出量。

結果與討論

一、前處理

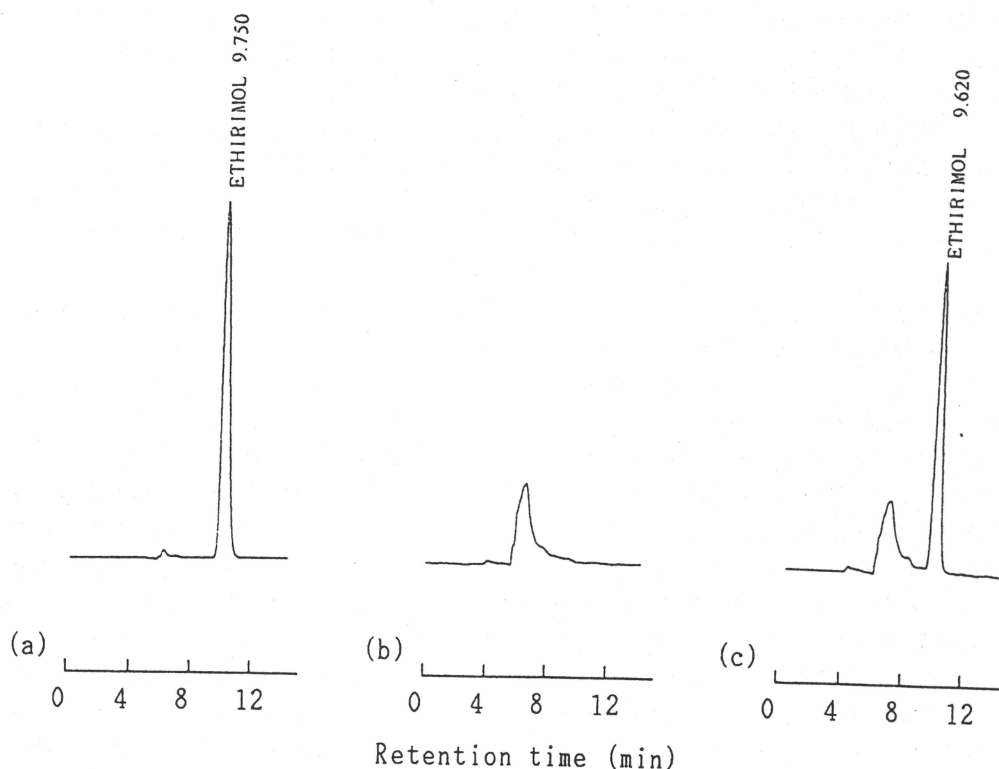
欲測定農產品中依瑞莫的殘留量，首先需針對農產品進行萃取、淨化及濃縮等前處理。本試驗所採取的方法主要是參考 Edwards⁽³⁾ 的方法，並加以修正，流程如下：(1) 萃取—將檢體絞碎，以丙酮振搖抽取，丙酮萃取液減壓濃縮至無丙酮。(2) 淨化—將溶液調成強酸性，使依瑞莫在水中溶解度大增，再以乙醚及正己烷去除雜

質。(3) 中和—以碳酸氫鈉中和。(4) 抽取、濃縮及定容—以氯仿抽取水層中的依瑞莫，減壓濃縮去氯仿，以甲醇溶洗殘留物並定容至 5 mL。此流程可有效去除大部分雜質，操作過程僅約 2 小時，為一簡便、快速的方法。

二、HPLC 測定條件

(一) 波長測定

依瑞莫標準溶液 (10 $\mu\text{g/mL}$) 以分光光度計掃描 200 至 400 nm 波長的吸光值，發現在 226 nm 有最大吸收峰，而在 298 nm 則另有一吸收峰。Sanchez 等人⁽⁴⁾ 以 diode array detector 同時偵測 225 nm 及 297 nm 之吸光值，由於 diode array detector 目前並不普遍，為使此檢測方法更具普遍性，故選擇測定單一波長。由於以 226 nm 測定時，



圖一 依瑞莫添加 2ppm 於西瓜的高效液相層析圖

(a) 依瑞莫標準品 (b) 西瓜空白檢體 (c) 添加依瑞莫於西瓜中

農產品中依瑞莫殘留量標準檢驗方法之建立

雜質之干擾較多，故選定 298 nm 為測定波長。

(二)移動相

Meyer 和 Henze (1989) 是採用 Nucleosil^{R10} C₁₈ 為層析管，以 H₂O:MeOH (22:78) 為移動相，Sanchez 等人 (4) 則是以 ODS-Hypersil 為層析管，以 H₂O:MeOH(20:80) 為移動相。本試驗最初是採用 H₂O:MeOH(20:80) 為移動相，但在進行作物添加回收試驗時，發現雜質與依瑞莫波峰間之分離效果不夠理想，故將移動相改為 H₂O:MeOH(30:70)，發現可有效分離雜質與依瑞莫波峰，故選定 H₂O:MeOH(30:70) 為移動相。圖一為依瑞莫添加 1 ppm 於西瓜的高效液相層析圖。

三標準曲線及回收曲線

依前述標準曲線製作方法，繪製成標準曲線，求得線性迴歸係數 0.9998；而添加依瑞莫於西瓜及芒果所得的回收曲線之

表一 添加依瑞莫於作物之回收率

檢體名稱 (作物類別)	添加量 (ppm)	回收率 ^a (%)
西瓜 (瓜果類)	1.0	85.0(0.2) ^b
	2.0	83.1(5.1)
	3.0	80.3(2.5)
芒果 (核果類)	1.0	83.6(5.5)
	2.0	82.6(2.2)
	3.0	81.9(4.0)

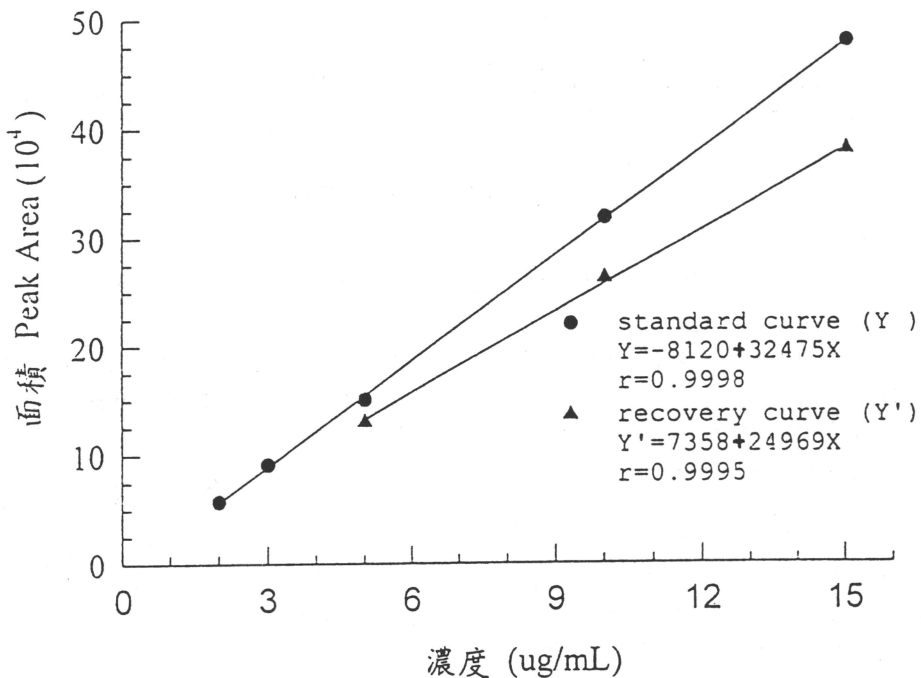
a: 三重覆之平均值

b: 變異係數 (CV, %)

線性迴歸係數分別為 0.9995 及 1.0000，線性關係良好。圖二為依瑞莫之標準曲線及其添加於西瓜之回收曲線圖。

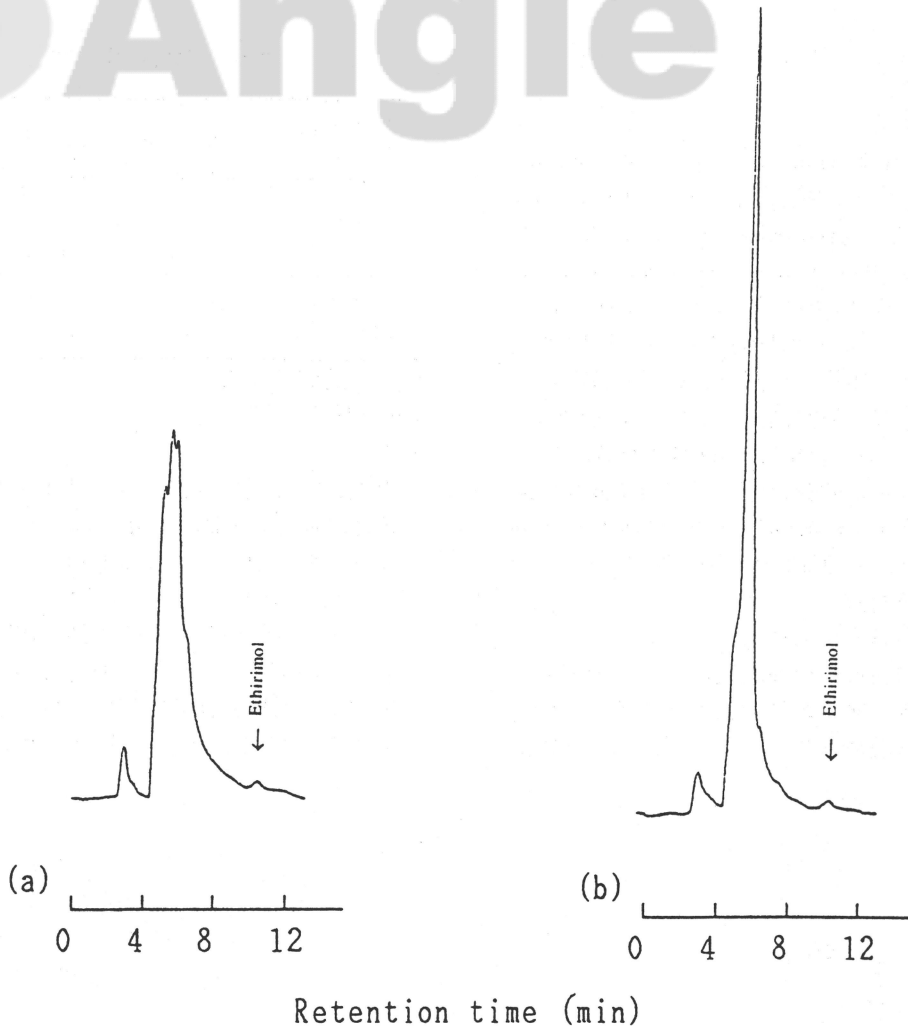
四添加回收試驗

表一為依瑞莫添加於其公告作物之回收率。添加於西瓜中的回收率在 80.3-85.0% 之間，其變異係數為 0.2-5.1%；芒果中的回收率在 81.9-83.6% 之間，變異係數為



圖二 依瑞莫之標準曲線 (Y) 及其添加於西瓜之回收曲線 (Y')

Angle



圖三 依瑞莫添加於 (a) 西瓜 (b) 芒果之最低檢出量液相層析圖

2.2-5.5%，回收率及再現性均相當良好。
五.最低檢出量試驗

依前述方法將依瑞莫添加於西瓜及芒果之最低檢出量為 0.01 ppm (圖三)。

結 論

本研究建立了農產品中殺菌劑依瑞莫殘留量之檢驗方法，分別針對瓜果類之西瓜及核果類之芒果進行添加回收試驗，回收率為 80.3-85.0%，最低檢出量為 0.01 ppm。此方法具有操作簡便、回收率佳及再現性良好等

優點，可提供衛生及農政單位作為依瑞莫之標準檢驗方法，並作為取締執法之檢驗依據。

參考文獻

1. 行政院衛生署。1994。殘留農藥安全容許量標準。83.10.14。衛署食字第 83060880 號公告。
2. Royal Society of Chemistry. 1987. The Agrochemicals handbook, 2nd ed. Unwin Brothers Limited, Surrey U.K.

農產品中依瑞莫殘留量標準檢驗方法之建立

3. Edwards, M.J. 1976. Anal. Methods Pestic. Plant Growth Regul. VIII:285-297. Academic Press Inc. USA.
4. Sanchez-Rasero, F., Romero, T.E. and Dios, C. G. 1989. Determination of ethirimol, in the presence of some normal soil constituents, by liquid chromatography. J.Chromatogr. 479:424-429.
5. Donnelly, J.R., Drewes, L.A., Johnson, R.L., Munslow, W.D., Knapp, K.K. and Sovocool, G.W. 1990. Purity and heat of fusion data for environmental standards as determined by differential scanning calorimetry. Thermochim. Acta 167(2):155-187.
6. Bolygo, E. and Atreya, N.C. 1991. Solid-phase extraction for multi-residue analysis of some triazole and pyrimidine pesticides in water. Fresenius. J. Anal. Chem.339:423-430.
7. Salau, J.S., Alonso, R., Batllo, G. and Barcelo, D. 1994. Application of solid-phase disk extraction followed by gas and liquid chromatography for the simultaneous determination of the fungicides: captan, captafol, carbendazim, chlorothalonil, ethirimol, folpet, metaxyl and vinclozolin in environmental waters. Anal. Chim. Acta 293:1-2, 109-117.
8. Krasnykh, A.A. and Pavlova, L.G. 1980. Chromatographic determination of Milgo in water, soil and plants. Gigiena-i-Sanitariya. 6:69-70.
9. Meyer, A. and Henze, G. 1989. Investigations on HPLC-determination of pesticides with amperometrically detectable hydroxyl groups. Zeitschrift-fuer-Analytische-Chemie. 332(8):898-903.
10. Edwards, M.J. 1973. The determination of pesticide residues in food crops. Proceedings of the Society for Analytical Chemistry. 10(7):206-208.
11. Baker, P.B. and Hoodless, R.A. 1974. Analytical method for the detection and determination of residues of systemic fungicides. Pesticide Science. 5(4):465-472.
12. Kadenczki, L., Arpad, Z., Gardi, I., Ambrus, A., Gyorfi, L., Reese, G. and Ebing, W. 1992. Column extraction of residues of several pesticides from fruits and vegetables: a simple multiresidue analysis method. J.AOAC Int. 75(1):53-61.

藥物食品檢驗局調查研究年報 (Ann. Rept. NLFD)



ESTABLISHMENT OF STANDARD ANALYTICAL METHOD FOR THE DETERMINATION OF ETHIRIMOL RESIDUES IN CROP SAMPLES

SUH-SHIANG TZENG, PI-CHIOU CHANG
AND SHIN-SHOU CHOU

DIVISION OF FOOD CHEMISTRY

ABSTRACT

A method utilizing high performance liquid chromatography (HPLC) has been developed to determine ethirimol in crop samples. Ethirimol was extracted from crop samples with acetone, interference materials removed by solvent partition using diethyl ether and hexane, and the ethi-

rimol extracted from the solution with chloroform. The test solution was determined at UV 298 nm. Recovery studies were performed at 1.0 ~ 3.0 ppm fortification levels, and recoveries ranged between 80.3 ~ 85.0%. The detection limits of ethirimol tested in watermelon and mango were 0.01 ppm.