

聲明 (2020.04.22)

本文屬「農業藥物毒物試驗所」基於促進公共利益所進行之獨立研究，台灣先正達股份有限公司未以任何形式參與本研究及此發表。

臺灣農藥科學 (Taiwan Pesticide Science) 7 : 39-51 (2019)

研究報告

DOI: 10.6671/TPS.201912_(7).03

利用 LC-MS/MS 建立 oxathiapiprolin 於葡萄中殘留分析方法

涂桂凌¹、廖偉志^{1*}、徐慈鴻¹

摘要

涂桂凌、廖偉志、徐慈鴻。2019。利用 LC-MS/MS 建立 oxathiapiprolin 於葡萄中殘留分析方法。臺灣農藥科學 7:39-53。

探討殺菌劑 oxathiapiprolin 於葡萄中殘留分析方法的建立，以含 1% 醋酸的氘甲烴溶液作為萃取溶液，及利用液相層析串聯式質譜儀 (Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS) 進行測定。葡萄基質添加標準品 (0.02, 0.05, 0.1 µg/g, n=5) 測得平均回收率範圍介於 91.0 ~ 98.6% 之間，及相對標準偏差範圍介於 1.1 ~ 3.0%。定量極限 (Limit of quantification, LOQ) 為 0.01 µg/g。本分析方法具備靈敏度與精確度之效能，可應用於葡萄中 oxathiapiprolin 殘留量監測管理。另外，探討葡萄基質中 oxathiapiprolin 冷凍儲存穩定試驗，於葡萄基質添加標準品 (0.5, 1.0, 2.0 µg/g, n=3)，儲存間期為 83 天，測得儲存回收率介於 84.6 ~ 90.2% 之間，及相對標準偏差介於 1.2 ~ 3.9% 之間，結果顯示葡萄基質中 oxathiapiprolin 殘留量在冷凍保存 83 天期間可供參考依據。

關鍵詞：液相層析串聯質譜儀、oxathiapiprolin、葡萄、儲存穩定性

緒言

殺菌劑 oxathiapiprolin 化學名稱 1-(4-{4-[(5*RS*)-5-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-1,2-oxazol-3-yl]-1,3-thiazol-2-yl}-

1-piperidyl)-2-[5-methyl-3-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazol-1-yl]ethane (IUPAC)，係屬哌啶基噻唑異噁唑啉類殺菌劑 (piperidinyl-thiazole-isoxazolin) (表一)^(1, 10)，用於防治卵菌綱引起的真菌病害之殺菌

接受日期：2020 年 1 月 20 日

* 通訊作者。E-mail: liaowch@tactri.gov.tw

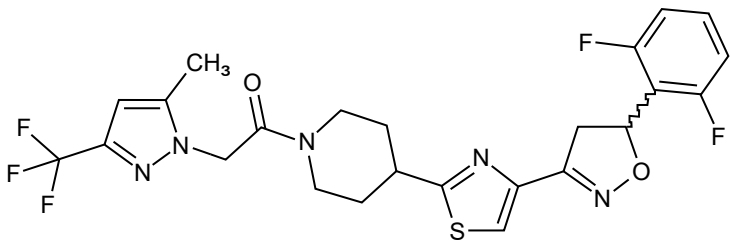
¹ 臺中市 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

劑。oxathiapirolin 目前於澳洲、加拿大、中國及美國已有登記使用⁽⁶⁾，在歐盟則有比利時及愛爾蘭等國家已上市使用於作物病害處理⁽⁷⁾。依據聯合國農糧組織 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)⁽⁶⁾ 評估 oxathiapirolin 於農作物殘留容許量 (maximum residue limits, MRLs) 之殘留定義 (residue definition) 中提到 oxathiapirolin 有 IN-WR791 及 IN-E8S72 等代謝物，在植物代謝研究中主成分 (parent compound)

oxathiapirolin 總放射殘留量 (total radioactive residue, TRR) 25 ~ 85%，為主要殘留物，即以 oxathiapirolin 為容許量訂定標準，未涵蓋其他代謝產物。目前國際公告作物中 CODEX、EU、美國及日本訂定 oxathiapirolin 在葡萄上的殘留容許量為 0.7 ~ 0.9 ppm⁽⁹⁾。殺菌劑 oxathiapirolin 申請運用於臺灣登記使用，有必要建立葡萄中 oxathiapirolin 殘留檢驗方法以供後續殘留容許量訂定之參考。

表一、oxathiapirolin 物理化學性質⁽¹⁰⁾

Table 1. Physical and chemical properties of oxathiapirolin⁽¹⁰⁾

Chemical Name	1-(4-{4-[(5 <i>R</i> S)-5-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-1,2-oxazol-3-yl]-1,3-thiazol-2-yl}-1-piperidyl)-2-[5-methyl-3-(trifluoromethyl)-1 <i>H</i> -pyrazol-1-yl]ethanone
Chemical Structure	
Molecular formula	C ₂₄ H ₂₂ F ₅ N ₅ O ₂ S
Molecular weight	540.2
Melting point	146.4 ~ 160°C
Vapor pressure	0.00141 (20°C extrapolated)
Solubility	In water 0.175 mg/L (20 ~ 25°C)
Solubility in water	0.175 mg/L (at 20 ~ 25°C)
Solubility in various solvents (mg/L) at 20 ~ 25°C	Soluble in acetone (163), dichloromethane (353), ethyl acetate (33.9), <i>n</i> -hexane (0.01), methanol (13.5), <i>n</i> -octanol (0.03), <i>o</i> -xylene (5.8)

本研究參考 2017 年 8 月 31 日衛生福利部公告修正食品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析方法（五），以 QuEChERS 方法前處理^(2, 4)萃取操作，利用 LC-MS/MS 兼具靈敏度及選擇性之優勢，建立 oxathiapiprolin 於葡萄中殘留分析方法，同時，探討葡萄基質添加標準劑 oxathiapiprolin 之冷凍儲存穩定試驗。

材料與方法

一、試藥

oxathiapiprolin 對照標準品，純度 96.7%，Syngenta Crop Protection, LLC 製造，由臺灣先正達股份有限公司提供。相關分析試藥包括氰甲烷 (acetonitrile) 層析級，J. T. Baker、冰醋酸 (acetic acid) GR 級，Merck、甲酸 (formic acid) GR 級，Merck、甲酸銨 (ammonium formate) GR 級，Fluka、無水硫酸鎂 (magnesium sulphate anhydrous) ACS 級，J. T. Baker、醋酸鈉 (sodium acetate) ACS 級，Merck、PSA (primary and secondary amine) HPLC 級，Agilent、陶瓷均質石 (Ceramic homogenizer) Bond Elut QuChERS，Agilent、濾膜 (ValueLab filter PTFE 13 mm 0.2 μm)，Agilent 等。1% 醋酸氰甲烷溶液配製：取冰醋酸 10 mL 與氰甲烷 990 mL 混合均勻。萃取用粉劑製備：內容含無水硫酸鎂、醋酸鈉，並依重量比例 4：1 混合。萃取用淨化管製備：以聚丙烯 (polypropylene,

PP) 材質離心管，秤取內容物含 300 mg PSA、900 mg 無水硫酸鎂作為淨化管。

二、儀器設備

高速震盪組織研磨均質機 (high-throughput plant and tissue homogenizer，1000 rpm 以上)：SPEX SamplePrep，Geno/Grinder 2010。離心機 (centrifuge)：Beckman Coulter，Allegra X-30R。吹氮濃縮機 (nitrogen blowing concentrator)：Organomation Associates, Inc, N-EVAP 112。

液相層析儀 Agilent 1200 series liquid chromatography；質譜儀 Agilent 6410 triple quadrupole mass spectrometry；控制及數據分析系統 Agilent MassHunter Quantitative Analysis (version B.04.00)，及 Agilent MassHunter Workstation Acquisition (version B.02.01)。

三、試驗作物來源

作物來自臺中市新社區之葡萄試驗田，品種為巨峰。

四、樣品製作及保存

將葡萄果實去除果梗後完整取樣，添加乾冰進行樣品均質處理，至少取樣 500 公克作為次樣品 (sub-sample)，裝罐密封，並保存於低溫冷凍 (低於 -18°C) 條件下，以待試驗分析用。

五、標準溶液之配製

精稱適量對照標準品，以氟甲烷溶解並定容之，製備標準儲備溶液 (standard stock solution) 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，於 -18°C 條件下避光儲存。使用時，量取適量標準儲備溶液，以氟甲烷稀釋成 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作為分析用標準工作溶液 (standard working solution)。

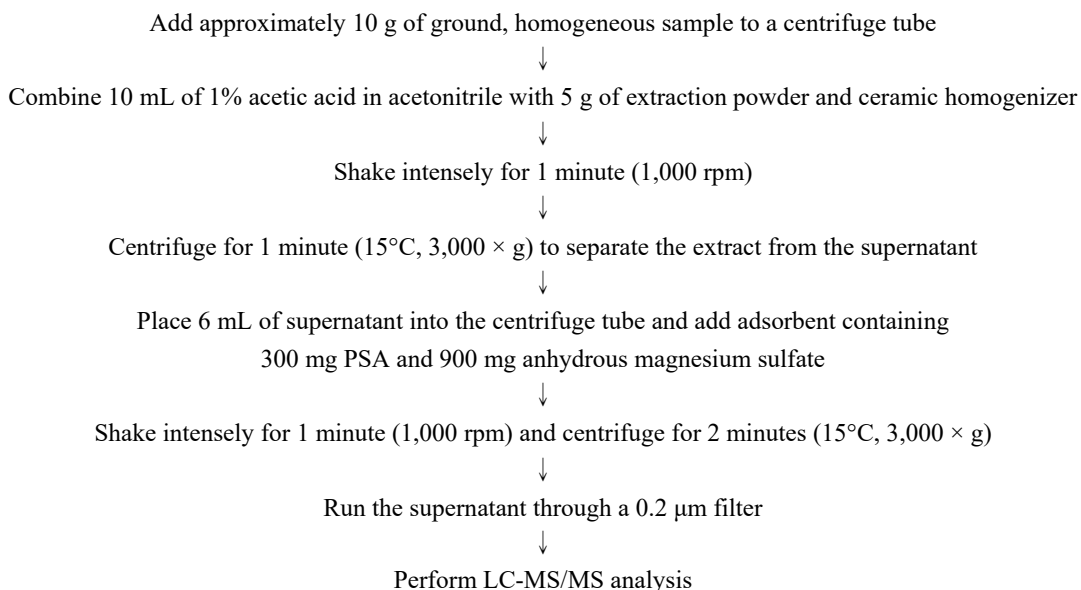
六、LC 移動相之配製

移動相 A 液：含 0.1% 甲酸之 10.1 mM 甲酸銨水溶液，取甲酸 1 mL，以去離子水定容至 1,000 mL，再加入甲酸銨 0.65 g 溶解均勻。移動相 B 液：含 0.5% 甲酸之

氟甲烷溶液，取甲酸 5 mL 與氟甲烷 995 mL 混合均勻。

七、檢液之製備

秤取葡萄次樣品 10 g 於離心管中，添加 10 mL 1% 醋酸氟甲烷，加入萃取用粉劑 5 g，陶瓷均質石 1 顆 (Agilent)，高速震盪 1 分鐘 (1,000 rpm) 後，離心 1 分鐘 (15°C , $3000 \times g$)，取 6 mL 上層液入離心管 (預秤 300 mg 的 PSA、900 mg 無水硫酸鎂)，經高速震盪 1 分鐘 (1,000 rpm) 後，再離心 2 分鐘 (15°C , $3,000 \times g$)，取上層澄清液 1 mL 經 0.2 μm 濾膜過濾 (PTFE, Agilent ValueLab filter)，供作檢液 (圖一)。



圖一、葡萄中 oxathiapiprolin 殘留分析流程圖。

Fig. 1. Flowchart illustrating the analysis of oxathiapiprolin residues in grapes.

八、液相層析串聯質譜分析條件

1. 液相層析儀

層析管柱：Agilent ZORBAX SB Eclipse Plus C18 (100 mm × 4.6 mm, 1.8 μm)。保護管柱：Agilent Eclipse XDB-C8 (30 mm × 2.1 mm, 3.5 μm)。層析管柱溫度：50°C。流速：0.3 mL/min。注入量：5 μL。移動相：A 液含 0.1% 甲酸之 10 mM 甲酸銨水溶液；B 液含 0.5% 甲酸之氰甲烷溶液。移動相梯度分析條件 (表二)。

2. 串聯質譜儀

離子源：採用電灑離子化 (ESI+)。
離子噴霧電壓 (ion spray voltage)：4,500 V
溶媒揮散溫度 (desolvation temperature)：

325°C。

溶媒揮散流速 (desolvation flow)：600 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測 (multiple reaction monitoring, MRM)。

分析參數：偵測離子對、進樣錐電壓與碰撞能量 (表三)。

九、標準檢量線之製作

取 oxathiapiprolin 標準工作溶液分別製作純溶劑標準劑與基質匹配標準劑之檢量線 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 mg/L，進行 LC-MS/MS 分析，以波峰面積對濃度作圖，繪製成標準檢量線。

表二、液相層析移動相梯度條件

Table 2. HPLC gradient conditions used in oxathiapiprolin separation

Time (min)	Flow rate (mL/min)	Mobile phase A ¹⁾ (%)	Mobile phase B ²⁾ (%)
0.0	0.3	80	20
1.0	0.3	30	70
5.0	0.3	30	70
8.0	0.3	0	100
12.0	0.3	80	20

¹⁾ Mobile phase A solution : 0.1% formic acid in 10 mM ammonium formate solution ;

²⁾ Mobile phase B solution : 0.5% formic acid in cyanomethane.

表三、oxathiapiprolin 多重反應偵測之條件

Table 3. MRM parameters employed in oxathiapiprolin analysis

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Fragment (V)	Collision energy (eV)
oxathiapiprolin	540.2	163.2	170	57
		119.2	170	69

十、分析成分鑑定及含量測定

精確量取檢液及標準品溶液進行液相層析串聯質譜分析，依前述條件進行分析，測定檢液與標準品溶液所得波峰之滯留時間，及多重反應偵測相對離子強度依據歐盟規範 SANTE/11813/2017⁽³⁾ (表四) 鑑定，並依下列計算式求得檢體中 oxathiapiprolin 濃度 ($\mu\text{g/g}$)。

$$\text{檢體中 oxathiapiprolin 濃度 } (\mu\text{g/g}) = C \times V \div W$$

C：由基質匹配檢量線求得之濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V：檢液定容之體積 (mL)

W：檢體重量 (g)

十一、添加回收試驗

取均質後之葡萄檢體 10 g，加入 oxathiapiprolin 標準溶液，使其濃度為 0.05、0.1 及 0.2 $\mu\text{g/g}$ (及相對標準偏差、 $n = 5$)，依分析檢液之製備操作流程，以 LC-MS/MS 進行分析，同時進行空白試驗

(blank analysis) 作為對照分析比對，以檢液所測得 oxathiapiprolin 離子碎片質量波峰之滯留時間及面積，分別與標準溶液比較鑑別並定量之，求出回收率應介於 70-120%，及相對標準偏差小於 20%⁽³⁾。

十二、定量極限 (limit of quantification, LOQ) 之評估

取均質後之葡萄檢體 10 g，加入適量 oxathiapiprolin 標準品溶液，依所建立之檢驗方法步驟求得。測定定量離子訊號與雜訊之比值 (signal-to-noise ratio, S/N ratio) 要大於 10，定性離子大於 3，作為定量極限之測定⁽³⁾。

十三、基質效應 (matrix effect)

基質效應之探討，分別以下列方式建立檢量線：

1. 純溶劑檢量線 (standard calibration curve, SCC)：標準品溶於氘甲烷溶劑，配製濃度為 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 。

表四、質譜分析之相對離子強度最大可容許範圍

Table 4. Recommended maximum tolerance levels for ion ratios detected using LC-MS/MS

Relative intensity (% of base peak)	Maximum acceptable LC-MS/MS Tolerance range (%) ¹⁾
> 50	± 30
20~50	± 30
10~20	± 30
<10	± 30

¹⁾ Maximum acceptable tolerance ranges are in accordance with EU regulations defined in SANTE/11813/2017

2. 基質匹配標準劑檢量線 (matrix calibration curve, MCC)：取空白葡萄檢體最終萃取液添加標準品使其最終濃度為 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 。
3. 基質效應計算公式如下：
基質效應 = (MCC 之斜率 - SCC 之斜率) / SCC 之斜率 $\times 100\%$

十四、儲存穩定性試驗

本研究以無殘留之葡萄樣品，加入 oxathiapiprolin 標準品，使檢體添加濃度為 0.5、1.0、及 2.0 $\mu\text{g/g}$ ，並儲存於 -18°C 低溫條件下，待試驗樣品分析完成後取出分析，儲存間期為 83 天 (2018 年 10 月 24 日至 2019 年 1 月 15 日)，目的探討殘留樣品於儲存期間 oxathiapiprolin 之穩定性表現。

結果與討論

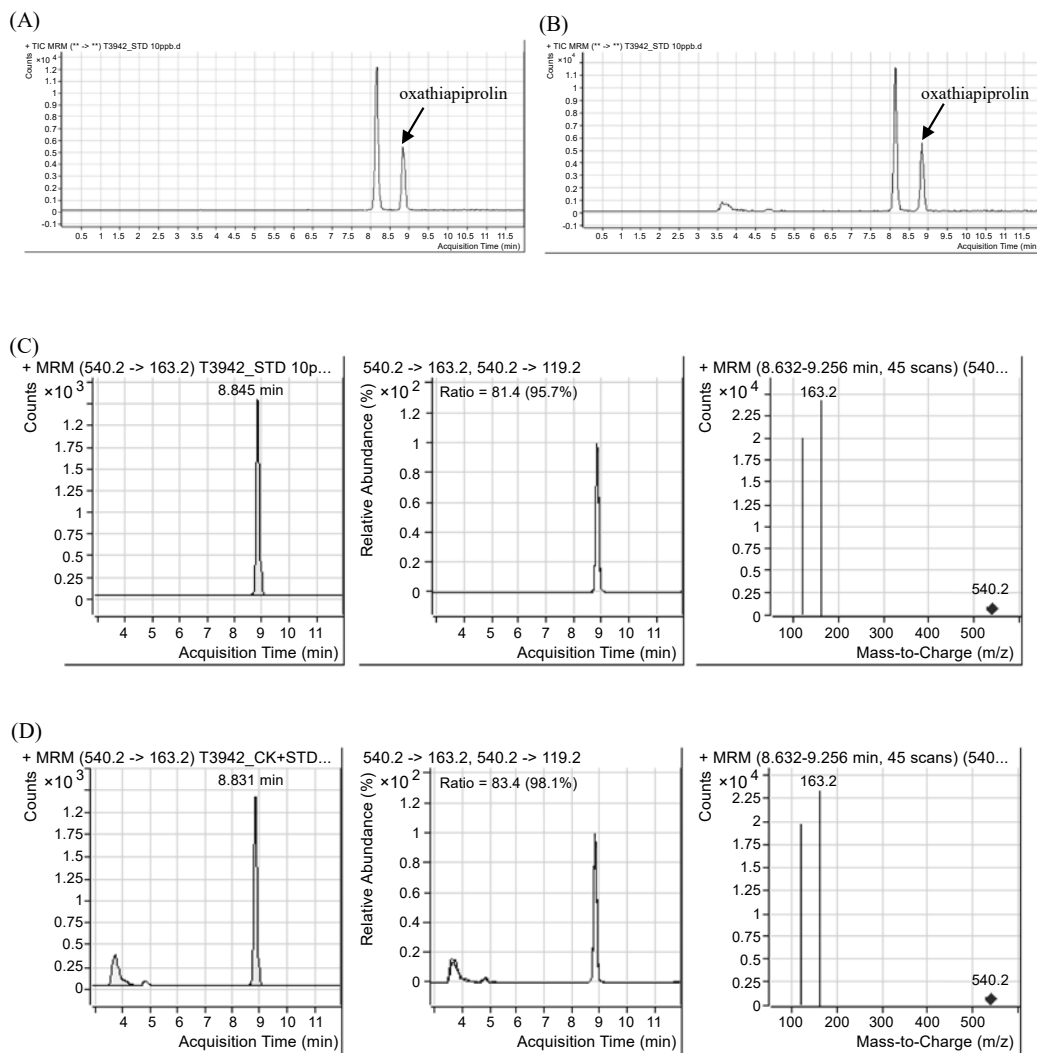
一、質譜儀之最適分析條件

利用電灑游離法作為離子源，並以 MRM 模式檢測葡萄中 oxathiapiprolin。溶媒揮散及進樣氣體皆為氮氣，離子噴霧電壓 (ionspray voltage) 為 4,500 V，溶媒揮散溫度 (desolvation temperature) 325°C ，溶媒揮散流速 (desolvation flow) 600 L/hr，選定之最佳進樣錐電壓 170 V，碰撞能量介於 57~69 eV。母離子於碰撞室 (collision

cell) 以氮氣碰撞，誘導解離為子離子，再經由第二段質量分析器偵測合適之子離子，以獲得最大偵測感度，由母離子 A 碰撞誘導產生子離子 B，以 $A > B$ 表示，本研究 oxathiapiprolin 之母離子為 m/z 540.2，子離子選定 m/z 163.2，及 m/z 119.2，其中 m/z 163.2 離子訊號較強作為定量，因此，本研究質譜鑑定參數選擇 $540.2 > 163.2$ 為定量離子對，及 $540.2 > 119.2$ 為定性離子對。其相對離子強度介於 73.4 ~ 92.2% 之間。oxathiapiprolin 標準品溶液之總離子層析圖及質譜圖 (圖二)。

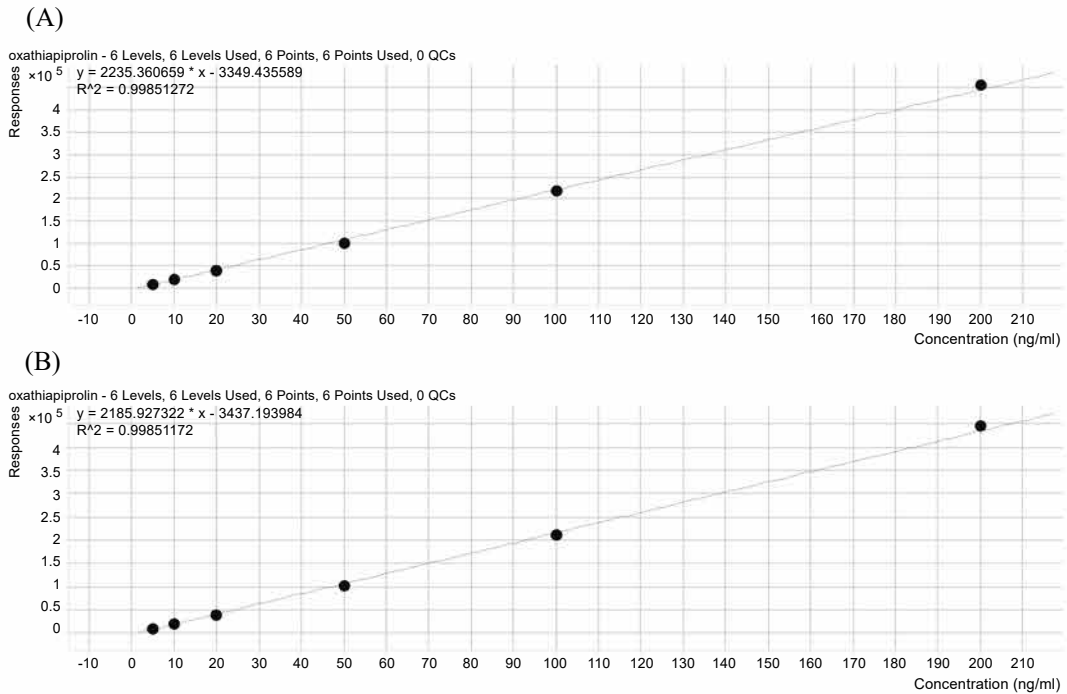
二、標準品檢量線與基質效應

標準品溶液 0.005 ~ 0.2 mg/L ，製得檢量線之判定係數 (R^2) 均大於 0.995，顯示於該濃度範圍內線性關係良好。為評估基質干擾物對分析物於質譜儀離子化之影響情形，分別製備標準品檢量線 (standard calibration curve, SCC)，及基質匹配標準品檢量線 (matrix calibration curve, MCC) (圖三)，並比較其斜率。測得 SCC 檢量式為 $y = 2235.360659x - 3349.435589$ ，及 MCC 檢量式為 $y = 2185.927322x - 3437.193984$ ，利用【基質效應 = (MCC 之斜率 - SCC 之斜率) / SCC 之斜率 $\times 100\%$ 】計算公式，求得基質效應為 -2.2%，結果顯示 Oxathiapiprolin 基質效應不明顯。考量分析結果之準確性，本研究仍採基質匹配標準劑檢量線試驗結果作定量計算。



圖二、oxathiapiprolin 純溶劑與基質匹配標準劑 0.01 μ g/mL 之 (A) 純溶劑總離子層析圖與 (B) 基質匹配總離子層析圖與 (C) 純溶劑多重反應偵測質譜圖與 (D) 基質匹配多重反應偵測質譜圖。

Fig. 2. (A) Representative total ion chromatogram (TIC) of 0.01 μ g/mL oxathiapiprolin.
 (B) Representative total ion chromatogram (TIC) of matrix 0.01 μ g/mL oxathiapiprolin.
 (C) Representative mass chromatogram determined through multiple reaction monitoring (MRM) of 0.01 μ g/mL oxathiapiprolin.
 (D) Representative mass chromatogram determined through multiple reaction monitoring (MRM) of matrix 0.01 μ g/mL oxathiapiprolin.



圖三、(A) 標準檢量線與 (B) 基質匹配標準劑檢量線。

Fig. 3. Calibration curves of oxathiapiprolin in solvent (A) and in matrix (B).

三、添加回收試驗

於葡萄檢體中分別加入 oxathiapiprolin 標準品溶液，使其濃度為 0.02 μg/g、0.05 μg/g 及 0.1 μg /g，依檢液之製備流程操作，添加平均回收率 (表五) 範圍介於 91.0~98.6% 之間，及相對標準偏差介於 1.1~3.0%，符合歐盟於作物與飼料中農藥殘留分析品質管制及方法確校之 SANTE/11813/2017 指引文件⁽³⁾，對於分析方法回收率介於 70~120% 及相對標準偏差 ≤ 20% 之規範。方法之溶劑空白分析 (BK)，及基質空白分析 (CK) 於 oxathiapiprolin 滯

留時窗內未檢出殘留，顯示方法之共同萃取物不會干擾分析鑑別之判定，分析試驗 BK、CK 與對照標準品之 LC-MS/MS 比較圖譜 (圖四)。

四、定量極限

本檢驗方法 oxathiapiprolin 之定量可至 0.01 μg/g，係將對照樣品實際添加濃度 0.01 μg/g 經檢測方法步驟求得。並測得其定量離子之訊噪比 (signal to noise ratio, S/N ratio) 為 33.7~271.8，定性離子對之訊噪比為 32.5~83.8。

五、儲存穩定性試驗

由於殘留試驗過程中，樣品在分析完成前會被儲存一段時間。農藥可能於儲存過程中因其揮發或酵素降解等過程而減少。因此，為確保樣品分析之農藥殘留量與採樣時相同，需進行儲藏對分析樣品中農藥殘留量的影響。

將基質添加 oxathiapiprolin 標準品儲存試驗濃度為 0.5, 1.0, 2.0 $\mu\text{g/g}$ ，儲存間期為 83 天，測得各種儲存濃度回收率（及相對標準偏差， $n = 3$ ）分別為 0.5 $\mu\text{g/g}$ 89.0 ~ 90.9% (1.2%)、1.0 $\mu\text{g/g}$ 81.5 ~ 86.2% (3.2%) 及 2.0 $\mu\text{g/g}$ 81.2 ~ 87.8% (3.9%) (表六)，符

合 FAO 食品及飼料中用於提及評估農藥殘留最大殘留容許量之 225 號指引文件⁽⁵⁾對儲存回收率應達 70% 之建議，顯示添加 oxathiapiprolin 之樣品於低溫條件（低於 -18°C ）儲存期間穩定。在 OECD 儲存作物中的農藥殘留穩定性之 506 號指引文件⁽⁸⁾，除了殘留樣品能於 30 天內分析完成外，較長儲存時間必須進行穩定性研究。本研究顯示 oxathiapiprolin 在葡萄基質中可穩定儲存至少 83 天，可說明 oxathiapiprolin 在較長時間下的儲存穩定性，可作為在葡萄殘留試驗的儲存穩定時間參考。

表五、oxathiapiprolin 添加回收試驗結果

Table 5. Results of recovery tests performed on oxathiapiprolin-fortified samples

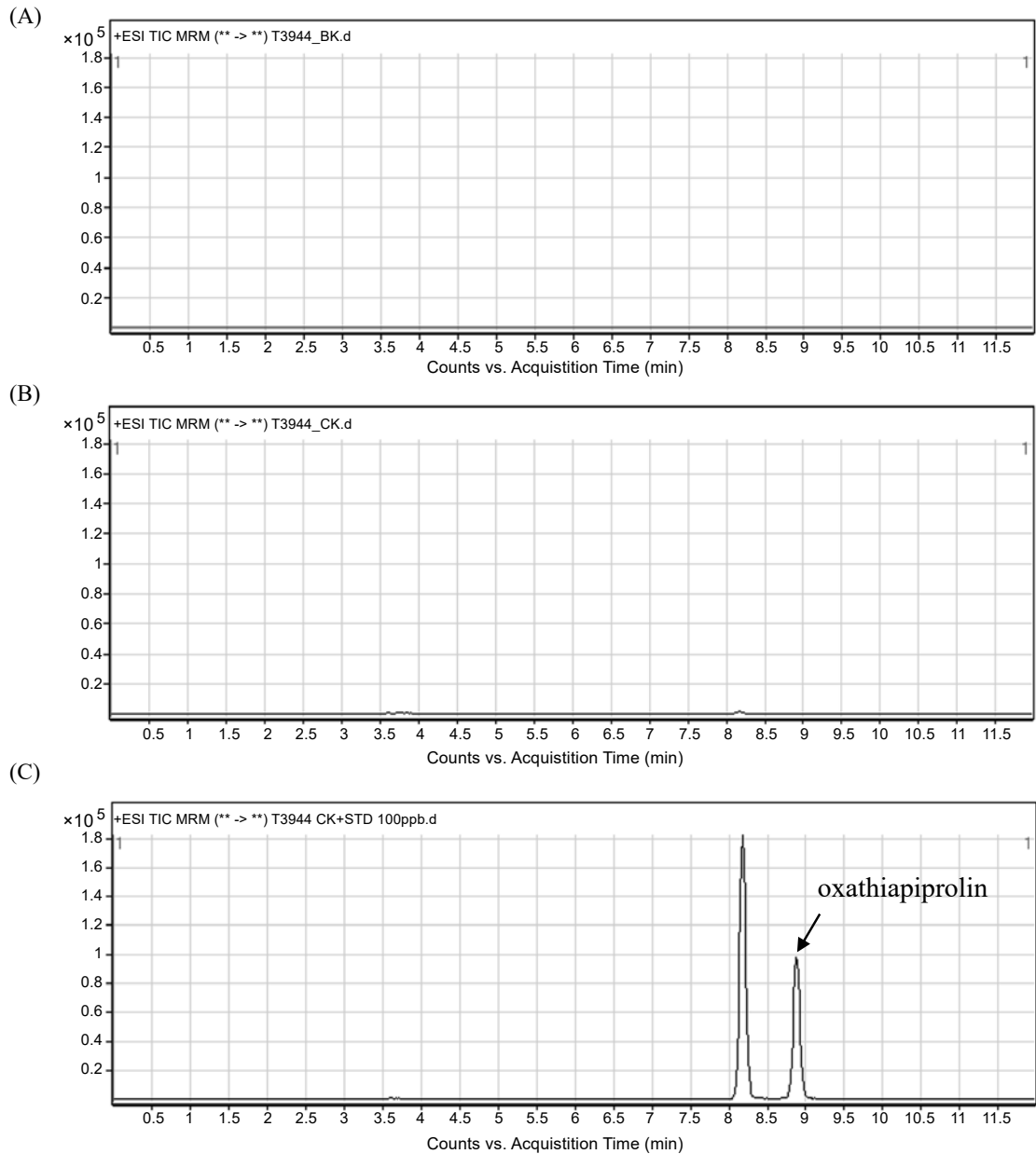
Concentration of oxathiapiprolin in grape sample ¹⁾ ($\mu\text{g/g}$)	Recovery rate range (%)	Average recovery rate (%)	Relative standard deviation (%)	Number of repetitions
0.02	91.7 ~ 99.2	94.4	3.0	5
0.05	90.2 ~ 92.7	91.0	1.1	5
0.1	96.1 ~ 101.5	98.6	2.4	5

¹⁾ The standard addition of sample per gram.

表六、oxathiapiprolin 添加儲存穩定試驗結果

Table 6. Results of fortified recovery tests to determine the storage stability of oxathiapiprolin

Storage interval (Days)	Concentration of oxathiapiprolin in grape sample ($\mu\text{g/g}$)	Average recovery rate (% , $n=3$)	Relative standard deviation (% , $n=3$)
83	0.5	90.2	1.2
	1.0	84.6	3.2
	2.0	84.6	3.9



圖四、(A) 空白試劑、(B) 空白基質、與 (C) oxathiapiprolin 標準品基質匹配 (0.1 g/mL) LC-MS/MS 分析圖譜。

Fig. 4. Representative mass chromatograms of (A) reagent blank, (B) matrix blank, and (C) grape matrix fortified with with 0.1µg/mL oxathiapiprolin.

結論

以含 1% 醋酸之氰甲烷溶液萃取葡萄中 oxathiapiprolin，及利用液相層析串聯質譜儀 (LC-MS/MS) 進行定性定量測定。oxathiapiprolin 基質匹配之檢量線性相關係數 0.998，基質效應為 -2.2%，基質效應不明顯，建議以基質匹配標準劑檢量線進行定量分析計算；定量極限為 0.01 $\mu\text{g/g}$ ；添加平均回收率為 96.7 ~ 102.6%，及相對標準偏差 2.2%；儲存穩定性試驗結果，可提供殘留樣品至少 83 天的冷凍條件保存下，其殘留量可供參考依據。本分析方法操作流程簡易，方法確效結果分析靈敏度及精確度均佳，可應用於葡萄中 oxathiapiprolin 之殘留量監測。

謝辭

本研究承蒙本所殘毒管制組殘留消退研究室王素如、林貞伶、張沛琳、賴雅莉、簡文彥及張欽豪小姐/先生協助試驗工作，謹致謝忱。

引用文獻

1. 許如君、吳昌昱 編。2018。農用藥劑分類及作用機制檢索。3 版。行政院農委會動植物防疫檢疫局。臺北。87 頁。
2. 衛生福利部。2017。食品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析方法(五) (MOHWP0055.03)。衛授食字第 1061901690 號。
3. European Committee Directorate General for Health and Food Safety. 2017. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Document number SANTE/11813/2017.
4. European Committee for Standardization. 2009. Foods 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. Document number DIN EN15662: 2009-02.
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. FAO Plant Production and Protection Paper 225. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 286pp.
6. FAO and WHO Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group. 2016. Oxathiapiprolin, pp.1649-1810. *In*: Food and Agriculture Organization of the United Nations, and World Health Organization [eds.], Pesticide residues in food 2016, Evaluations 2016 part I- residues, FAO plant production and protection paper 231. FAO/WHO, Rome,

- Italy. 2403pp.
7. PPDB: Pesticide Properties DataBase (oxathiapiprolin). Retrieved from <https://sitem.erts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/2618.htm> (Dec 26, 2019)
 8. OECD. 2007. Test No 506: Stability of pesticide residues in stored commodities. Retrieved from <https://doi.org/10.1787/9789264061927-en> (Dec 26, 2019)
 9. Table of MRLs for Agricultural Chemicals (oxathiapiprolin). Retrieved from The Japan Food Chemical Research Foundation. 2020. Maximum residue limits (MRLs) list of agricultural chemicals in foods. Retrieved from <http://db.ffcr.or.jp/> front/ (Aug 30,2019)
 10. Turner, J. A. 2016. The pesticide manual: A world compendium, 17th ed. British Crop Protection Council, Hampshire, UK. 1357pp.
- OFPR/GPO. 2020. Electronic code of federal regulations. Retrieved from https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?c=%20ecfr&sid=bd32aab1f2263d189c2ea7ae45c321e9&tpl=/ecfrbrowse/Title40/40cfr180_main_02.tpl (Aug 30,2019)
- European Commission. EU Pesticides database. 2020. Retrieved from <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-atabase/public/?event=pestici> (Aug 30, 2019)

Establishment of Analytical Method for Oxathiapiprolin Residue in Grapes by LC-MS/MS

Kuei-Ling Tu¹, Wei-Chih Liao^{1*}, Tsyrr-Horng Shyu¹

Abstract

Tu, K. L., Liao, W. C., Shyu, T. H. 2019. Establishment of analytical method for oxathiapiprolin residue in grapes by LC-MS/MS. *Taiwan Pestic. Sci.* 7: 39-53.

In this study, we developed an effective analytical method for the residue analysis of oxathiapiprolin, an insecticide that belongs to the diamide family of chemical compounds. Specifically, our proposed method employs liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) to quantify oxathiapiprolin residues in grapes. First, oxathiapiprolin residues are extracted from grape matrices using 1% acetic acid in acetonitrile. Then, chromatographic separation is then performed using an Agilent ZORBAX SB-C18 column in gradient elution mode at 50°C. For this, the mobile phase comprises 0.1% formic acid in 10.1 mM ammonium formate solution and 0.5% formic acid in acetonitrile, and the flow rate is maintained at a constant 0.3 mL/min. Quantification is performed by reversed-phase HPLC with electrospray MS/MS-detection. We found that, when grapes were fortified at levels of 0.02, 0.05, and 0.1 µg/g oxathiapiprolin, average recovery rates ranged from 91.0 to 98.6%, and relative standard deviations ranged from 1.1 to 3.0%. The limit of quantification (LOQ) was found to be 0.01 µg/g. Results of this study indicate that our proposed analytical method (1) can easily detect low levels of oxathiapiprolin and (2) has good precision and sensitivity. Our method could be applied to benefit regulatory and monitoring applications pertaining to oxathiapiprolin in grapes. We also investigated the frozen storage stability of oxathiapiprolin residue in grapes. After fortifying grapes with 0.5, 1.0 and 2.0 µg/g oxathiapiprolin, samples were placed in a temperature-monitored freezer

Accepted: January 20, 2020.

* Corresponding author, E-mail: liaowch@tactri.gov.tw

¹ Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung

and maintained at approximately -18°C . After 83 days, recovery rates ranged from 84.6 to 90.2%, which indicates that oxathiapiprolin residues are stable in grape matrices for at least 83 days when stored under the frozen conditions which are typically employed for actual residue samples.

Key words: LC-MS/MS, oxathiapiprolin, grape, storage stability