

# 三福林農藥中亞硝基二正丙胺檢驗方法建立

許廷豪<sup>1\*</sup>、黃蕙安<sup>1</sup>、洪琳倩<sup>1</sup>

## 摘要

許廷豪、黃蕙安、洪琳倩。2024。三福林農藥中亞硝基二正丙胺檢驗方法建立。臺灣農藥科學 17 : 43-56。

本研究建立三福林農藥中不純物亞硝基二正丙胺之液相層析串聯質譜法，以應用於檢測三福林原體及成品中亞硝基二正丙胺含量是否符合我國農藥標準規格準則第三條附表三之二農藥有害不純物之限量規格訂定之限量標準。研究參考液相層析串聯質譜儀應用於其他基質中分析亞硝基二正丙胺之文獻，建立適當分析條件。以乙腈配製不純物標準液，動相為甲酸水溶液搭配乙腈進行梯度設定，選用 C18 管柱，分析流速 0.2 mL/min，並建立多重反應偵測 (multiple reaction monitoring, MRM) 分析條件。方法檢量線相關係數 (r) 可達 0.99 以上。供試樣品 2 件包含原體及乳劑成品，以乙腈配製，原體加入溶劑後經超音波振盪萃取，再經濾膜過濾後上機，乳劑樣品另以商業化 QuEChERS 萃取粉末及淨化管淨化，以降低成品中其他成分對質譜儀之污染，2 件樣品均未檢出亞硝基二正丙胺成分。回收率試驗，添加標準品於空白樣品中，以上述樣品配製及淨化步驟製備分析檢液，原體高濃度 (0.0001%) 及低濃度 (0.00004%) 回收率分別為 107% 及 98%；乳劑高濃度 (0.0001%) 及低濃度 (0.00002%) 回收率分別為 81% 及 84%。方法定量極限原體為 0.409 mg/kg、乳劑為 0.214 mg/kg，低於法規限量標準。本研究建立之方法符合相關確效試驗標準，可作為國內三福林農藥中亞硝基二正丙胺法定限量標準之參考檢驗方法。

**關鍵詞：**三福林、亞硝基二正丙胺、液相層析串聯質譜儀

---

接受日期：2024 年 11 月 7 日

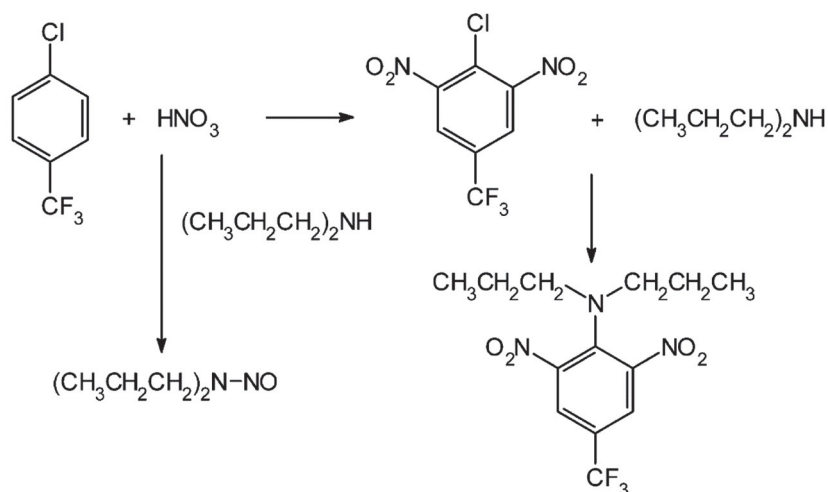
\* 通訊作者。E-mail: thhsu@acri.gov.tw

<sup>1</sup> 臺中市 農業部農業藥物試驗所

## 前言

三福林為一種二硝基苯胺類除草劑<sup>(19)</sup>，在其原體合成之胺化步驟中，可能發生致亞硝化劑與二丙胺之副反應，生成不純物亞硝基二正丙胺<sup>(6,7)</sup>，如圖一，其物理化學性質如表一<sup>(5)</sup>。亞硝基二正丙胺在國際癌症研究署人類致癌因子分類中被歸類為 2B 級：可能為致癌因子<sup>(12)</sup>。「動物研究顯示，暴露於亞硝基二正丙胺會增加罹患肝癌、鼻咽癌以及胃癌的機率」<sup>(1)</sup>。聯合國糧食及農業組織（簡稱糧農組織）所發布之三福林農藥規格中<sup>(9)</sup>，針對亞硝基二正丙胺之限量標準為：原體中不得大於 1 mg/kg、成品中不大於有效成分標稱含量之 1 mg/kg；美國環保署要求三福林原體及成品於登記時須提交

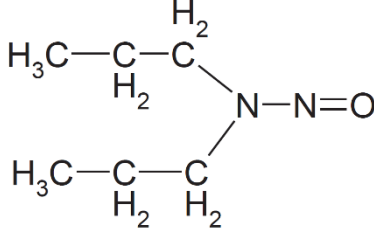
亞硝基二正丙胺分析數據，以確保其含量小於等於 0.5 ppm<sup>(18)</sup>；我國農藥標準規格準則第三條附表三之二農藥有害不純物之限量規格訂定了三福林農藥中亞硝基二正丙胺之限量標準：原體中小於等於 0.5 mg/kg、成品中不大於有效成分標稱含量之 0.00005%<sup>(3)</sup>。為有效控管國內三福林農藥中不純物亞硝基二正丙胺含量，實有必要建立此不純物之檢驗方法。關於亞硝基胺類化合物之分析，傳統上使用氣相層析-熱能分析儀（GC-TEA），因其對亞硝基化合物之選擇性高。然而隨著質譜儀的發展，儀器靈敏度之提升，已有許多應用質譜儀於不同基質如水、藥物、人工唾液、橡膠製品中亞硝基胺類化合物分析之案例<sup>(13,16)</sup>。分析三福林中亞硝基二正丙胺過去有使用氣相層析-熱能分析儀<sup>(20)</sup>、氣相層析儀-氮磷檢出器<sup>(15)</sup>、氣相層析質譜



圖一、三福林合成過程中形成亞硝基二正丙胺<sup>(6)</sup>。

Fig. 1. Formation of *N*-nitrosodi-*n*-propylamine during trifluralin synthesis<sup>(6)</sup>.

表一、亞硝基二正丙胺物理化學性質<sup>(5)</sup>**Table 1.** Physical and chemical properties of *N*-nitrosodi-*n*-propylamine<sup>(5)</sup>

Chemical name	1-Propanamine, N-nitroso-N-propyl
Synonym(s) and registered trade name(s)	N-nitrosodipropylamine; N,N-dipropylnitrosamine; N-Nitroso-N-di- <i>n</i> -propylamine; NDPA; DPNA; DPN
Chemical formula	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O
Chemical structure	
CAS Registry	621-64-7
Molecular weight	130.19
Color	Yellow
Physical state	Liquid
Melting point	6.6°C (estimated) -12°C (estimated)
Boiling point	206°C
Density at 20°C	0.9163
Solubility:	
Water at 23–25°C	9,894 mg/L
Organic solvents	Soluble in alcohol, ether, other organic solvents
Partition coefficients:	
Log Kow	1.36
Log Koc	2.11 (estimated)
Vapor pressure at 20°C	0.086 mm Hg (estimated)

儀<sup>(10)</sup>等。糧農組織所發布的三福林農藥規格中，附有原體中亞硝胺檢驗方法<sup>(11)</sup>，其中包含亞硝基二正丙胺，該方法使用氣相層析-熱能分析儀。熱能分析儀雖有上述優點，但應用上較侷限於亞硝基化合物，非屬廣泛型檢出器<sup>(17)</sup>，氣相層析質譜法則為一次質譜法，若樣品基質較複雜時仍可能影響分析準確性<sup>(2)</sup>。本研究參考 Sung 等人

應用液相層析串聯質譜儀分析橡膠奶嘴中亞硝胺類化合物之檢驗方法<sup>(17)</sup>，並尋找適當儀器分析條件、搭配樣品淨化程序，建立三福林農藥原體及成品中不純物亞硝基二正丙胺液相層析串聯質譜法，確保方法確效結果符合品管要求，可有效應用於檢驗三福林農藥產品中該不純物之含量是否符合國內法規限量標準。

## 材料與方法

### 一、材料

#### (一) 標準品、試藥、耗材與溶劑

1. 亞硝基二正丙胺標準品 (純度 99.97%, Supelco)。
2. 供試農藥樣品：三福林 97.5% 原體、三福林 44.5% 乳劑，由國內農藥公司提供。
3. 乙腈 (acetonitrile) 為 HPLC 級 (J. T. Baker)。
4. 甲酸 (formic acid) 為 ACS 級 (Honeywell)。
5. 去離子水，經 0.22  $\mu\text{m}$  millipore 過濾，比電阻 18.2  $\text{M}\Omega\text{-cm}$  以上 (Millipore)。
6. 0.2  $\mu\text{m}$  聚四氟乙烯 (polytetrafluoroethylene, PTFE) 過濾膜，直徑 13 mm (Agilent)。
7. 離心管 50 mL，聚丙烯 (polypropylene, PP)，材質 (CORNING)。
8. QuEChERS 萃取鹽包 (S-Q-N-50)，含無水硫酸鎂及氯化鈉 (Oligaga)。
9. QuEChERS 淨化管 (S-Q-N-15) (Oligaga)。
10. 陶瓷攪拌石 (ceramic stone) (UniRegion Bio-Tech)。

#### (二) 儀器設備與器皿

1. 超音波振盪裝置 (BRANSON)。
2. 試管振盪器 (VISION SCIENTIFIC)。
3. 離心機 (KUBOTA 4200, max RCF

2,380  $\times$  g)。

4. 高速震盪研磨機 (SPEX SamplePrep, Geno/Grinder 2010)。
5. 精密天平，d = 0.1 mg (METTLER TOLEDO, XS204)。
6. 精密天平，d = 0.01 mg (METTLER TOLEDO, XS204)。
7. 液相層析串聯質譜儀 (Agilent 1200/6410 LC-MS/MS)。
8. 定量瓶 10 mL、25 mL、100 mL、1,000 mL (A 等級, BRAND)。
9. 刻度吸管 1 mL、2 mL、5 mL、10 mL (AS 等級, BRAND)。

### 二、方法

#### (一) 動相之配製

1. 動相 A：含 0.1% 甲酸水溶液，於 1,000 mL 定量瓶中，加入約 900 mL 去離子水，以刻度吸管量取 1 mL 甲酸加入定量瓶中，再以去離子水定容至刻度，混合均勻備用。
2. 動相 B：乙腈。  
動相梯度條件，如表二。

#### (二) 液相層析儀條件

管柱：Agilent ZORBAX SB C18 2.1  $\times$  100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ 。保護管柱：Agilent ZORBAX SB C18 Cart. 2.1  $\times$  15 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ 。流速：0.2 mL/min。注入量：10  $\mu\text{L}$ 。分析溫度：40°C。

表二、液相層析動相梯度條件

Table 2. HPLC gradient conditions

Time (min)	Flow rate (mL/min)	Mobile phase <sup>1)</sup>	
		A(%)	B(%)
0	0.2	80	20
10	0.2	0	100
15	0.2	0	100
15.1	0.2	80	20
20.1	0.2	80	20

<sup>1)</sup> Mobile phase of solution A : 0.1% formic acid in deionized water.

<sup>2)</sup> Mobile phase of solution B : Acetonitrile.

### (三) 串聯質譜儀條件

離子源：採用電灑離子化正離子模式 (ESI+)。乾燥氣溫度：325°C。乾燥氣流量：10 L/min。霧化氣壓力：45 psi。毛細管電壓：4,000 V。

### (四) 標準液配製及檢量線製作

精確稱取亞硝基二正丙胺標準品 5 mg (5.45 mg) 置入 25 mL 定量瓶中，加入約 20 mL 乙腈，以超音波振盪 10 分鐘使之溶解，回至室溫後以乙腈定容至刻度，為 200 µg/mL 儲存標準液，再以刻度吸管量取 0.5 mL 之 200 µg/mL 儲存標準液，置入 100 mL 定量瓶中，以乙腈定容至刻度，混合均勻，為 1 µg/mL 儲存標準液。檢量線配製：以刻度吸管精確量取 0.2、0.4、1.0、2.0、4.0 mL 之 1 µg/mL 儲存標準液分別置於 10 mL 定量瓶中，以乙腈定容至刻度，使成含 0.02、0.04、0.1、0.2、0.4 µg/mL 之操作標準液，以 0.2 µm

聚四氟乙烯過濾膜過濾，進行 LC-MS/MS 分析，以操作標準液濃度為 X 軸，定量離子對波峰面積為 Y 軸，繪製標準檢量線。

### (五) 基質匹配檢量線配製

將三福林原體充分混合後，稱取約 6,250 mg 之樣品，置於 25 mL 定量瓶中，加入 20 mL 乙腈，以超音波振盪 30 分鐘，回至室溫，以乙腈定容至刻度，混合均勻，為三福林原體檢液。以刻度吸管精確量取 0.2、0.4、1.0、2.0、4.0 mL (四) 配製之 1 µg/mL 儲存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，各加入 4.0 mL 三福林原體檢液，以乙腈定容至刻度，使成含 0.02、0.04、0.1、0.2、0.4 µg/mL 之基質匹配操作標準液，以 0.2 µm 聚四氟乙烯過濾膜過濾備用。

### (六) 三福林農藥樣品檢液配製

三福林原體：將檢體充分混合後，稱

取約 1,000 mg 之樣品，置於 10 mL 定量瓶中，加入 8 mL 乙腈，以超音波振盪 30 分鐘，回至室溫，以乙腈定容至刻度，混合均勻，以 0.2  $\mu\text{m}$  聚四氟乙烯過濾膜過濾，作為檢液。

三福林乳劑：將檢體充分混合後，秤取約 2,500 mg 之樣品，置於 25 mL 定量瓶中，加入 20 mL 乙腈，以超音波振盪 30 分鐘，回至室溫，以乙腈定容至刻度，混合均勻，取 10 mL 檢液置於 50 mL 離心管中，加入陶瓷攪拌石和 QuEChERS 萃取鹽包，以 1,000 rpm 震盪萃取 15 分鐘，再以 1,670  $\times$  g 離心 5 分鐘，取上清液 5 mL 置於 QuEChERS 淨化管中，以 1,000 rpm 震盪萃取 15 分鐘，再以 1,670  $\times$  g 離心 5 分鐘，取上清液，以 0.2  $\mu\text{m}$  聚四氟乙烯過濾膜過濾，作為檢液。

### (七) 回收率標準品添加及前處理過程

三福林原體：將檢體充分混合後，分別秤取六重複約 1,000 mg 之樣品，置於 10 mL 定量瓶中，以刻度吸管分別量取 0.4 mL 之 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺儲存標準液添加於三重複樣品中；另分別量取 1.0 mL 之 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺儲存標準液添加於其餘三重複樣品中，均加入約 7 mL 乙腈，以超音波振盪 30 分鐘，回至室溫，以乙腈定容至刻度，混合均勻，為含 0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺之低濃度回收率檢液及含 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺之高濃度回收率檢液，以 0.2  $\mu\text{m}$  聚四氟乙

烯過濾膜過濾備用。

三福林乳劑高濃度回收率：將檢體充分混合後，秤取三重複約 2,500 mg 之樣品，置於 25 mL 定量瓶中，以刻度吸管量取 2.5 mL 之 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺儲存標準液添加於三重複樣品中，均加入約 20 mL 乙腈，以超音波振盪 30 分鐘，回至室溫，以乙腈定容至刻度，混合均勻，取 10 mL 檢液置於 50 mL 離心管中，加入陶瓷攪拌石和 QuEChERS 萃取鹽包，以 1,000 rpm 震盪萃取 15 分鐘，再以 1,670  $\times$  g 離心 5 分鐘，取上清液 5 mL 置於 QuEChERS 淨化管中，以 1,000 rpm 震盪萃取 15 分鐘，再以 1,670  $\times$  g 離心 5 分鐘，取上清液，為含 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺之高濃度回收率檢液，以 0.2  $\mu\text{m}$  聚四氟乙烯過濾膜過濾備用。

三福林乳劑低濃度回收率：將檢體充分混合後，秤取三重複約 5,000 mg 之樣品，置於 25 mL 定量瓶中，以刻度吸管量取 1.0 mL 之 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺儲存標準液添加於三重複樣品中，後續步驟同乳劑高濃度回收率，配製為含 0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$  亞硝基二正丙胺之低濃度回收率檢液，以 0.2  $\mu\text{m}$  聚四氟乙烯過濾膜過濾備用。

## 結果與討論

### 一、多重反應偵測 (multiple reaction monitoring, MRM) 條件及檢量線分析

多重反應偵測條件尋找：將亞硝基二正丙胺標準液注入 LC-MS/MS，進行全掃描 (full scan) 分析，由掃描所得離子，挑選質子化分子離子 (protonated molecular ion,  $[M+H^+]$ )  $m/z$  131 為母離子，並比較不同進樣錐電壓設定所得離子強度，選定 10 V 為進樣錐電壓。再由母離子進行子離子掃描 (product ion scan)，設定不同碰撞能量 (collision energy) 分析，由掃描所得離子，選定偵測感度較佳者  $m/z$  43 及  $m/z$  89 為子離子，其中  $m/z$  43 離子訊號較強做為定量離子，碰撞能量均選定 5 V，多重反應偵測條件如表三。測試過程中觀察到進樣錐電壓及碰撞能量在高於上述選定值時，離子訊號強度均有下降。檢量線分析：亞硝基二正丙胺操作標準液 5 點濃度：0.02、0.04、0.1、0.2 及 0.4  $\mu\text{g/mL}$ ，各濃度定量離子對之訊號/雜訊比 (signal-to-noise ratio, S/N ratio) 均大於 10，定性離子對均大於 3，成分滯留時間約 7 分鐘、多重反應偵測質譜圖如圖二所示，相對離子強度介於 50.9-55.0%。分析全程檢液中亞硝基二正丙胺滯留時間與標準品之比值應介於 98-102% 之間，相對離子強

度與標準品平均值比較需在  $\pm 20\%$  以內<sup>(4)</sup>。由操作標準液濃度及分析面積製作檢量線，檢量線方程式為  $Y = 2151863.4X - 11071.6$ ，其回歸決定係數 ( $R^2$ ) 為 0.99950，相關係數 ( $r$ ) 為 0.99975，基質匹配檢量線之檢量線方程式為  $Y = 6775107.8X - 17504.3$ ，回歸決定係數 ( $R^2$ ) 為 0.99858，相關係數 ( $r$ ) 為 0.99929，符合歐盟「原體及植物保護產品分析方法建立和報告指南第五版<sup>(8)</sup>」中方法確效規範：檢量線相關係數 ( $r$ ) 應大於 0.99 之標準。

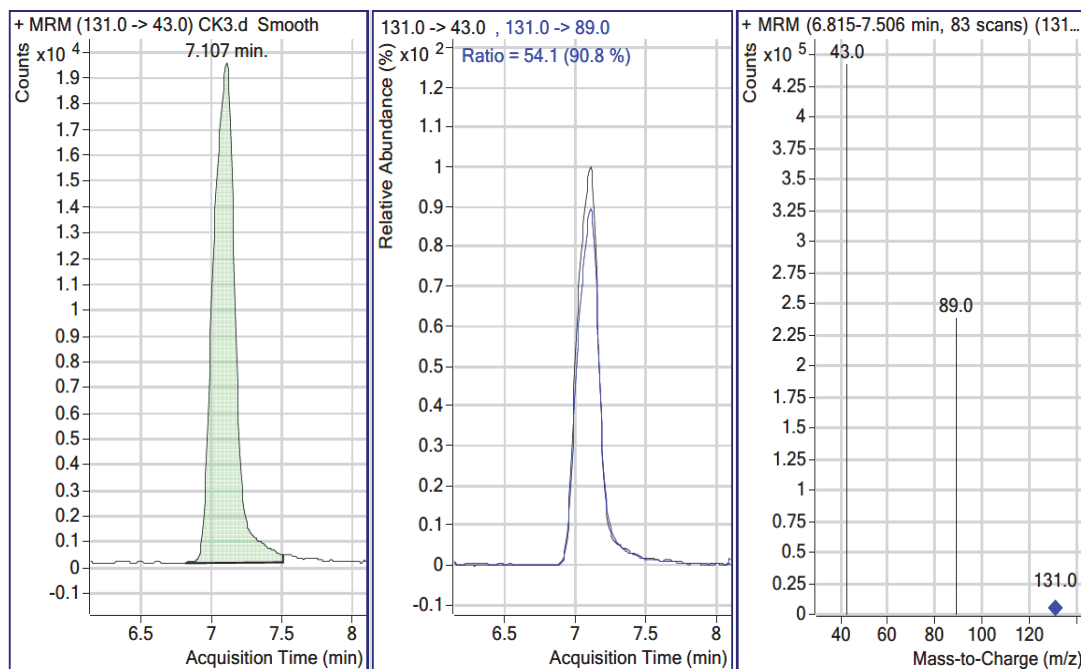
比較糧農組織發布的氣相層析-熱能分析儀檢驗方法<sup>(11)</sup>，其檢量線僅配製三個濃度 (0.2、1.0、2.0  $\mu\text{g/mL}$ )，相關係數 ( $r$ ) 為 0.99880，低於本方法。另參考歐盟「原體及植物保護產品分析方法建立和報告指南第五版<sup>(8)</sup>」中有關方法專一性的描述：使用氣相層析法，以分析物滯留時間與標準品比對者，屬於專一性方法；使用液相層析串聯質譜法，以分析物之二對離子對及滯留時間與標準品比對者，屬於高度專一性方法，可知本法在專一性上優於氣相層析-熱能分析儀。

表三、多重反應偵測之條件

Table 3. MRM parameters

Compound	Ion mode	MRM transition ( $m/z$ )	Fragmentor (V)	Collision energy (V)
<i>N</i> -nitrosodi- <i>n</i> -propylamine	positive	131 > 43 <sup>1)</sup>	10	5
		131 > 89	10	5

<sup>1)</sup> quantitative ion.



圖二、亞硝基二正丙胺標準品 0.1 µg/mL 之多重反應偵測質譜圖。

Fig. 2. Representative mass chromatograms determined through multiple reaction monitoring (MRM) of standard solution containing 0.1 µg/mL *N*-nitrosodi-n-propylamine.

## 二、樣品分析

本實驗供試三福林原體及乳劑均未檢出亞硝基二正丙胺，其定量離子對訊號/雜訊比均低於 10、定性離子對訊號/雜訊比均低於 3，且相對離子強度不符。乳劑樣品在前處理步驟中加入萃取及淨化步驟，使用商業化亞硝胺 QuEChERS 萃取粉及淨化管（原用於油脂含量較高之食品如肉類中亞硝胺分析），目的在於去除乳劑中之低極性其他成分，降低其對儀器之污染。

## 三、基質效應 (matrix effect) 評估

參考 Matuszewski 等人之方法<sup>(14)</sup> 評估如下：純溶劑配製之標準品尖峰面積，記為 A，空白樣品檢液添加標準品之尖峰面積，記為 B，基質效應 =  $B/A \times 100\%$ 。評估原體及乳劑檢液，並分別計算 0.04 及 0.1 µg/mL 之基質效應，結果顯示原體在 0.04 µg/mL 添加濃度下基質效應超過 120%，後續以基質匹配檢量線計算回收率。

#### 四、回收率試驗

依取樣克數、稀釋體積及標準品添加濃度計算：

$$\frac{\text{添加濃度 } \mu\text{g/mL} \times \text{稀釋體積 mL} \times \frac{\text{g}}{10^6 \mu\text{g}} \times \frac{1}{\text{取樣克數 g}} \times 100 (\%)$$

低濃度回收率之添加濃度相當於原體及乳劑樣品中分別約含 0.00004% 及 0.00002% 之亞硝基二正丙胺；高濃度回收率之添加濃度相當於樣品中約含 0.0001% 之亞硝基二正丙胺。回收率分析結果，原體中亞硝基二正丙胺之高低濃度回收率分別為 107% 及 98%、乳劑中亞硝基二正丙胺高低濃度回收率分別為 81% 及 84% (表四)，符合歐盟「原體及植物保護產品分析方法建立和報告指南第五版<sup>(8)</sup>」中方法確效規範：有效成分或不純物小於 0.01% 時，回收率應介於 70-130% 之標準。

#### 五、方法定量極限

以低濃度回收率之標準品添加濃度計算 定量極限 (limit of quantification, LOQ)：

$$\frac{\text{添加濃度 } \mu\text{g/mL} \times \text{稀釋體積 mL} \times \frac{\text{g}}{10^6 \mu\text{g}} \times \frac{1}{\text{取樣克數 (g)}} \times 100(\%)$$

原體及乳劑之方法定量極限分別為 0.409 mg/kg、0.214 mg/kg，低於法規所定限量標準：原體中小於等於 0.5 mg/kg、成品中不大於有效成分標稱含量之 0.00005%，換算 44.5% 三福林乳劑之限量為 0.0000222% (相當於 0.222 mg/kg)。

#### 六、儀器重複注入精密性 (Repeatability) 評估

將亞硝基二正丙胺操作標準液 0.1 μg/mL，重複注入儀器分析 6 次，並計算 6 次分析之面積相對標準偏差 (RSD)，為 1.14%。

表四、亞硝基二正丙胺於三福林原體及乳劑中添加回收率

Table 4. NDPA recovery in trifluralin technical material and emulsifiable concentrate

Concentration of NDPA in sample (%)	technical material		emulsifiable concentrate	
	Average recovery (%)	RSD (%)	Average recovery (%)	RSD (%)
0.00002	-	-	84	1.10
0.00004	98 <sup>1)</sup>	1.16	-	-
0.0001	107	0.42	81	0.85

<sup>1)</sup> Recovery determined by matrix-matched calibration curve.

## 結論

本研究建立一分析方法檢測三福林農藥原體及成品中不純物亞硝基二正丙胺，方法使用液相層析串聯質譜儀，確效試驗結果包含檢量線線性、準確性良好，方法檢測極限可達法規限量要求，相較於過去分析方法，使用二次質譜分析可提高方法專一性及準確性，並可有效應用於監測市售三福林農藥中不純物亞硝基二正丙胺含量是否符合法規限量。

## 謝辭

本研究簡報撰寫期間承農藥所殘留管制組品質規格實驗室初建研究員提供建議，謹致謝忱。

## 引用文獻

1. 國家環境毒物研究中心。2021。N-亞硝基二正丙胺。檢自 <https://nehrc.nhri.edu.tw/2021/06/02/n-亞硝基二正丙胺/> (May 6, 2024)
2. 詹舜安、吳帝佑、傅明仁。2003。液相層析質譜於食品分析應用簡介。科儀新知 25：24-29。
3. 農業部。2024。農藥標準規格準則第三條附表三之二農藥有害不純物之限量規格。農防字第 1131876232 號公告。
4. 衛生福利部。2023。公告檢驗方法－食品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析方法（五）。衛授食字第 1111901537 號。
5. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2019. Toxicological profile for *n*-nitrosodi-*n*-propylamine. Retrieved from <https://www.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=1005&tid=211> (Jun 8, 2024)
6. Ambrus, A., Hamilton, D. J., Kuiper, H. A., and Racke, K. D. 2003. Significance of impurities in the safety evaluation of crop protection products. *Pure Appl. Chem.* 75: 937-973.
7. Balayiannis, G. P., and Karasali, H. 2023. N-Nitrosamine impurities in ethalfluralin: determination of an overlooked deleterious source in pesticides. *Agriculture* 13: 1104.
8. European Commission. 2019. SANCO/3030/99 rev.5 Technical active substance and plant protection products: guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre- and post-registration data requirements for annex (section 4) of regulation (EU) No 283/2013 and annex (section 5) of regulation (EU) No 284/2013. Retrieved from <https://webgate.ec.europa.eu/dyna2/pgd/documents?keyword=SANCO%2F3030%2F99&op=0> (Nov. 22, 2024)
9. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1988. FAO specifications for plant protection products: trifluralin.

- Retrieved from <https://openknowledge.fao.org/items/6d10d2e8-265e-473b-ae5c-b693dd93f8d5> (Aug. 16, 2024)
10. Frassanito, R., Benfenati, E., Ciotti, G., and Fanelli, R. 1994. A simple method for determination of N-nitrosamine traces in trifluralin samples by gas chromatography-mass spectrometry. *Toxicol. Environ. Chem.* 45: 199-204.
  11. Garofani, S. 2002. Trifluralin technical determination of the nitrosamines content validation of the analytical method. Retrieved from <https://openknowledge.fao.org/items/6d10d2e8-265e-473b-ae5c-b693dd93f8d5> (Aug. 16, 2024)
  12. International Agency for Research on Cancer. 2024. Agents classified by the IARC monographs volumes 1-136. Retrieved from <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications> (Nov. 22, 2024)
  13. Kim, H., Sung, D., Yu, H., Jang, D., Koo, Y., Lee, S., Lim, K., and Choi, D. 2021. Comparison of EI-GC-MS/MS, APCI-LC-MS/MS, and ESI-LC-MS/MS for the simultaneous analysis of nine nitrosamines eluted from synthetic resins into artificial saliva and health risk assessment. *Toxics* 9: 230.
  14. Matuszewski, B. K., Constanzer, M. L., and Chavez-Eng, C. M. 2003. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal. Chem.* 75: 3019-3030.
  15. Maybury, R. B., and Grant, R. G. 1983. Gas-liquid chromatography and nitrogens-phosphorus detection of *N*-nitroso-di-*n*-propylamine in trifluralin products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 66: 1209-1213.
  16. Mutsuga, M., Yamaguchi, M., and Kawamura, Y. 2013. Analysis of *N*-nitrosamine migration from rubber teats and soothers. *Am. J. Anal. Chem.* 4: 277-285.
  17. Sung, J. H., Kwak, I. S., Park, S. K., Kim, H. I., Lim, H. S., Park, H. J., and Kim, S. H. 2010. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of N-nitrosamines released from rubber or elastomer teats and soothers. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 27: 1745-1754.
  18. United States Environmental Protection Agency. 1996. R.E.D. Facts: Trifluralin. Retrieved from [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/reregistration/fs\\_PC-036101\\_1-Apr-96.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_PC-036101_1-Apr-96.pdf) (May 6, 2024)
  19. University of Hertfordshire, Pesticide Properties DataBase. 2024. General information for trifluralin. Retrieved from <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/667.htm> (May 5, 2024)

20. Wotherspoon D., and Hindle R. 1988. Determination of N-nitrosodipropylamine in trifluralin emulsifiable concentrates using minicolumn cleanup and gas chromatography with thermal energy analyzer. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71: 333-336.

# Development of an Analytical Method for N-Nitrosodi-n-propylamine in Trifluralin Pesticides

Ting-Hao Hsu<sup>1\*</sup>, I-An Huang<sup>1</sup>, Lin-Chien Hung<sup>1</sup>

## Abstract

Hsu, T. H., Huang, I. A., Hung, L. C. 2024. Development of an analytical method for N-nitrosodi-n-propylamine in trifluralin pesticides. Taiwan Pestic. Sci. 17: 43-56.

In this study, we established a liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method to analyze “N-nitrosodi-n-propylamine (NDPA)” impurities in trifluralin pesticides. Our method can be applied to NDPA in both trifluralin technical material and trifluralin formulation to ensure compliance with Schedule 3-2, Article 3 of the Pesticide Standard Specification Guidelines in Taiwan. To establish appropriate analytical conditions for our method, we referred to existing literature that applied LC-MS/MS to NDPA analysis in other matrices. In brief, we prepared the impurity standard solution using an acetonitrile solvent. For the mobile phase, we used a gradient comprising a formic acid solution and acetonitrile. The column was C18, and the flow rate was 0.2 ml/min. We also established MRM analytical conditions. We found that the correlation coefficient of the calibration curve can reach over 0.99. Specifically, the two test samples (technical material and emulsifiable concentrate) were dissolved by acetonitrile solvent, and the technical material sample was extracted by ultrasonic vibration. The test liquid was then filtered and analyzed by LC-MS/MS. For the emulsifiable concentrate, the sample solution was purified using commercial QuEChERS extraction powder and a purification tube. (This purification procedure was performed to minimize contamination by other formulation ingredients affecting mass spectrometry results) No NDPA was detected in either sample. Finally, we

---

Accepted: November 7, 2024.

\* Corresponding author, E-mail: thhsu@acri.gov.tw

<sup>1</sup> Agricultural Chemicals Research Institute, Ministry of Agriculture, Taichung

also performed recovery tests. For this, we added standard solution to blank samples, and prepared inspection solutions according to the above sample preparation and purification procedures. The high (0.0001%) and low (0.00004%) concentration recovery rates of technical material were 107% and 98%, respectively. The high (0.0001%) and low (0.00002%) concentration recovery rates of emulsifiable concentrate were 81% and 84%, respectively. The limit of quantification for technical material and emulsifiable concentrate were 0.409 mg/kg and 0.214 mg/kg, respectively, and both of these values are lower than legal tolerance standards. The method established in this study is in accordance with related validation guideline. Our method can be used as a reference analytical method to accurately determine NDPA tolerance standards of domestic trifluralin pesticide.

**Key words:** trifluralin, N-nitrosodi-n-propylamine, LC-MS/MS