

農產品中17項農藥殘留分析方法之探討

游蕎瑀¹ 陳俊宇¹ 彭冠智¹ 廖家鼎¹ 高雅敏¹ 王德原¹
陳惠芳¹ 林詔凱² 莊瑋臻² 黃鎮華² 徐慈鴻²

¹食品藥物管理署研究檢驗組 ²行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

摘要

本研究採用QuEChERS前處理流程搭配超高效能液相層析串聯質譜儀，針對食品藥物管理署公開之「食品中殘留農藥檢驗方法 - 多重殘留分析方法(六)」中克美素等15項農藥及MCPA、三氯比(triclopyr)，共計17項農藥進行檢驗方法探討及精進。本研究將基質種類區分為蔬果類、高葉綠素類、穀類及茶類4類，分別以蘋果、空心菜、白米及綠茶作為基質代表，利用含檸檬酸鈉及檸檬酸氫二鈉等混合鹽類之萃取粉劑以維持檢液pH值；亦調整茶類淨化粉劑中primary secondary amine含量，以兼顧回收率及淨化效果。確效結果顯示，在蔬果類基質中，回收率介於60 - 140%之間、變異係數小於20%之農藥品項數有16項、高葉綠素類基質中有15項、穀類基質中有14項、茶類基質中有16項。在定量極限部分，蔬果類、高葉綠素類為0.01 ppm；穀類為0.02 ppm；茶類為0.05 ppm，以此方法進行16件市售產品檢驗，結果僅1件紅鳳菜檢出賽滅淨0.036 ppm，符合我國農藥殘留容許量標準。

關鍵詞：農藥、QuEChERS、超高效能液相層析串聯質譜儀

前言

我國在農藥的管理上，以國人飲食習慣及風險評估為基礎，針對農作物訂定殘留容許量，作為維護國民健康及保障農產品安全之準則，根據衛生福利部107年9月12日衛授食字第1071302309號公告修正之農藥殘留容許量標準⁽¹⁾，農產品中訂有農藥殘留容許量標準之農藥品項已經達到380種，為保障民眾飲食安全及配合行政管理所需，建立農藥殘留分析方法乃刻不容緩之事。

農藥殘留分析在前處理方面，早期為液/液萃取方式，後續改使用固相萃取法，使樣品前處理方法由繁化簡且降低有機溶劑

的使用量。2003年Anastassiades等人⁽²⁾，採用QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe)方式，直接於離心管進行前處理的萃取及淨化步驟，不但更加節省溶劑的使用，也將前處理時間縮短一半以上，故此法已成為國際間及我國訂定農禽畜產品中農藥殘留分析方法的參考。

農藥殘留分析在偵測儀器方面，早期以色層層析法為主之氣相層析儀搭配電子捕獲檢出器、火焰光度檢出器或氮磷檢出器及高效液相層析儀搭配紫外光檢出器或螢光檢出器等。近年來質譜檢測技術亦趨發展成熟，氣相層析質譜儀、氣相層析串聯式質譜儀或液相層析串聯式質譜儀已廣泛應用於食品安全檢測上，相較

於過去，在農藥的定性及定量上，偵測靈敏度可由ppm (百萬分之一)提高到ppb (十億分之一)。

本研究為針對食品藥物管理署(以下簡稱食藥署)公開之「食品中殘留農藥檢驗方法-多重殘留分析方法(六)」⁽³⁾(以下簡稱方法(六))中克美素等15項農藥，進行分析方法之評估及精進，優化萃取及分析流程，同時也評估性質相近的農藥MCPA及三氯比(triclopyr)是否可納入方法(六)，以建立一套更完整、快速之檢驗方法，作為方法(六)後續修改及優化之基礎，使食品安全檢驗工作更臻完善。

材料與方法

一、檢體來源

本研究所需之空白檢體及市售調查產品均購自台北市量販店，空白檢體為經檢驗測試後，其定性及定量離子對皆無儀器干擾訊號之檢體，市售調查產品依本研究之基質種類購買，分別為茶葉4件、米4件、蘋果4件及葉菜類4件，共計16件檢體。

二、試藥及實驗器材

農藥對照用標準品克美素(chlormequat) (純度99.9%)、賽滅淨(cyromazine) (純度99%)、依滅草(imazapyr) (純度99.5%)、快克草(quinclorac) (純度98.2%)及MCPA(純度99.8%) (AccuStandard, USA)；多寧(dodine) (純度98.97%)、亞速隆(ethoxysulfuron) (純度97.5%)、imazapic(純度99.9%)、乃力松(naled) (純度96.2%)、鈉得爛(naptalam) (純度99.8%)、prothioconazole(純度99.9%)、歐索林酸(oxolinic acid) (純度95%)、二、四地(2,4-D) (純度99.9%)、勃激素A3 (gibberellic acid) (純度94.7%)、加撲草(MCPB) (純度99.8%)、prohexadione calcium(純度99.5%)及三氯比

(triclopyr) (純度99.9%) (Sigma-Aldrich, USA)；磷酸三苯酯(純度99.5%) (Dr. Ehrenstorfer, Germany)；甲酸(試藥級)、醋酸鉍(試藥級)、甲醇(液相層析級)及乙腈(液相層析級) (Merck, Germany)；含無水硫酸鎂、氯化鈉、檸檬酸鈉及檸檬酸氫二鈉(8/2/2/1, w/w/w/w)之萃取用粉劑、含primary secondary amine (PSA) 150 mg及無水硫酸鎂900 mg之淨化粉劑I、含PSA150 mg及吸附混合劑900 mg (無水硫酸鎂：GCB = 19:1, w/w)之淨化粉劑II、含PSA150 mg、無水硫酸鎂900 mg及C18 150 mg之淨化粉劑III、含PSA450 mg及無水硫酸鎂900 mg之淨化粉劑IV及陶瓷均質石(Agilent, USA)；15 mL及50 mL離心管(Labcon, USA)；1 mL無針針筒(Terumo, Taiwan)；PTFE針筒式濾膜(直徑13 mm，孔徑0.22 μm) (Merck, Germany)。

三、標準溶液之配製

取克美素(chlormequat)、賽滅淨(cyromazine)、多寧(dodine)、依滅草(imazapyr)、快克草(quinclorac)、MCPA及三氯比(triclopyr)對照用標準品各約25 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至25 mL；取亞速隆(ethoxysulfuron)、prothioconazole、歐索林酸(oxolinic acid)、二、四地(2,4-D)、勃激素A3 (gibberellic acid)及加撲草(MCPB)對照用標準品各約25 mg，精確稱定，分別以乙腈溶解並定容至25 mL；取imazapic、乃力松(naled)及鈉得爛(naptalam)對照用標準品各約25 mg，精確稱定，分別以丙酮溶解並定容至25 mL；取prohexadione calcium對照用標準品約25 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至25 mL，作為標準原液。除prohexadione calcium標準原液冷藏避光貯存外，其餘標準原液均於-20°C貯存。臨用時取適量各標準原液混合，以乙腈稀釋至1 μg/mL，作為標準溶液。

秤取磷酸三苯酯(triphenylphosphate, TPP)對照用內部標準品約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，貯存於-18℃。臨用時取適量內部標準原液，以甲醇稀釋至5及50 µg/mL，供作內部標準溶液。

四、儀器設備及參數設定

(一)儀器設備

超高效液相層析儀(ACQUITY UPLC I-Class, Waters, USA)搭配串聯式質譜儀(Waters-TQ-S micro, Waters, USA)進行分析；離子源採取電灑離子化方式(electrospray ionization, ESI)；管柱為CORTECS UPLC C18 Column (1.6 µm，內徑2.1 mm × 100 mm；Waters, USA)；保護管柱為CORTECS UPLC C18 VanGuard Pre-column (1.6 µm，內徑2.1 mm × 5 mm；Waters, USA)。

去離子水製造機(Millipore milli-Q, Millipore, USA)；離心機(Allegra 25R Centrifuge, Beckman Coulter, USA)；漩渦混合器(Vortex-Genie 2 mixer, Scientific Industries, USA)；吹氮濃縮裝置(MG-220, EYELA, Japan)；攪拌均質器(Blender, Retsch, Germany)；粉碎機(Grinder, 榮聰精密科技有限公司，台灣)；高速組織研磨振盪均質機(GenoGrinder®, SPEX SamplePrep, USA)。

(二)超高效能液相層析串聯質譜儀(ultra - performance liquid chromatography - tandem mass spectrometer, UPLC-MS/MS)之參數設定

毛細管電壓：電灑離子化正離子為3.5 kV、電灑離子化負離子為1.6 kV；溶媒揮散溫度為450℃；離子源溫度為150℃；進樣錐氣體流速為30 L/hr；溶媒揮散流速為900 L/hr；注入體積為2 µL；層析管柱溫度為30℃。

動相A為取去離子水499.5 mL與0.5 mL甲

表一、液相層析移動相梯度條件

Time (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

A: 含0.1%甲酸及5 mM醋酸鉍之去離子水

B: 含5 mM醋酸鉍之甲醇

酸混合後，加入醋酸鉍0.19 g，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，使成含0.1%甲酸及5 mM醋酸鉍之去離子水；動相B為取甲醇500 mL，加入醋酸鉍0.19 g，溶解並混合均勻，以濾膜過濾，使成含5 mM醋酸鉍之甲醇，並以表一之梯度條件進行分析。偵測模式為多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)，偵測離子對、進樣錐電壓如表二。

五、檢液之調製

蔬果類及高葉綠素含量之蔬果類取均質之檢體約10 g，精確稱定，置於離心管中冷凍；穀類及茶類取磨粉後之檢體約5 g及2 g，精確稱定，置於離心管中加入預冷之去離子水10 mL，混勻並靜置20分鐘。加入含1%甲酸之乙腈/甲醇(4/1, v/v)溶液10 mL及50 µg/mL內部標準溶液10 µL，混勻後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1分鐘，於15℃、3000 xg離心5分鐘。取上清液6 mL加入含淨化粉劑之離心管中，蔬果類及高葉綠素含量之蔬果類檢體分別使用含PSA 150 mg及無水硫酸鎂900 mg之淨化粉劑I及含PSA 150 mg及吸附混合劑900 mg (無水硫酸鎂：GCB = 19:1, w/w)之淨化粉劑II；穀類檢體使用含PSA 150 mg、

表二、以超高效能液相層析串聯質譜儀分析克美素等17項農藥之多重反應偵測模式參數

英文名	中文名	定量離子對			定性離子對		
		前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	進樣錘電壓(V)	碰撞能量(eV)	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	進樣錘電壓(V)	碰撞能量(eV)
正離子模式							
Chloromequat	克美素	122 > 059	37	20	124 > 065	32	18
Cyromazine	賽滅淨	167 > 125	30	18	167 > 108	30	20
Dodine	多寧	228 > 060	30	25	228 > 186	30	20
Ethoxysulfuron	亞速隆	399 > 261	24	14	399 > 218	24	24
Imazapic	^b	276 > 145	45	36	276 > 163	45	31
Imazapyr	依滅草	262 > 069	27	26	262 > 086	27	26
Naled	乃力松	379 > 127	24	36	379 > 109	24	42
Naptalam	納得爛	292 > 144	14	9	292 > 149	14	22
Prothioconazole	^b	344 > 189	13	20	344 > 326	13	12
Oxolinic acid	歐索林酸	262 > 244	25	18	262 > 216	25	30
Quinclorac	快克草	242 > 224	25	19	242 > 161	25	33
triphenylphosphate ^a	磷酸三苯酯 ^a	327 > 77	40	35	-	-	-
負離子模式							
2,4-D	二、四地	219 > 161	23	15	221 > 163	23	15
Gibberellic acid	勃激素 A3	345 > 239	30	18	345 > 143	30	40
MCPB	加撲草	227 > 141	15	12	229 > 143	15	12
Prohexadione calcium	^b	211 > 167	5	12	211 > 123	5	9
MCPA	^b	201 > 143	26	15	199 > 141	40	16
Triclopyr	^b	254 > 196	19	14	256 > 198	15	10

^a 內部標準品^b 容許量標準未有中文名稱

無水硫酸鎂900 mg及C18 150 mg之淨化粉劑Ⅲ；茶類檢體使用含PSA 150 mg及吸附混合劑900 mg (無水硫酸鎂：GCB = 19:1, w/w)之淨化粉劑Ⅱ及含PSA 450 mg及無水硫酸鎂900 mg之淨化粉劑Ⅳ，以高速組織研磨振盪均質機以1000 rpm振盪1分鐘後，於15°C、3000 xg 離心2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，以濾膜過濾，供作檢液。

六、確效試驗(validation)

(一)準確度(accuracy)及精密度(precision)

分別添加標準溶液於蘋果、空心菜、白米檢體及綠茶空白檢體中，使蘋果及空心菜檢體中農藥含量為0.01及0.05 ppm，白米檢體中農藥含量為0.02及0.1 ppm，綠茶檢體中農藥含量為0.05及0.2 ppm，靜置20分鐘，依照材料與方法五、檢液調製之步驟進行3重複回收試驗。本研究之準確度(accuracy)以回收率表示，精密度(precision)以重複之變異係數表示，參照食藥署「食品化學檢驗方法之確效規範」

⁽⁵⁾進行評估。

(二)基質匹配檢量線之製作

取空白檢體，依照材料與方法五、檢液調製之步驟處理後，取上清液1 mL，以氮氣吹至剛乾，加入適量甲醇、1 µg/mL標準溶液2、5、10、50、100及200 µL及5 µg/mL內部標準溶液10 µL，使體積為1 mL，均勻混合，經濾膜過濾後以UPLC/MS/MS分析，就各農藥標準品波峰面積比，與對應之各農藥濃度，製作0.002-0.2 µg/mL之基質匹配檢量線。

結 果

一、儀器條件參數之設定

利用超高效能液相層析串聯質譜儀(UPLC/MS/MS)搭配多重反應監測模式，分別建立每一項農藥最佳的質譜條件，包含2對前驅離子與產物離子，以作為定量離子和定性離子。17個農藥品項之詳細質譜參數如表二，MRM層析圖如圖一所示。

二、確效試驗

本研究之確效評估是依據食藥署「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽⁵⁾，考量多重殘留分析方法或氣體分析等困難度較大，其回收率容許範圍可適度擴大，惟其重複性需良好。故另參考SANTE/11813/2017⁽⁶⁾之規範，回收率需介於60-140%，線性回歸方程式之相關係數(r)應大於0.99，重複性之變異係數(CV%)小於20%。定量極限(limit of quantitation, LOQ)之評估為添加含有已知待測物之低濃度樣品，依照材料與方法五、檢液調製之步驟處理後，層析圖中待測物之訊號/雜訊比 ≥ 10 ，且其回收率及重複性符合上述要求。

本研究於蔬果類、高葉綠素類、穀類及茶類基質添加低濃度(分別為0.01、0.01、0.02

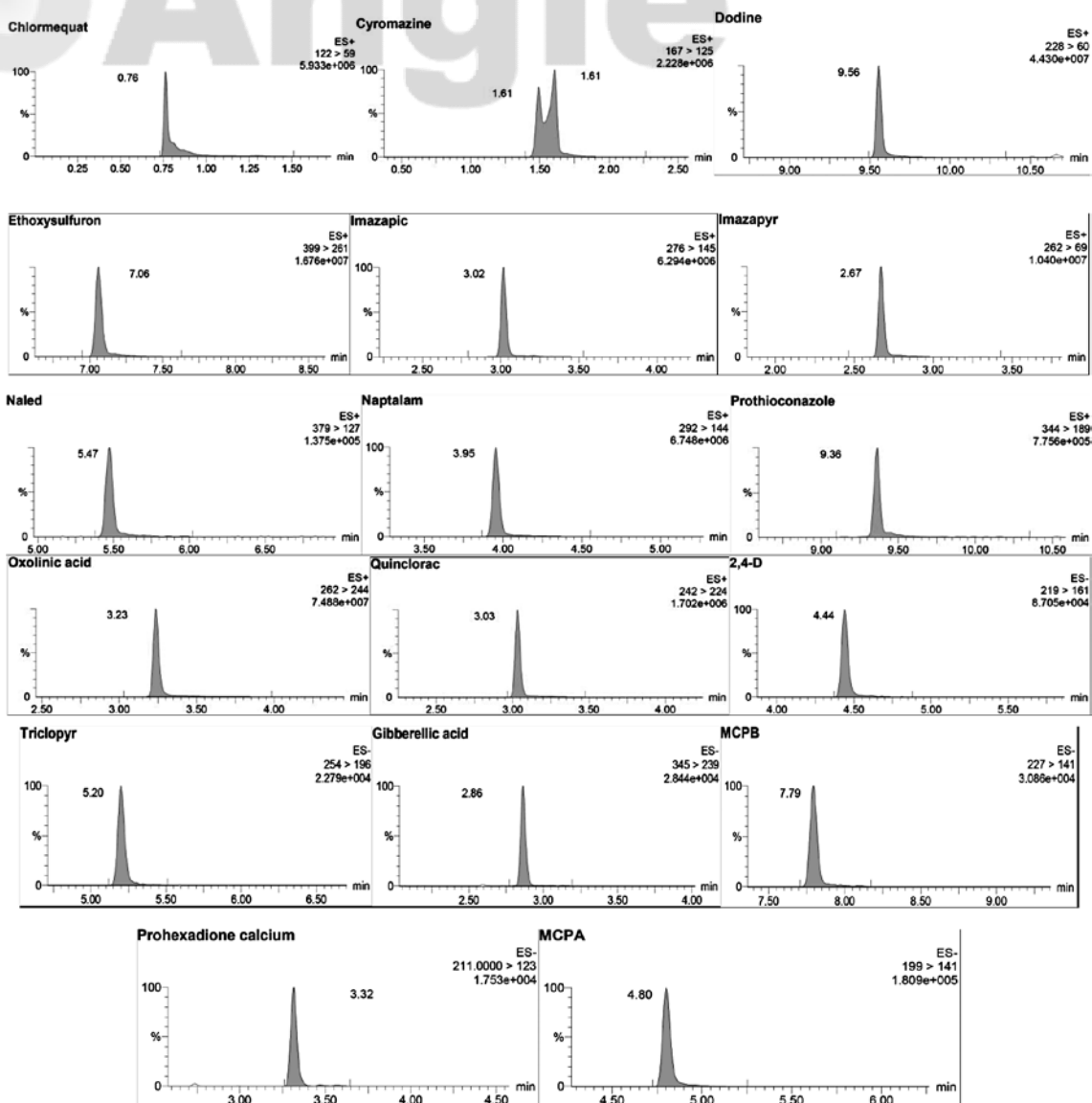
及0.05 ppm)及高濃度(分別為0.05、0.05、0.1及0.2 ppm)之17品項農藥混合標準品進行同日(intraday)試驗，以測試淨化粉劑與檢體基質之適用性，並利用所得之結果評估檢驗方法之準確度(accuracy)、精密度(precision)及定量極限(LOQ)。

(一)蔬果類基質

蔬果類基質以蘋果作為代表進行試驗，結果顯示，使用淨化粉劑I或淨化粉劑II之組別中，prothioconazole於0.01及0.05 ppm添加濃度之回收率皆低於11%，且變異係數皆高於25%。而其餘16項農藥在淨化粉劑I處理下，2種添加濃度之回收率均介於63.7 - 102.6%之間，變異係數皆小於20%，基質匹配檢量線相關係數(r)皆大於0.99；在淨化粉劑II處理下，2種添加濃度之回收率均介於62.9 - 100.3%之間，除乃力松(naled)於0.01 ppm添加濃度之變異係數為20.2%外，其餘農藥之變異係數皆小於20%，基質匹配檢量線相關係數(r)皆大於0.99。因淨化粉劑I之成本較低，所以定量極限的評估上，使用淨化粉劑I之結果來評估，詳如表三。

(二)高葉綠素類基質

高葉綠素類基質以空心菜作為代表進行試驗，結果顯示，於0.01及0.05 ppm添加濃度下，prothioconazole於淨化粉劑I或淨化粉劑II之組別中，其回收率皆因儀器訊號低於檢量線最低點0.002 µg/mL，故無法評估回收率及變異係數；乃力松(naled)於淨化粉劑I處理下，回收率分別為54.3及58.7%，在淨化粉劑II處理下，回收率分別為67.0及51.5%；而其餘15項農藥在淨化粉劑I處理下，2種添加濃度之回收率均介於69.4 - 99.3%之間，變異係數皆小於20%，檢量線相關係數(r)皆大於0.99；在淨化粉劑II處理下，回收率均介於65.0 - 98.4%之間，變異係數也皆小於20%，



圖一、超高效能液相層析串聯質譜儀分析17項農藥標準品200 ng/mL之MRM圖譜

檢量線相關係數(r)皆大於0.99。但於實驗過程中，發現相較於淨化粉劑I處理之檢液，使用淨化粉劑II處理之檢液較為澄清，所以定量極限的評估上，使用淨化粉劑II之結果來評估，詳如表四。

(三)穀類基質

穀類基質以白米作為代表進行試驗，結果顯示，於0.02及0.1 ppm添加濃度下，在使用淨化粉劑III之實驗結果中，賽滅淨(cyromazine)之回收率分別為59.8及59.0%；乃力松(naled)之回收率分別為8及4.4%；prothioconazole之回收率分別為

農產品中17項農藥殘留分析方法之探討

表三、於蘋果基質中添加0.01及0.05 ppm之17項農藥標準品，以淨化粉劑I或淨化粉劑II處理後之平均回收率、變異係數及定量極限

農藥	淨化粉劑I				淨化粉劑II				LOQ (ppm)
	0.01 ppm (n=3)		0.05 ppm (n=3)		0.01 ppm (n=3)		0.05 ppm (n=3)		
	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	
Chlormequat	63.7	2.9	68.8	4.8	67.5	3.2	69.1	2.7	0.01
Cyromazine	68.6	5.1	71.0	0.5	66.8	2.8	62.9	0.6	0.01
Dodine	102.6	2.7	101.8	1.0	99.7	0.5	91.1	7.8	0.01
Ethoxysulfuron	93.8	3.4	96.8	1.5	95.8	2.2	92.6	1.1	0.01
Imazapic	94.3	1.7	97.4	0.7	98.9	0.9	96.3	2.2	0.01
Imazapyr	93.7	1.2	94.5	0.8	92.7	2.2	91.6	1.3	0.01
Naled	86.2	14.4	95.7	1.1	77.8	20.2	92.7	6.3	0.01
Naptalam	94.9	4.9	96.7	0.2	91.5	1.6	89.7	0.7	0.01
Prothioconazole	8.1	71.8	3.8	26.1	11.0	58.7	3.5	25.4	- ^a
Oxolinic acid	91.1	4.8	92.3	1.1	88.7	1.8	82.0	1.4	0.01
Quinclorac	89.3	9.0	92	2.6	90.9	0.8	88.8	0.8	0.01
2,4-D	100.1	11.1	93.1	3.1	93.7	8.0	93.1	3.2	0.01
Gibberellic acid	97.1	18.2	88.7	7.9	74.3	16.5	89.1	12.1	0.01
MCPB	94.6	6.5	100.1	4.8	86.0	2.6	95.6	5.1	0.01
Prohexadione calcium	77.1	9.4	100.3	9.7	100.3	5.9	94.7	13.7	0.01
MCPA	94.4	6.3	96.1	0.8	91.4	9.1	94.2	0.5	0.01
Triclopyr	93.5	13.5	88.0	5.6	88.1	10.8	91.7	6.7	0.01

^a 因回收率不佳而未評估定量極限(LOQ)

30.3及45.7%；其餘14項農藥品項之回收率均介於64.3 - 114.1%之間，變異係數皆小於20%，檢量線相關係數(r)皆大於0.99。所以定量極限取添加濃度0.02 ppm之回收率結果來評估，詳如表五。

(四)茶類基質

茶類基質以綠茶作為代表進行試驗，結果顯示，在使用淨化粉劑II之試驗結果，除多寧(dodine)外，其餘16項農藥品項在此2種添加濃度之回收率均介於62.5 - 102.1%之間，變異係數皆小於20%，檢量線相關係數(r)皆大於0.99。

在使用淨化粉劑IV之試驗結果，於0.05

ppm添加濃度時，克美素(chlormequat)、賽滅淨(cyromazine)、亞速隆(ethoxysulfuron)、鈉得爛(naptalam)、二、四地(2,4-D)、加撲草(MCPB)及MCPA等7項農藥其回收率均介於60.4 - 87.3%之間，且變異係數皆小於20%，檢量線相關係數(r)皆大於0.99；於0.2 ppm添加濃度時，克美素(chlormequat)、賽滅淨(cyromazine)、亞速隆(ethoxysulfuron)、乃力松(naled)、鈉得爛(naptalam)、二、四地(2,4-D)、勃激素 A3 (gibberellic acid)、加撲草(MCPB)及 MCPA等9項農藥品項之回收率範圍均介於61.1 - 87.6%之間，且

表四、於空心菜基質中添加0.01及0.05 ppm之17項農藥標準品，以淨化粉劑I或淨化粉劑II處理後之平均回收率、變異係數及定量極限

農藥	淨化粉劑I				淨化粉劑II				LOQ (ppm)
	0.01 ppm (n=3)		0.05 ppm (n=3)		0.01 ppm (n=3)		0.05 ppm (n=3)		
	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	
Chlormequat	69.4	3.9	74.0	1.6	66.1	5.4	65.0	1.7	0.01
Cyromazine	71.2	4.2	72.6	2.7	68.9	3.0	71.1	1.4	0.01
Dodine	88.6	3.6	95.8	1.2	83.5	1.6	83.1	2.4	0.01
Ethoxysulfuron	94.4	1.6	89.5	1.8	91.7	2.3	91.2	1.9	0.01
Imazapic	96.7	4.5	92.8	2.2	91.3	4.1	92.0	0.5	0.01
Imazapyr	82.1	16.6	91.3	5.7	97.6	18.9	86.8	2.3	0.01
Naled	54.3	19.6	58.7	3.2	67.0	6.0	51.5	8.9	0.01
Naptalam	94.3	0.8	90.2	0.4	85.4	2.6	85.1	3.0	0.01
Prothioconazole	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^b
Oxolinic acid	85.4	2.9	86.9	0.8	86.0	1.6	86.2	1.2	0.01
Quinclorac	81.7	6.4	87.8	1.4	82.4	2.3	85.7	3.3	0.01
2,4-D	94.4	3.0	82.7	7.3	91.2	5.8	94.1	3.5	0.01
Gibberellic acid	92.9	9.9	85.3	13.7	94.9	13.2	93.0	1.3	0.01
MCPB	89.6	13.2	99.3	4.0	88.4	9.4	98.0	1.1	0.01
Prohexadione calcium	78.2	13.3	91.9	3.2	77.9	13.9	93.4	4.3	0.01
MCPA	91.5	5.4	88.8	6.1	95.6	4.1	91.6	2.4	0.01
Triclopyr	93.1	12.7	87.3	5.8	81.9	7.5	98.4	2.7	0.01

^a 因儀器訊號低於檢量線最低點0.002 µg/mL，故無法評估回收率

^b 因回收率不佳而未評估定量極限(LOQ)

變異係數皆小於20%，檢量線相關係數(r)皆大於0.99。

比較此兩種淨化粉劑之效果，發現淨化粉劑II之回收率較佳，且可有效去除葉綠素等色素，所以選取淨化粉劑II進行茶類基質之淨化，其定量極限評估結果，詳如表六。

四、市售產品調查

本研究於台北市各大量販店隨機抽驗蔬果類、高葉綠素類、穀類及茶類各4件檢體，總共16件檢體，以所開發之方法進行檢驗。結果

顯示，有1件高葉綠素類檢體(紅鳳菜)驗出賽滅淨(cyromazine)，濃度為0.036 ppm，而其農藥殘留容許量標準為1 ppm，其餘檢體均未檢出，故皆符合農藥殘留容許量標準。

討 論

農藥種類眾多且應用廣泛，故在農藥分析及檢驗上，需綜合考量農藥及基質的特性，以找出最適合的檢驗方法，並持續評估檢驗方法之適用性，以因應檢驗及執法之需求，本研究為針對食藥署公開之「食品中殘留農藥檢驗方

農產品中17項農藥殘留分析方法之探討

表五、於白米基質中添加0.02及0.1 ppm 之17項農藥標準品，以淨化粉劑III處理後之平均回收率、變異係數及定量極限

農藥	0.02 ppm (n=3)		0.1 ppm (n=3)		LOQ (ppm)
	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	
Chlormequat	64.7	5.6	64.3	2.9	0.02
Cyromazine	59.8	0.5	59.0	2.0	0.02
Dodine	80.0	13.9	86.2	16.2	0.02
Ethoxysulfuron	92.8	2.7	85.7	1.2	0.02
Imazapic	91.6	1.0	85.6	2.4	0.02
Imazapyr	90.5	1.2	82.3	2.8	0.02
Naled	8.0	9.9	4.4	59.7	- ^a
Naptalam	87.6	1.7	82.7	3.1	0.02
Prothioconazole	30.3	25.3	45.7	19.3	- ^a
Oxolinic acid	93.7	1.3	87.2	1.7	0.02
Quinclorac	77.0	5.3	77.8	2.8	0.02
2,4-D	78.9	11.7	82.8	5.2	0.02
Gibberellic acid	114.1	14.3	73.1	9.2	0.02
MCPB	88.1	8.3	87.0	3.9	0.02
Prohexadione calcium	81.7	17.3	81.9	9.0	0.02
MCPA	91.1	9.4	85.0	5.4	0.02
Triclopyr	82.1	6.3	82.8	3.2	0.02

^a 因回收率不佳而未評估定量極限(LOQ)

法 - 多重殘留分析方法(六)⁽³⁾中克美素等15項農藥，進行分析方法之評估及精進，同時也評估性質相近的農藥MCPA及三氟比(triclopyr)是否可納入此方法，以作為未來方法(六)精進及修改之基礎。

本研之17項農藥之理化特性如表七，其中多數為偏酸性之農藥，故本次研究中，選用PSA含量較低之淨化粉劑，PSA為鹼性物質，主要功能為去除基質中醣類、脂肪酸、有機酸及部分色素干擾，但在淨化過程中，偏酸性之農藥也易被PSA去除而造成回收率不佳。在基質分類及粉劑的選擇上，本研究將農產品依其種類、水分含量、色素含量等，分為蔬果類、高葉綠素類、穀類及茶類，再依各類特性調整粉劑成分，評估淨化粉劑之適用性以及對回收

率及變異係數的影響。

在蔬果類及高葉綠素類基質中，於方法(六)中分別選用淨化粉劑I及II，此兩種粉劑之差別在於淨化粉劑I中不含GCB，而淨化粉劑II含有GCB，因考量蔬果之色素也可能造成干擾，故本研究將兩種基質同時測試並比較使用淨化粉劑I及II之差異。在蔬果類基質中，實驗結果顯示這兩種淨化粉劑之淨化效果及回收率無明顯差異，但是考量經濟成本，蔬果類基質選擇使用淨化粉劑I；在高葉綠素類基質中，實驗結果顯示這兩種淨化粉劑之回收率無明顯差異，但是在淨化效果上，含有GCB的淨化粉劑II較佳，GCB可有效去除色素，以避免色素造成干擾並有利於延長儀器及管柱之壽命，故高葉綠素類基質選擇使用淨化粉劑II；

表六、於綠茶基質中添加0.05及0.2 ppm 之17項農藥標準品，以淨化粉劑II或淨化粉劑IV處理後之平均回收率、變異係數及定量極限

農藥	淨化粉劑II				淨化粉劑IV				LOQ (ppm)
	0.05 ppm (n=3)		0.2 ppm (n=3)		0.05 ppm (n=3)		0.2 ppm (n=3)		
	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	
Chloromequat	75.2	5.3	77.9	2.0	61.0	5.8	63.3	9.7	0.05
Cyromazine	62.5	2.0	63.8	2.3	62.2	2.5	62.5	2.1	0.05
Dodine	43.6	4.5	41.7	1.9	38.2	8.6	39.8	14.1	- ^a
Ethoxysulfuron	92.6	1.2	91.5	0.8	87.3	2.3	87.6	4.8	0.05
Imazapic	91.1	5.2	89.6	3.6	48.7	7.2	52.7	15.2	0.05
Imazapyr	91.9	7.6	89.8	1.7	47.0	7.6	49.6	15.2	0.05
Naled	88.6	11.4	67.8	6.4	56.7	8.5	61.1	4.9	0.05
Naptalam	90.0	2.0	86.9	0.2	66.2	0.6	64.6	5.0	0.05
Prothioconazole	90.7	5.6	64.8	1.1	6.2	28.6	44.7	24.4	0.05
Oxolinic acid	79.6	1.8	81.2	0.9	19.4	6.8	20.7	27.5	0.05
Quinclorac	94.8	4.9	86.4	4.5	55.4	10.2	53.0	20.4	0.05
2,4-D	91.6	7.4	87.5	3.8	60.4	5.6	67.2	1.1	0.05
Gibberellic acid	102.1	15.8	95.3	10.0	44.8	57.5	65.5	1.3	0.05
MCPB	92.5	4.8	93.8	6.2	76.4	15.0	77.3	1.7	0.05
Prohexadione calcium	84.7	17.1	94.8	11.1	26.6	50.2	10.3	52.1	0.05
MCPA	92.1	3.5	86.7	1.7	65.1	2.8	65.8	6.0	0.05
Triclopyr	98.7	8.1	95.6	10.1	64.7	29.0	57.5	8.4	0.05

^a：因回收率不佳而未評估定量極限(LOQ)

在穀類基質中，方法(六)為使用含有C18的淨化粉劑III進行測試，C18可去除穀類中脂質之干擾，實驗結果亦顯示淨化粉劑III可有效淨化穀類基質，且17項農藥有14項之回收率介於60 - 140%及變異係數小於20%，因此穀類基質選擇使用淨化粉劑III；在茶類基質中，方法(六)為選用PSA含量較高的淨化粉劑IV，但考量分析對象為酸性農藥，且茶葉為葉綠素含量高之基質，故本研究除淨化粉劑IV外，也同時使用淨化粉劑II，並比較此兩種淨化粉劑之差異，於實驗結果發現，使用淨化粉劑IV會造成多數農藥品項之回收率下降，推測因淨化粉劑IV之PSA含量較高，使在淨化過程中，部分偏酸性之農藥易被PSA去除。若改用淨化粉劑II，

可提高原本回收率不佳之農藥品項的回收率，且淨化粉劑II含有GCB，可有效去除色素之干擾，所以茶類基質選擇使用淨化粉劑II。

Prothioconazole添加在蔬果類、高葉綠素類及穀類基質中之回收率均不佳，然而此農藥於穀類基質中，訂有殘留容許量標準(MRLs)，其範圍介於0.02 - 1 ppm之間，所以尚須持續探討此項農藥之分析方法。經文獻搜尋發現，Lin等人⁽⁷⁾針對小麥田進行prothioconazole及其代謝物prothioconazole-desthio之調查，此文獻中所使用之分析方法係基於QuEChERS前處理步驟，搭配LC-MS/MS進行分析，此分析方法可獲得良好之回收率及相對標準差(Relative standard deviation, RSD)，

農產品中17項農藥殘留分析方法之探討

表七、17項農藥之理化特性

英文名	化學式	分子量	log K _{ow}	pKa	Compound Acid/ Base Property	資料來源
Chlormequat	C ₅ H ₁₃ ClN	122.6	-3.47	No Data	No Data	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Cyromazine	C ₆ H ₁₀ N ₆	166.2	0.069	5.22	Weak base	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Dodine	C ₁₅ H ₃₃ N ₃ O ₂	287.4	1.25	No Data	No Data	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Ethoxysulfuron	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ O ₇ S	398.4	1.01	5.28	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Imazapic	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃	275.3	2.47	pKa ₁ = 2.0; pKa ₂ = 3.6; pKa ₃ = 11.1	Strong acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Imazapyr	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	261.3	0.11	pKa ₁ = 1.9; pKa ₂ = 3.6; pKa ₃ = 11	No Data	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Naled	C ₄ H ₇ Br ₂ Cl ₂ O ₄ P	380.8	2.18	No Data	No Data	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Naptalam	C ₁₈ H ₁₃ NO ₃	291.3	5.42	4.6	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Prothioconazole	C ₁₄ H ₁₅ Cl ₂ N ₃ OS	344.3	2.0	6.9	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Oxolinic acid	C ₁₃ H ₁₁ NO ₅	261.2	1.42	6.87	No Data	EURL DataPool ⁽⁹⁾
Quinclorac	C ₁₀ H ₅ Cl ₂ NO ₂	242.1	-1.15	4.34	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
2,4-D	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	221	-0.82	3.40	Acidic	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Gibberellic acid	C ₁₉ H ₂₂ O ₆	346.4	0.72	4.0	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
MCPB	C ₁₁ H ₁₃ ClO ₃	228.7	1.32	4.5	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Prohexadione calcium	C ₁₀ H ₁₀ CaO ₅	250.3	-2.90	5.15	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
MCPA	C ₉ H ₉ ClO ₃	200.6	-0.81	3.73	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾
Triclopyr	C ₇ H ₄ Cl ₃ NO ₃	256.5	4.62	3.97	Weak acid	Pesticide Properties Database ⁽⁸⁾

然而其使用之萃取液、萃取粉劑及淨化粉劑與本研究略有不同，未來將參考此文獻之分析方

法，針對穀類基質中prothioconazole開發檢驗方法。

結 論

本研究為針對食藥署公開之「食品中殘留農藥檢驗方法—多重殘留分析方法(六)」⁽³⁾進行分析方法之精進及擴增檢驗項目。在淨化粉劑之適用性評估方面，於蔬果類、高葉綠素類基質及穀類基質中，方法(六)建議選用淨化粉劑I、II及III，而經本研究評估後，各添加濃度符合確效規範之農藥品項數為：蔬果類16項、高葉綠素類15項及穀類14項，故建議仍維持原實驗條件；於茶類基質中，方法(六)建議使用淨化粉劑IV，本研究評估並比較淨化粉劑II及IV，結果顯示，在使用淨化粉劑II之試驗結果，各添加濃度符合確效規範之農藥品項數為16項，而在使用淨化粉劑IV之試驗結果中，於0.05 ppm添加濃度時，符合確效規範之農藥品項數為7項；於0.2 ppm添加濃度時，符合確效規範之農藥品項數為9項，故建議茶類基質改使用淨化粉劑II，以涵蓋較多農藥檢測品項。在擴增檢驗項目方面，其結果顯示MCPA及三氯比(triclopyr)於各基質中，平均回收率及變異係數皆符合確效規範，故建議此兩項農藥未來可納入方法(六)中。由於prothioconazole於蔬果、高葉綠素類及穀類基質之回收率不佳，且其於穀類基質中訂有殘留容許量標準，將另行評估prothioconazole於穀類基質中之檢驗方法。未來可以本研究方法為基礎，加入其他性質相近之農藥品項進行確效評估，擴增可檢測之農藥項數，並用於邊境及後市場之農藥殘留檢驗，有助於落實執法，為國人食品安全把關。

參考文獻

1. 衛生福利部。2018。農藥殘留容許量標準。107.09.12部授食字第1071302309號令修正。[<http://consumer.fda.gov.tw/Law/PesticideList.aspx?nodeID=520>]。
2. Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J. 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *J. AOAC Int.* 86(2): 412-431.
3. 食品藥物管理署。2017。建議檢驗方法。食品中殘留農藥檢驗方法 - 多重殘留分析方法(六)。公開日期：106年4月26日。[<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=23294&t=s>]。
4. 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. [<https://standards.cen.eu/index.html>].
5. 食品藥物管理署。2013。食品化學檢驗方法之確效規範(第二次修正)。發布日期：102年9月9日。[<http://www.fda.gov.tw/tc/siteList.aspx?sid=4115>]。
6. European Commission Directorate General for Health and Food Safety. 2017. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE/11813/2017. [http://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727].
7. Lin, H.F., Dong, B. and Hu, J.Y. 2017. Residue and intake risk assessment of prothioconazole and its metabolite prothioconazole-desthio in wheat field. *Environ. Monit. Assess.* 189: 236-244.
8. University of Hertfordshire. 2018. Pesticide Properties Database. [<https://sitem.herts.ac.uk/>]

aeru/ppdb/en/index.htm

9. EU Reference Laboratories for Residues of

Pesticides. 2018. EURL DataPool. [<https://www.eurl-pesticides-datapool.eu/>].

Development of a Multi-Residue Method for 17 Pesticides Analysis in Agricultural Products

CHIAO-YU YU¹, CHUN-YU CHEN¹, GUAN-JHIH PENG¹,
CHIA-DING LIAO¹, YA-MIN KAO¹, DER-YUAN WANG¹,
HWEI-FANG CHENG¹, SHAO-KAI LIN², WEI-CHEN CHUANG²,
CHEN-HUA HUANG² AND TSYR-HORNG SHYU²

¹Division of Research and Analysis, TFDA

²Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture

ABSTRACT

This study used the QuEChERS sample preparation technique with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to optimize the “Method of Test for Pesticide Residues in food-Multiresidue Analysis (6)” for determining 15 pesticides and additional two new pesticides, MCPA and triclopyr, to this method. Four types of matrices - fruits, high chlorophyll vegetables, cereals and teas were tested in this study. We modified the content of extract powder, such as sodium citrate, primary secondary amine and disodium hydrogen citrate to maintain the pH of extract and get better extraction performance. We chose apple, spinach, rice and green tea as the representative matrices. The results showed that the recoveries and coefficients of variation of 16 items of pesticide in fruits, 15 in high chlorophyll vegetables, 14 in cereals and 16 in green tea were between 60-140% and less than 20%. In term of quantitative test, the limit is 0.01 ppm for fruits and vegetables as well as high chlorophyll vegetables, 0.02 ppm for cereals, and 0.05 ppm for teas. In this study, 16 market commodity inspections were tested, and only gynura bicolor was detected with 0.036 ppm of cyromazine, which compliants with Taiwan “Standard for Pesticide Residues Limits in Food.”

Key words: pesticides, QuEChERS, UPLC/MS/MS