

利用層析質譜儀於蔬果、 茶中多種農藥殘留檢測之探討

李宏萍

行政院農委會 藥物毒物試驗研究所殘毒管制組

hplee@tactri.gov.tw

摘要：2006年台灣農藥登記有效成分計370種，成品農藥之銷售共計37,393公噸，農藥有效成分佔9,015公噸。食品安全的議題在世界各國受到相當重視，FAO/WHO/Codex亦有制訂農藥殘留最高容許量(MRL)，台灣農藥殘留容許量訂了約303種，日本於2006年5月29日全面實施正面表列589種農藥殘留容許量，造成輸日農產品農藥殘留不合格率提高，而日方公告之檢測方法，使用儀器皆為液相及氣相層析儀配合質譜檢測器，較早歐盟所制定之農藥殘留容許量，其檢測法也是以液相層析質譜儀為主，並有明確規範出使用質譜儀檢測時鑑定未知物的要求，質譜儀因可直接判別未知分析物，且因儀器製造技術成熟，使檢測極限可降更低，逐漸取代其他偵測器成為主流。本研究使用3種不同款式之氣相層析質譜儀及1台液相層析質譜儀，可同時篩檢400餘種農藥，其中237種農藥可以氣相層析質譜定性及定量，另有約100種熱不穩定或於液相層析儀附紫外光光譜儀等不易檢測或易干擾者，如為巨環內酯類抗生素或稱巨環內酯類農藥，已建立液相層析質譜定量及定性方法。外銷農產品的檢測業務中，經由實際樣品如芒果、菠菜、荔枝、毛豆及茶葉等約300餘件樣品之檢測，可比較與傳統檢測器之檢驗結果間的差異，以期能以氣、液相層析質譜儀應用於於蔬果、茶中多種農藥殘留之檢測，達定性、定量快速檢測之目的。

關鍵字：多種農藥殘留分析、氣液相層析質譜儀

前言

全世界目前已有超過500種農藥及其代謝物被登記使用⁽¹⁾，農藥可依分子結構官能基（例如以無機、有機氮、有機鹵素或有機硫化物）來區分，或由特殊之生物活性及標的作用（例如：殺蟲劑、殺菌劑、殺草劑、殺蟻劑等來分類）^{1,2}。從第二次世界大戰後，為了增加農作物產量農藥在農業上的使用量大增，殺草劑是目前使用量最大，其次殺蟲劑、殺菌劑，但是農藥大量使用後，造成嚴重環境污染，更造成在食物、水、土壤上之殘留。美國1947年開始執行聯邦環保署的殺蟲劑、殺菌劑、殺鼠劑法，又1996年所修改的食品品質保護法（Food Quality Protection Act, FQPA），FQPA強調農藥登記時訂定容許量，在2006年必須完成所有食品上農藥容許量規範。而歐洲遠在1991年即由農藥登記時，開始執行容許量¹。在國際上，由聯合

國食品及農業組織及世界衛生組織(United Nation's Food and Agriculture Organization and the World Health Organization, WHO)所成立之Codex Alimentations Commission也建立了各種食物上之最大農藥殘留量值(maximal residue limit, MRL)³，並由美國藥物食品檢驗局(U.S.A. FDA)發展單劑及多種農藥殘留分析法(MRMs)用於同時檢測農藥在農產品上之殘留量⁴。

我國農藥依據農委會民國95年的統計，共計核准登記518種農藥成品，而其農藥有效成分計370種，成品農藥之銷售共計37,393公噸，農藥有效成分佔9,015公噸^{5,6}。我國農藥殘留之檢測分為未上市前之農藥田間委託檢測以訂定安全採收期及容許量，已完成360多種農藥之殘留檢驗，以配合實際上市及推薦之農藥。因此國內所有登記上市之農藥均有單一之化學檢驗方法可以檢測。農藥登記上市後，主要是配合食品衛生管理法中之殘留農藥安全容許量之執行工作及

水、土壤中環境污染之檢測，也有部分標準分析方法之建立，始能與容許量標準之執行互相配合，而達維護食品及環境安全之目的。農產品中農藥殘留安全容許量於民國 96 年 5 月 11 日公告(衛署食字第 0960402910 號公告增修訂)已訂定 303 種農藥殘留安全容許量之標準。為了配合農產品中農藥殘留監測業務之執行，制定容許量之農藥殘留標準分析方法之建立是刻不容緩之事。目前已由衛生署公告之單一藥劑或多重農藥殘留檢驗方法共可檢測約 180 種農藥，每年陸續都在公告中。比較國內外農藥化學檢測中可檢測之農藥種類見表 1 之說明⁷。

目前國內已公告有容許量之農藥多達 300 餘種，再依作物種類之不同則有 1500 多種容許量訂定，因此要全部建立分析方法較花費時間，所以在農藥種類選擇上應以國內外使用較為普遍，可併入多種殘留分析法中之農藥為優先。另多重殘留分析法之運用已成為進出口及市售農產品檢驗之必要手段。我國加入 WTO 後進口蔬果農藥殘留檢驗須以國家公告之方法以避免國際間之困擾。目前蔬果多重農藥殘留分析方法分別由國家標準局及衛生署公告，分別於 84 年公告蔬果中 74 種農藥殘留同時檢出法⁸，88 年公告小漿果類 104 種農藥同時檢出法⁹，89 年公告 115 種農藥殘留同時檢出法，92 公告 107 種農藥殘留在茶中同時檢出法¹⁰，94 公告 135 種農藥殘留在蔬果中同時檢出法。這些公

告方法每件樣品之分析時間約為 4-6 小時。由於新技術運用於微量分析之研究日益成熟，且在分析時效及檢驗數量之需求下，建立快速且準確之樣品前處理及儀器分析方法乃當務之急。

環境或作物中之農藥及其它化學污染物之監測及調查需用簡單之前處理，並應可同時偵測多數之化合物，此即多種殘留同時分析法 (Multiresidue Analysis Methods)。多種農藥及其代謝產物分析在不同基質之前處理方法非常重要，在傳統農藥分析上，通常需先將樣品經過複雜前處理後，再以適當的儀器偵測。常見的前處理方式有：液-液相萃取法 (liquid-liquid extraction, LLE)、固相萃取 (Solid phase extraction, SPE)、基質固相分散 (matrix solid - phase dispersion, MSPD)、膠體層析 (Gel permeation Chromatography, GPC)、超流體萃取 (Supercritical fluid extraction, SFE)、蘇氏萃取法 (Soxhlet extraction, SOX)、加速溶劑萃取 (Accelerated solvent extraction, ASE 或加壓液體萃取 (pressured liquid extraction, PLE)、超音波萃取 (ultrasonic extraction, USE)、微波輔助萃取法 (Microwave assistant extraction, MAE)、頂空萃取法 (headspace method extraction, HSE)、固相微萃取 (solid phase micro-extraction, SPME) 及液相微萃取 (Liquid phase micro-extraction, LPME) 等。偵測儀器有毛細管氣相層析儀 (Capillary Gas Chromatograph, cGC) 及高效液

表一 國內外農藥殘留分析檢測之說明

項目	農藥種類	說明	備註	
國內	公告容許量	303	-	依國人之取食量、農藥毒性及安全採收期訂定
	衛生署及標準檢驗局公告	180	單一及多種農藥分析	依田間常使用之藥劑先行訂定分析方法
	農藥所未上市前之農藥殘留委託檢驗	380	目前台灣所有單一農藥檢驗方法	包括推薦及未推薦之藥劑
	農藥所作物監測(例行檢驗)	191	米、茶類、蔬果之多種農藥檢驗	農民常用、有容許量及禁用藥劑
	鑑定農藥及其代謝產物(資料庫)	400	有農藥質譜資料可進一步比對	以氣液層析附質譜儀鑑定之圖譜
國外	美國 FDA 1999 檢測農藥(國內及進口)	366	有 202 種屬於台灣未推薦使用之農藥	參考用 (方法由多種組合而成)
	加拿大 2000 年檢測農藥 ⁷⁾	251	有 83 種屬於台灣未推薦使用之農藥	以氣液層析附質譜儀檢測
	日本 2006 年檢測農藥	589	日本實施正面表列	以氣液層析附質譜儀檢測

相層析儀 (High – Performance liquid Chromatograph, HPLC) 與質譜儀 (Mass Spectrometry, MS) 相連接，毛細管電泳 (Capillary Electrophoresis, CE)，免疫技術 (immunoassay techniques) 等¹²。

日本於 2006 年 5 月 29 日起實施農產品中藥物殘留正面表列新制度，台灣銷日之農產品面臨檢測上更嚴格的挑戰，比較日本與國內現行農產品中殘留農藥檢測項目高達 586 種以上，另有不得檢出殘留者為 15 種，其餘之農產品殘留統一基準 (uniform limit) 訂為 0.01 ppm，不合格產品禁止流通。故本研究擬以日本檢測方法，配合國內公告之多重殘留檢驗方法，以氣相層析質譜儀、氣相層析儀和高效液相層析儀進行定性與定量的工作，俾使檢測藥劑數量增加至 250 種以上，並可涵蓋台灣田間常使用的農藥，以符合外銷農產品安全範圍之目的。無論基於維護國人健康，或面對我國貿易主要國家愈來愈嚴苛之農藥殘留標準，並能及時完成各項檢驗業務，達成落實農產品內外銷的衛生安全檢驗工作及提昇精準的檢驗技術。近年來，由於質譜儀較其他的偵測器選擇性高，美國、歐盟、日本、韓國、中國大陸等均逐漸以質譜儀進行多重農藥殘留檢測，並逐步取代目前所使用的偵測器，歐盟並明確規範出使用質譜儀的要求⁽¹²⁾，定義一級質譜(MS)及二級質譜(MS/MS)的 Ips(Identification points) (附表 2.)，並要求若未提供全質譜(full scan spectra)，推薦藥劑需有 3 Ips，禁用藥劑需有 4 Ips。

表二 歐盟規範使用質譜儀鑑定未知物之計點標準

MS technique	Identification points earned per ion
Low resolution mass spectrometry (LR)	1
LR-MSn precursor ion	1
LR-MSn transition products	1.5
HRMS	2
HR- MSn precursor ion	2
HR-MSn transition products	2.5

試驗材料及方法

一、儀器種類

Agilent 5975B、Waters Quattro micro GC、Thermo

polaris Q、Applied Biosystems 4000 Q Trap。

二、儀器條件

Agilent 6890N GC/5975B MSD：選用 HP5-MS 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm 的管柱，注射口配置 PTV 進樣器，注射量為 5 μl，管柱部分起始溫度設定為 70 °C，2 min 後以每分鐘 25 °C 的升溫速率升溫到 150 °C，再以每分鐘 3 °C 升溫到 200 °C，最後則以 8 °C 的升溫速率升溫到 280 °C，並維持 10 min。

Thermo TRACE GC Ultra / Polaris Q：選用 HP5-MS 30m × 0.25mm × 0.25μm 的管柱，注射口配置 PTV 進樣器，注射量為 5μl，管柱部分升溫條件與 Agilent 相同。

Agilent 6890N GC/Waters Quattro micro GC：選用 HP5-MS 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm 的管柱，注射口為一般 split / splitless 注射口，以 splitless 模式進樣 1 μl，管柱部分起始溫度設定為 90 °C，2 分鐘後以每分鐘 7 °C 的升溫速率升溫到 300 °C，並維持 4 min。

Agilent 1200 HPLC/Applied Biosystems 4000 Q Trap：層析管：Phenomenex Aqua 5 μm C18 125Å，50 x 2 mm。移動相初始比例 5 mM 醋酸胺水溶液/5 mM 醋酸胺甲醇溶液 = 95/5，梯度沖提改變比例 5 mM 醋酸胺水溶液/5 mM 醋酸胺甲醇溶液 = 10/95 至 15 min 並保持至 24 分鐘，24.5 min 時將動相改變為 5 mM 醋酸胺水溶液/5 mM 醋酸胺甲醇溶液 = 95/5 至 30 min 達平衡，移動相流速為 0.25 mL/min。電灑游離界面設定：正電荷游離，質譜掃描範圍：50-950 m/z，Curtain Gas：15 mL/min，Ion Spray Voltage：5500 V，Temperature：500 °C。

三、標準品及溶劑

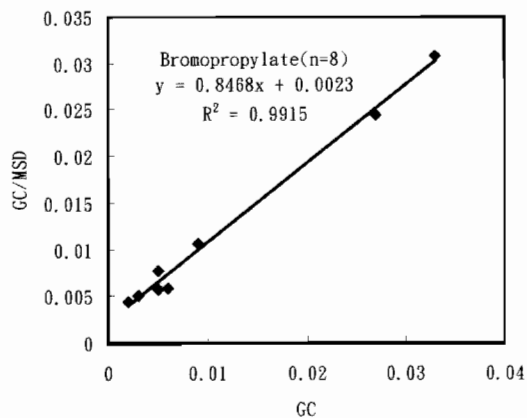
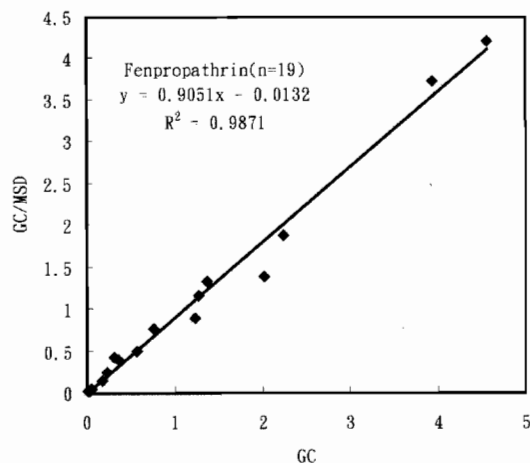
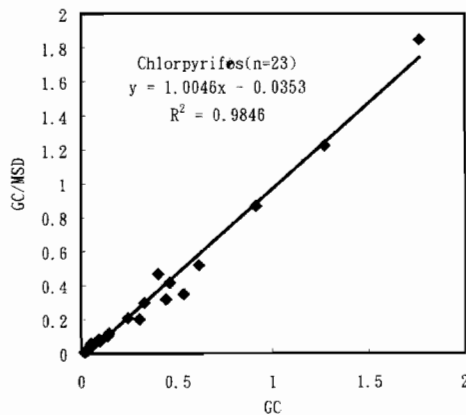
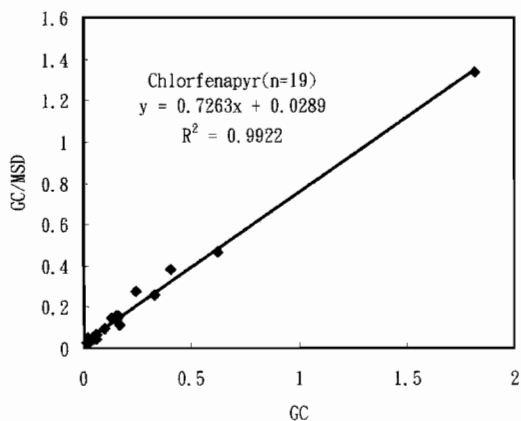
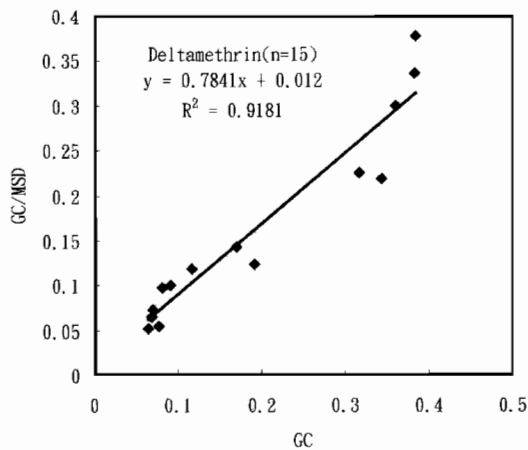
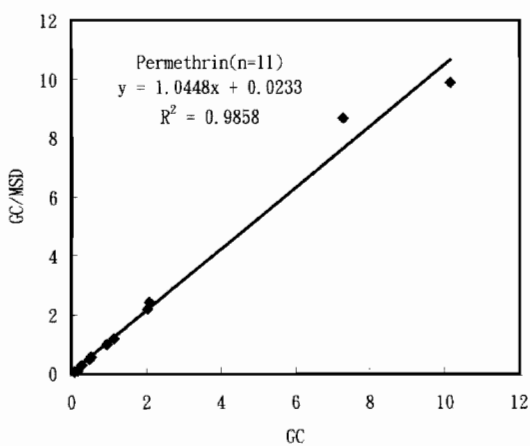
試驗中使用的標準品，購買自 Dr. Ehrenstorfer GmbH、Supelco、CHEM SERVICE、R.D.H、Sigma、Merck、WAKO 等公司或自農藥生產公司所提供的標準品，除部分藥劑外，純度多大於 95%。試驗中所有溶劑均為 HPLC 級以上，購買自 J.T. Baker、Merk 或 Mallinckrodt 等公司。

四、試驗方法

本研究擬選擇日本進口農產品多種農藥殘留檢驗

方法執行監測和檢查項目，再根據國內登記或常使用藥劑，並配合氣相層析儀、高效液相層析儀及氣相層析質譜儀，建立多重藥劑於蔬果中同時檢出之分析方

法。目前國內大宗外銷之農產品包括毛豆、芒果、木瓜、香蕉、柑橘、葡萄、菠菜、茶葉和米等，故急需建立蔬果、茶和穀類等多重農藥殘留監測。研究計



圖一 茶葉上傳統 GC 與 GC/MS/MS 檢測結果(ppm) 相關性的探討。

劃執行工作項目包括：

試驗方法一：

採標檢局公告之 CNS13570-2 農產品農藥殘留檢測方法。

試驗方法二：

參考日本現行檢測方法

20 克蔬果樣品先以 100 毫升乙腈均質後過濾，取部份濾液再經磷酸緩衝溶液進行液液萃取，並利用固相萃取匣淨化 (Sep-Pak Vac Carbon/NH₂)，以 20 毫升甲苯與乙腈 (1:3) 之混合溶劑沖提，最後定量於 2 毫升丙酮與正己烷 (1:1) 混合溶劑中，再以氣相層析質譜儀分析。

試驗方法三：

參考歐盟檢測方法

10 克蔬果樣品入 50 毫升鐵氟龍試管，加入 10 毫升乙腈充份混合，再加入 4 克硫酸鎂和 1 克氯化鈉，劇烈震盪後離心，取有機層並加入吸附劑再劇烈震盪，最後取部份有機溶劑以氣相層析質譜儀或高效液相層析質譜儀分析。

由於為達快速篩檢藥劑的時效性，先將藥劑混合分組，建立各藥劑質譜資料，當檢測出農藥殘留時，則以另一方法進行定量分析，故擬參考此法建立食品中多重農藥殘留檢驗方法，作為國家公告之標準方法，分析方法之確效試驗結果包括 (一) 回收率、再現性及敏感度符合殘留量檢驗標準之要求。(二) 儀器最適化條件探討，建立一套精確、快速之檢驗方法。(三) 分析方法確立後，以中文格式撰寫檢驗方法，供有關單位參考。使得現行公告之蔬果中多重殘留分析方法可以增加篩檢藥劑，使食品安全檢驗的工作更臻至完善。

結果討論

一、以 3 台不同款之氣相層析質譜檢測 237 種農藥殘留之儀器偵測極限，於有 PTV 進樣器之儀器，約有 160 個藥劑可低於 0.01 ppm，其他藥劑可低於 0.05 ppm，可符合例行檢測需求。

二、液相層析串聯式質譜可篩檢 400 餘種農藥，目前本研究已建立約 100 種熱不穩定或於液相層析儀附紫外光光譜儀等不易檢測或易干擾者，如為巨環內酯類抗生素或稱巨環內酯類農藥之定量及定性方法(其中藥劑與上述 237 種並無重複)，且檢測極限皆可達 1 ppb。

三、本研究已應用於實際樣品之檢測，如：芒果、菠菜、荔枝、毛豆及茶葉等約 300 餘件樣品，以茶葉樣品常檢出之藥劑如：百滅寧、克凡派、第滅寧、陶斯松、新殺蟎、芬普寧等之檢測結果與傳統檢測器檢測結果做相關性之探討，大部分有檢出藥劑之間的相關性良好、以 30 件茶葉樣品之串聯質譜與一般 GC 共同檢出藥劑做相關性比較，結果如圖一。

結論

我國加入 WTO 後，農、畜及水產品無論在內、外銷均面臨極大的競爭力⁷，國內檢驗技術勢必將要提昇，以因應許多外銷進口國提出的各項嚴苛的安全檢驗要求，本研究利用氣、液相層析質譜儀於台灣蔬果、茶中多種農藥殘留之檢測之探討，期能建立初步篩檢與例行檢驗之一貫檢測技術，達定性、定量快速檢測之目的。

參考文獻

1. G.R. van der Hoff, P. van Zoonen, "Trace analysis of pesticides by gas chromatography", *Journal of Chromatography A*, 1999, 843, 301-322.
2. J. Hajslová. in: C.F. Moffat, K.J. Whittle, *Environmental Contaminants in Food*, Sheffield Academic Press, 1999, Chapter 7, p.215.
3. F.E. Ahmed, in : C.F. Moffat, K.J. Whittle , *Environmental Contaminants in Food*, Sheffield Academic Press, 1999, Chapter 13, p.500.
4. *Pesticide Analytical Manual Volume I*. 3rd Edition, 1994. revised october 1999. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service, Food and Drug Administration.

5. 行政院農業委員會各種農藥進口製造情形彙總表, 農藥資訊服務網。http://pesticide.baphiq.gov.tw/register_1.aspx
6. 成品農藥銷售情形, 農藥資訊服務網。http://pesticide.baphiq.gov.tw/statistic_detail.aspx?sn=24
7. J. Fillion, F.Sauve, and J. Selwyn, "multiresidue Method for the determination of residues of 251 pesticides in fruits and vegetable by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection", *Journal of AOAC. International*, 2000, 83(3), 698.
8. 李宏萍、翁愷慎、李國欽, "食品中農藥殘留量檢驗方法—多重殘留分析法(I)" (衛生署DOH83-FS-015), 1994。84.1.26 衛署食字第 84005742 號公告。88 年 8 月 4 日中國國家標準CNS-13570-1, N6276-1。
9. 李宏萍, 翁愷慎, 李國欽, "食品中殘留農藥檢驗方法—多重殘留分析法(III)" (衛生署DOH89-FS-001), 2000, 89.1.11 衛署食字第 89002222 號公告。89 年 2 月 24 日中國國家標準CNS-13570-3, N6276-3。
10. 李宏萍, 翁愷慎, 李國欽, "食品中殘留農藥檢驗方法—茶多重殘留分析法" (衛生署DOH89-FS-001) 2002, 92.01.08 衛署食字第 09292000294 號公告。
11. F. E. Ahmed, "Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks", *trends in analytical chemistry*, 2001, 20(11), 649-661.
12. P. van Zoonen (Ed.), *Analytical Methods for Pesticide Residues in Foodstuffs*, 6th ed., General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sport, The Netherlands, The Hague, 1996 (荷蘭 300)。