



「2008 年歐洲農藥殘留研討會」紀實

曾素香

近年來國際間有關殘留農藥檢驗技術進步快速，包括快速前處理技術--QuEChERS、運用 GC/MS (MS)、GC/TOF、LC/MS/MS 及 LC/TOF 等精密儀器進行偵測，而多重殘留分析之偵測品項更增加至數百種。歐盟對於食品中殘留農藥檢驗之分析方法確效及日常品管，要求相當嚴謹且訂定明確規範。歐洲農藥殘留研討會 (European Pesticide Residue Workshop, EPRW) 係針對食品及飲料中農藥殘留相關領域之近期發展所舉辦之研討會，會中進行論文發表及討論，1996 年首次於荷蘭舉行，爾後即每隔兩年舉辦一次。食品中殘留農藥檢驗技術之開發及公告方法研擬為本局重要工作，為提升本局殘留農藥之檢驗技術及加速公告方法之研擬，並與國際接軌，筆者受派參加 2008 年 6 月 1 日至 5 日在德國柏林舉辦之第七屆歐洲農藥殘留研討會，除了學習各國之先進檢驗技術外，並以壁報發表本局研究成果，期能建立與國際農藥檢驗專家之聯絡溝通管道。

此次研討會由德國風險評估聯邦局 (Federal Institute for Risk Assessment, BfR) 主辦，主席為 Dr. Lutz Alder。研討會議程中包括 28 場演講、3 場壁報討論時間及 10 場贊助廠商演講 (vendor seminars)。邀集之論文主題包括採樣及樣品製備、簡單而穩健 (robust) 之淨化流程、分析技術之趨勢、串聯質譜儀及飛行式質譜儀之應用、高解析度 HPLC (UPLC/RRLC)、品保及查核、管理主題/歐盟 MRLs 調和 (harmonized European MRLs)、農殘監測及多重殘留之風險評估。壁報部分區分為 4 大類：(1) PA：分析方法之開發及應用 (2) PM：監測及攝入評估 (3) PR：法規及風險評估 (4) PO：其他。

EPRW 2008 科技委員會之成員來自德國 BfR、瑞典國家食品局、法國中央科學實驗室、荷蘭食品及消費產品安全局、希臘國家農業研

究中心 (National Agricultural Research Foundation, NAGREF)、義大利 ISS (Italian National Institute of Health)、西班牙 Almeria 大學及英國 CSL (Central Science Laboratory)，負責議程之安排及論文之審核。此次壁報論文共有 188 篇，包括 PA 組 131 篇、PM 組 34 篇、PR 組 8 篇及 PO 組 15 篇。

此次參加 EPRW 2008 之國家以歐盟為主，但亦包括美國、日本、韓國、中華人民共和國、印度等國家，計 56 國，參加人數則超過 500 人，研討會中發表之論文，其內容相當豐富且先進。茲將重要主題內容整理如下：

一、多重殘留分析檢體前處理技術

近年來由於採用精密之質譜檢出器進行農藥殘留量之檢測，檢體前處理不需經繁瑣之淨化流程即可直接進樣分析，並且有靈敏之偵測極限。檢體製備前處理技術 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) 於 2003 年度被提出，目前已被歐盟及美國廣泛應用於殘留農藥檢驗，主要係將均質檢體與萃取溶劑及無水硫酸鎂等混合振搖萃取，上層液經淨化劑混合淨化後即可注入 GC/MS (MS) 或 LC/MS/MS 分析。此檢體前處理流程未經多次萃取、減壓濃縮及定容等傳統農藥殘留分析步驟，可大幅減少前處理時間並增加農藥分析品項。許多研究即針對 QuEChERS 方法使用之萃取溶劑、淨化粉劑、適用農藥品項及檢體類別等進行探討，並與其他普遍使用之多重殘留分析方法進行比較。QuEChERS 方法目前經研究顯示可應用於蔬果、穀類、堅果類、魚肉、清涼飲料、酒及牛奶等檢體。

QuEChERS 等快速檢體前處理方法雖然快速，但較髒之萃取液直接進入儀器分析可能造成許多問題，包括基質效應、層析系統之滯留時間偏移及波峰托尾等，會影響定性及定量結果。檢體中存在之基質可能對分析物於 LC/MS/MS 或 GC/MS 訊號產生增強 (enhancement) 或抑制 (suppression)。就 LC/MS/MS 而言，基質存在通常會抑制分析物之離子化，對 GC 而言，則可能因為共析出基質 (co-eluting matrix

compound) 與注射口及層析管柱之活性中心 (active site) 反應形成對分析物之保護作用而有增強效應 (matrix-induced enhancement)。基質組成可區分為”揮發性 (volatile)” 及”非揮發性 (non-volatile)” 物質，於不同階段影響分析流程。非揮發性物質 (如糖、脂肪酸及有機酸) 於氣相層析系統中，可能沈積於進樣系統或管柱而產生活性中心，進而影響滯留情形；於液相層析質譜分析系統中，則與分析物共析出而造成訊號抑制；揮發性物質 (如氣味) 則可能干擾氣相層析系統之偵測，如質譜檢出器或其他選擇性檢出器 (ECD 或 NPD)。為減少基質效應對定量所造成之誤差，可使用基質匹配標準品 (matrix-matched standard) 進行定量或於 GC 系統添加保護劑 (protectant)。

面對複雜基質及使分析系統更為穩定，部分檢驗流程中仍需淨化步驟，採用自動化固相萃取匣淨化系統 (automated SPE clean-up system) 可提升分析之再現性及線性。至於衛生標準相當嚴格之有機食品及嬰兒食品，亦需進一步淨化以提升方法之靈敏度及正確性。複雜基質可利用 C18、PSA 及 GCB SPE 等進行淨化，含硫成份之蒜粉則需在 QuEChERS 流程中，添加鹽類前先加入硝酸銀放置 15 分鐘，咖啡萃取液則需增加矽藻土管柱淨化步驟，以去除極性干擾物。美國 FDA 發表之人蔘粉中農藥多重殘留分析方法，係使用 GenoGrinder® 以乙酸乙酯萃取及經 GPC 及 SPE 二階段淨化。簡化檢體前處理 (如 QuEChERS) 製備得之檢液，注入氣相層析質譜儀，可能污染 liner，注射數針後即造成波峰變寬或波峰消失，可採用自動內管 (liner) 更換系統 (Automated Liner Exchange, ALEX)，系列樣品分析後之可自動更換內管，並繼續檢測。

為節省有機溶劑之使用量，可將檢體研磨成小顆粒，採取極少量 (particle size < 400 μm) 之 0.1 g 檢體進行所謂之微量萃取 (micro-extraction)，所得分析結果與傳統取樣量 (10 g) 具有相似結果，顯示研磨成小顆粒之檢體，其均勻性良好，僅取少量即具代表性。MSPD (matrix solid phase dispersion) 前處理方法可取代

GPC 或 SPE 淨化方法，進行綿羊油及冷壓柑橘油中殘留農藥殘留之檢測，並可將檢體與粉劑混合後載入固相萃取匣上部，有機溶劑沖提過程中即同步進行了萃取及淨化步驟，可節省前處理時間及有機溶劑使用量。水產食品樣品可以 ASE (accelerated solvent extractor) 進行萃取，再以 SPE 去除油脂。SBSE (stir bar sorptive extraction) 是一種快速、經濟有效、單一步驟即可達萃取及濃縮目的之前處理技術，其萃取機制及優點與固相微萃取 (solid phase micro extraction, SPME) 相似，其濃縮倍率 (enrichment factor) 與萃取相 (polymethyl disiloxane, PDMS) 之含量有關，可濃縮 100 倍以上，但是分析物從水相萃取進入 PDMS 相之效率取決於分配係數 (partition coefficient)，農藥之分配係數可以 $K_{o/w}$ (octanol-water distribution constant) 表示，高 $K_{o/w}$ 之農藥適用此法，低 $K_{o/w}$ 之極性農藥則回收率低或無法檢測。

二、串聯質譜儀及飛行式質譜儀於多重殘留分析之應用

傳統之農藥殘留量檢驗方法係採用氣相層析儀附火焰光度檢出器、電子捕獲檢出器或氮磷檢出器，或者採用液相層析儀附螢光檢出器、紫外光檢出器，進行有機磷劑 (organophosphorous)、有機氯劑 (organochlorines)、triazines、除蟲菊精 (pyrethroids) 及胺基甲酸鹽劑 (carbamates) 等農藥之檢測，近年來則均導向以質譜檢出器進行分析，以獲得更良好的鑑別性。農藥依據揮發性、極性及耐熱性等特性之不同，需使用氣相層析系統或液相層析系統分析，同時利用 GC/MS (MS) 及 LC/MS/MS，始可全面性監測農藥品項。

運用氣相層析質譜儀進行食品中殘留農藥之檢測發展較早，初期係選用四極柱式質譜儀或離子阱式串聯質譜儀進行檢測，四極柱式質譜儀需選用選擇性離子偵測模式 (SIM) 以提升感度，無法獲得完整之質譜訊息且易受複雜基質之干擾，離子阱式串聯質譜儀雖有良好之鑑別性，但定量之穩定性則較差。近年來氣相層析四極柱式串聯質

譜儀，具良好之選擇性、感度及定量功能，可運用於複雜基質進行百種以上農藥之分析，為目前熱門之研究主題。

近年來以液相層析四極柱式串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 進行農藥多重殘留分析已相當成功，可同步定性及定量，應用之農藥範圍很廣，對於較為極性或熱不穩定農藥具有良好感度。以 LC/MS/MS 進行農藥檢驗之相關文獻相當多，本局此次研討會亦以相關研究主題進行壁報發表。目前以高效能液相層析儀 (Ultra Performance Liquid Chromatograph, UPLC) 搭配四極柱式串聯質譜檢出器，運用多重反應偵測模式 (multiple reaction monitoring, MRM) 進行偵測 (每種農藥選取 2 個 MRM)，進行 2 次注射分析，層析時間各為 10 分鐘，可定性定量分析 400 種以上農藥，然而為達良好之儀器分析表現 (良好感度及足夠波峰數據點數)，使具良好重複性，四極柱式串聯質譜儀每次分析之農藥品項擴增有其極限，常需增加儀器注射分析次數。考量目前已知農藥已超過 1000 種，為有效快速篩檢使用農藥，學者即利用液相層析附飛行式質譜儀 (LC-TOF-MS) 進行農藥成分之篩檢及定量評估，檢出農藥即可作為日常偵測農藥之優先選定對象，以減少日常分析之耗費成本及時間並提升效益。飛行式質譜儀具高解析度及高靈敏度，可提供精準之分子量資訊、離子碎片之結構訊息，配合同位素分析等軟體，可有效推測複雜基質中殘留之未知物成份，其全離子掃描模式之感度比四極柱式質譜儀高 10-100 倍。

三、二硫代胺基甲酸鹽劑 (Dithiocarbamates) 之分析

二硫代胺基甲酸鹽劑 (Dithiocarbamates, DTC) 對植物病菌具廣效型殺菌效果，被廣泛使用於農業上作為殺菌劑，亦與現代系統性殺菌劑 (systemic fungicide) 結合使用，其中 maneb group，包括 zineb、maneb、mancozeb、propineb 及 metiram，在歐盟檢出率相當高且為檢出超量農藥頻率最高者。檢測 DTC 之一般方法為將檢體加熱及加酸分解，使釋出 CS_2 而以 GC 或分光光度計檢測，但是此法無法區別不同子群 (subclass) 之 DTC，且易受十字花科作物之內源性含

硫成分產生之 CS_2 干擾，而出現偽陽性。目前具選擇性且靈敏之 LC/ESI-MS 方法已被開發出來，流程中通常包括甲基化，亦可萃取後直接進樣分析，但需添加內部標準品。檢體之均質通常採用低溫法，加入乾冰後進行粉碎，可減少 DTC 殘留物 (incurred residues) 之漏失。考量 DTC 主要殘留於表面，均質過程中易散失等特性，可以表面萃取法 (surface extraction) 進行萃取，以減少基質干擾及 DTC 漏失。

四、農藥個別方法或群組方法之新發展

許多農藥由於特性之不同，無法以多重殘留分析方法分析，而必需以個別分析方法 (single residue method, SRM) 或群組方法 (group-specific method) 來進行分析。樣品前處理依據農藥特性之不同，進行 pH 調整、衍生化、水解或頂空進樣等方式，偵測部分則可能必需使用不同的層析管柱 (GC 或 LC)、不同移動相 (LC) 或檢測技術。

需以個別方法進行分析之農藥，常遇見的問題包括(1)層析波形不佳或訊號弱 (如有機錫)：改變層析、檢測器條件或衍生化以提升感度。(2)分配萃取或吸附時之漏失：高極性之酸性或鹼性農藥 (如 chlormequat、phenoxy acids)，可以單相萃取 (one-phase extraction) 或調整 pH 值後進行液/液萃取，高脂溶性農藥 (如 DDT、HCB) 則採非極性溶劑進行萃取，以提升回收率。(3)降解產生漏失：於分析過程中因水解 (如 captan、pymetrozine)、氧化 (如 ethifencarb) 或與基質反應 (如 chlorothalonil) 而產生漏失，可分別利用 pH 值控制、快速分析及低溫度控制以解決問題。(4)揮發漏失：高揮發性物質 (如 phosphine、ethylene oxide、 CS_2) 可利用冷凍研磨 (cryo-milling)、特殊儀器條件或頂空進樣分析。(5)殘留物與法規標準之型式不同：需將結合態殘留物釋出或本體及代謝產物 (parent/metabolite) 加總。