

土壤中固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 分析方法之建立

施雯莉¹、江珮瑜^{1*}、初建¹、徐慈鴻¹

摘要

施雯莉、江珮瑜、初建、徐慈鴻。2026。土壤中固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 分析方法之建立。臺灣農藥科學 20 : 1-19。

除草劑為常使用農藥種類之一，目前我國合法登記之除草劑總數有 156 種，其中嘉磷塞和固殺草為國內除草劑成品製造量前三名，但由於其極高的水溶性，造成分析上的難度，因此本研究旨在建立土壤樣品中固殺草、嘉磷塞及嘉磷塞代謝物 AMPA (aminomethylphosphonic acid, 以下簡稱為 AMPA) 農藥殘留分析方法，並使用相對應之穩定同位素作為內標準品，以 fluorenylmethyloxycarbonyl chloride (FMOC-Cl) 於硼酸緩衝溶液下進行衍生化，再以固相萃取匣淨化濃縮。其後以超高效液相層析串聯質譜儀 (UPLC-MS/MS) 對各 FMOC-衍生物進行偵測分析。土壤樣品以基質匹配檢量線定量，線性範圍可達 0.005~0.5 mg/kg， r^2 均大於 0.99 以上，土壤添加 0.2 mg/kg 濃度之回收率介於為 93.4-96.8%，土壤添加 0.05 mg/kg 濃度之回收率介於 92.0-103.6%，重複注入分析 5 次精密性配置標準液 0.2 mg/kg，求其相對標準偏差介於 4.13-9.30%，定量極限為 0.001 mg/kg。本研究即以衍生化進行前處理，再利用兼具靈敏度及選擇性優勢的超高效液相層析串聯質譜儀同時進行嘉磷塞、AMPA 與固殺草 3 種成分之定性定量分法以供後續環境監測之用。

關鍵詞：土壤、除草劑、嘉磷塞、嘉磷塞代謝物 AMPA、固殺草、衍生化

接受日期：2026 年 1 月 24 日

* 通訊作者。E-mail: pyjiang@acri.gov.tw

¹ 臺中市 農業部農業藥物試驗所

前言

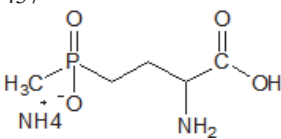
依我國農藥管理法第五條，農藥係指用於防除農林作物或其產物之病蟲鼠害、雜草者，或用於調節農林作物生長或影響其生理作用者，或用於調節有益昆蟲生長者。大部分農藥由於其作用為殺蟲、殺菌或除草等特性，或多或少對人體、動物和環境會造成不同程度的風險及危害；但同樣的農藥可防治有害病、蟲或雜草，有效提高農作生產。臺灣地處熱帶及亞熱帶地區，擁有平地至高山多變的地形，相對提供了熱帶及溫帶植物的生長環境，造成雜草種類多且分布廣泛，同時也對農業環境及生產造成極大的衝擊⁽²⁾，因此除草劑的應用成為現行雜草管理體系所高度依賴之技術，目前我國合法登記之除草劑總數有 156 種，過往因毒性因素而禁用者，包括護谷、五氯酚、達諾殺、全滅草、巴拉

刈等十餘種⁽²⁾，現今用量較多的藥劑為嘉磷塞、固殺草、丁基拉草等。

除草劑固殺草 (glufosinate-ammonium) 其化學名為 ammonium (2RS)-2-amino-4-(methylphosphinato) butyric acid，為非選擇性萌後接觸型除草劑⁽¹⁾，於土壤中易於分解代謝，土壤代謝半衰期約為 6-11 天⁽¹⁶⁾，不具環境持久性，具有殘效短及毒性低之特性。除草劑嘉磷塞 (glyphosate) 其化學名為 N-(phosphonomethyl) glycine，為非選擇性萌後系統性除草劑，其易快速與土壤團粒結合，不具持續性，不易被雨淋洗至地下水，且可經由微生物分解，土壤代謝半衰期 0.7-78.9 天，平均值為 16.1 天⁽¹⁶⁾，具對哺乳類、鳥類及魚類低毒性等特點，二者為次磷酸 (phosphinic acid) 類藥劑⁽³⁾，主要針對果園、蔬菜田及不整地玉米田之雜草防除，前述 2 種藥劑的物化性質如表一至表二，此外，嘉磷塞在土壤中經由微

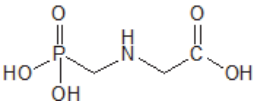
表一、固殺草物理化學性質^(6, 13)

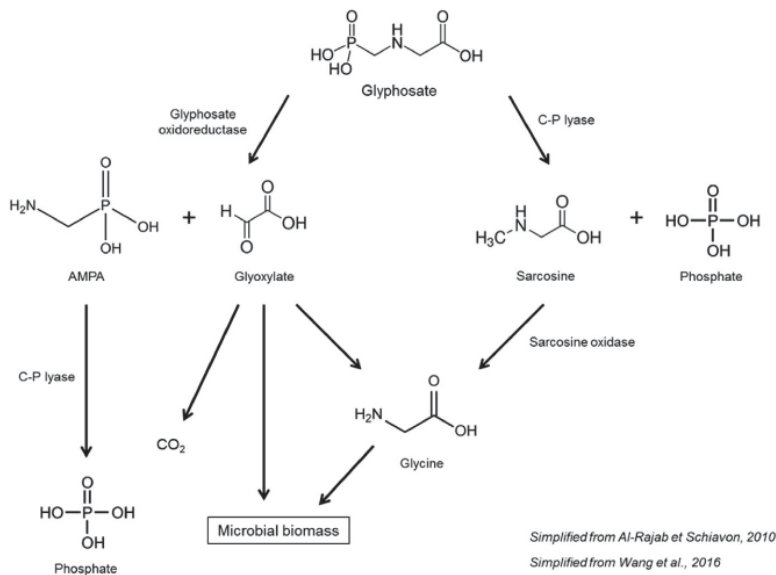
Table 1. Physical and chemical properties of glufosinate-ammonium^(6, 13)

Chemical name	ammonium (2RS)-2-amino-4-(methylphosphinato) butyric acid
CAS No.	77182-82-2
CIPAC No.	437
Chemical structure	
Molecular formula	C ₅ H ₁₅ N ₂ O ₄ P
Molecular weight	198.16
Melting point	216.5°C
Appearance	White crystalline powder
Solubility in water	500,000 mg/L (20°C)
Solubility in various solvents	Methanol (5,730,000), Acetone (250), Ethyl acetate (250), <i>p</i> -Xylene (250) (in mg/L, 20°C)
Stability	Stable at pH 5 to pH 9 at 25°C

生物降解⁽⁹⁾ (如圖一)，大多會代謝為 aminomethylphosphonic acid (以下簡稱為 AMPA，物化性質如表三)，其化學性質及毒性與嘉磷塞相似，AMPA 土壤代謝半衰期 6.4-378.4 天⁽¹⁶⁾，平均值 114 天，具環境持久性，因此在施用嘉磷塞後，有可能在土壤中檢測到 AMPA。

表二、嘉磷塞物理化學性質^(6, 13)

Table 2. Physical and chemical properties of glyphosate ^(6, 13)	
Chemical name	N-(phosphonomethyl) glycine
CAS No.	1071-83-6
CIPAC No.	284
Chemical structure	
Molecular formula	C ₃ H ₈ NO ₅ P
Molecular weight	169.1
Melting point	189.5°C
Appearance	White crystalline powder
Solubility in water	100,000 mg/L (20°C)
Solubility in various solvents	Methanol (10), Acetone (0.6), Ethyl acetate (0.6), Xylenes (0.6) (in mg/L, 20°C)
Stability	Stable at pH 5 to pH 8 at 25°C



圖一、環境中嘉磷塞主要生物降解途徑⁽⁹⁾。
Fig. 1. Main glyphosate biodegradation pathways in the environment⁽⁹⁾.

由於固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 的易溶於水的特性 (>1,000 mg/mL, 20°C) (如表四) ⁽¹⁵⁾，造成分析上的難度，本檢驗方法使用相對應之穩定同位素作為內標準品，並對於土壤樣品，先以鹼性水溶液進行萃取，進而得到水體樣品其經過濾後，分別皆以衍生化劑 (FMOC-Cl) 於硼酸緩衝溶液 (pH=9) 下進行衍生化反應 ^(10, 5, 14) (如圖二)，再以固相萃取匣 (Oasis HLB) 淨化濃縮步驟，後續搭配超高效液

相層析串聯質譜進行分析。

材料與方法

一、試藥

固殺草標準品 (glufosinate-ammonium, 純度 97.93%, LGC)、嘉磷塞標準品 (glyphosate, 純度 98.6%, SIGMA-ALDRICH)、嘉磷塞代謝物標準

表三、AMPA (嘉磷塞代謝物) 物理化學性質 ^(6, 13)

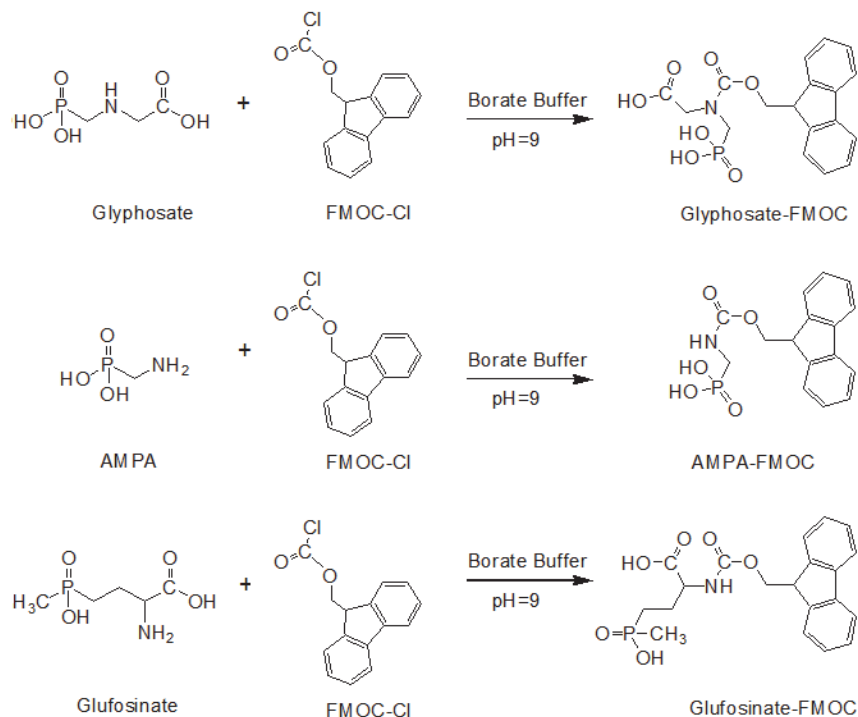
Table 3. Physical and chemical properties of aminomethylphosphonic acid ^(6, 13)

Chemical name	(Aminomethyl) phosphonic acid
CAS No.	1066-51-9
CIPAC No.	NA
Chemical structure	
Molecular formula	CH ₆ NO ₃ P
Molecular weight	111.04
Melting point	300°C
Appearance	White crystalline powder
Solubility in water	1,466,561 mg/L (20°C)
Solubility in various solvents	Almost insoluble in organic solvents
Stability	Stable. Incompatible with strong oxidizing agents. Protect from moisture.

表四、美國藥典中溶解度的定義 ⁽¹⁵⁾

Table 4. Solubility definition in the U.S. Pharmacopoeia ⁽¹⁵⁾

Descriptive term (solubility definition)	Parts of solvent required	Solubility range (mg/mL)	Solubility assigned (mg/mL)
Very soluble (極易溶)	<1	>1,000	1,000
Freely soluble (易溶)	1 to 10	100-1,000	100
Soluble (可溶)	10 to 30	33-100	33
Sparingly soluble (稀釋可溶)	30 to 100	10-33	10
Slightly soluble (微溶)	100 to 1,000	1-10	1
Very slightly soluble (非常微溶)	1,000 to 10,000	0.1-1	0.1
Practically insoluble (幾乎不溶)	>10,000	<0.1	0.01



圖二、固殺草、嘉磷塞及 AMPA 與 FMOC-Cl 衍生化反應式⁽⁵⁾。

Fig. 2. Reaction schematic of derivatization of glufosinate, glyphosate and AMPA with the FMOC-Cl agent⁽⁵⁾.

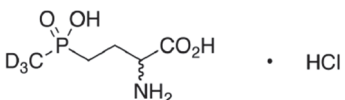
品 (AMPA, 純度 99.90%, LGC)、固殺草同位素標準品 (glufosinate-d3 · HCl, 純度 95%, Toronto Research Chemicals, 如表五)、嘉磷塞同位素標準品 (glyphosate-¹³C₂, ¹⁵N, 純度 98%, Toronto Research Chemicals, 如表六)、嘉磷塞代謝物同位素標準品 (AMPA -¹³C, ¹⁵N, 純度 96%, Toronto Research Chemicals, 如表七)。其他相關分析試藥包括丙酮 (acetone, ≥99.0%, Merck)、二氯甲烷 (dichloromethane, ≥99.0%, Merck)、正己烷 (n-hexane, ≥98.0%, Merck)、甲醇

(methanol, ≥99.9%, Merck)、乙腈 (acetonitrile, ≥99.9%, J. T. Baker)、甲酸 (formic acid, ≥98.0%, Merck)、十水合四硼酸二鈉 (di-sodium tetraborate decahydrate, 99.5-103.0% (acidimetric), Merck)、碳酸銨 (ammonium carbonate, ≥30.0% NH₃ (acidimetric), Merck)、甲酸銨 (ammonium formate, 99.0%, Alfa-Aesar)、氫氧化鉀 (potassium hydroxide, ≥85.0% KOH basis (acidimetric), Merck)、氯甲酸-9-芴基甲酯 (FMOC-Cl, 97%, Aldrich)、鹽酸 (HCl, 37%, Merck)、無

水硫酸鈉 (sodium sulfate anhydrous, $\geq 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, 以下簡稱為 DDW) 等。
 $\geq 99.0\%$, Merck) 及二次水 (DD water,

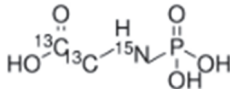
表五、固殺草同位素標準品物理化學性質⁽¹³⁾

Table 5. Physical and chemical properties of glufosinate-d3 hydrochloride⁽¹³⁾

Chemical name	2-Amino-4-[hydroxyl (methyl-d3) phosphoryl]butanoic acid hydrochloride
CAS No.	1323254-05-2
CIPAC No.	NA
Chemical structure	
Molecular formula	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{D}_3\text{ClNO}_4\text{P}$
Molecular weight	220.61
Appearance	White solid

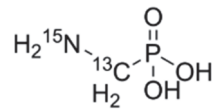
表六、嘉磷塞同位素標準品物理化學性質⁽¹³⁾

Table 6. Physical and chemical properties of glyphosate- $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}$ ⁽¹³⁾

Chemical name	N-(phosphonomethyl) glycine- $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}$
CAS No.	1185107-63-4
CIPAC No.	NA
Chemical structure	
Molecular formula	$^{13}\text{C}_2\text{H}_8^{15}\text{NO}_5\text{P}$
Molecular weight	172.05
Appearance	White solid

表七、AMPA (嘉磷塞代謝物) 同位素標準品物理化學性質⁽¹³⁾

Table 7. Physical and chemical properties of aminomethylphosphonic acid- $^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}$ ⁽¹³⁾

Chemical name	(Aminomethyl) phosphonic acid- $^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}$
CAS No.	NA
CIPAC No.	NA
Chemical structure	
Molecular formula	$^{13}\text{CH}_6^{15}\text{NO}_3\text{P}$
Molecular weight	113.02
Appearance	White solid

二、標準品溶液配製

分別精秤固殺草、固殺草同位素、嘉磷塞、嘉磷塞同位素、AMPA 與 AMPA 同位素的標準品，並分別以少量混合溶劑 (10% acetonitrile) 溶解及定量，作為標準品儲備液 (stock solution)。再取適量標準品儲備溶液，分別配製成 10,000 $\mu\text{g/L}$ 標準品混合液，於 -20°C 條件下避光保存。使用時，置於室溫回溫約 1 小時，取適量標準品混合液，分別以少量混合溶劑 (25% MeOH) 定量稀釋成 5-500 $\mu\text{g/L}$ 之標準品工作液 (working solution)。

三、樣品前處理

取 2 g 土壤至 50 mL 離心管 (cellulose Soxhlet Extraction Thimble, 38 mm $\times$ 80 mm, GE Healthcare Life Sciences) 後，添加標準品 (STD) 及內標準品 (ISTD, 同位素標準品, 0.2 ppm) 各 0.1 mL，震盪混勻後，靜置 10-30 分鐘，加入 10 mL 0.6 M KOH 水溶液，以高速組織研磨震盪均質機 (SPEX SamplePrep. 2010/Geno/Grinder, 1,000 rpm) 震盪 2 次，每次 5 分鐘，並以 4,500 rpm 離心 10 分鐘，取 5 mL 上清液加入 5 mL DDW，混合均勻後並以 6 M HCl 水溶液調整至 pH 9，經 0.45 μm 濾膜及固相萃取匣 (Waters Oasis HLB 3 c.c. (60 mg) Extraction Cartridge) 淨化過濾並以離心管收集濾液，加 1.25 mL borate buffer (40 mM, pH=9) 及 1.25 mL FMOC-Cl (in

acetonitrile) 於濾液中，以高速組織研磨震盪均質機 (1,000 rpm) 震盪 30 秒後，以 200 W 微波反應 2.5 分鐘，放置於 4°C 下 30 分鐘，加入 125 μL 甲酸 (formic acid) 以終止反應。將所得到的溶液，倒入已分別預先用 2 mL 甲醇和 2 mL 0.1% 甲酸水溶液活化和平衡的固相萃取匣進行淨化，再分別使用 2 mL DDW 和 1 mL 二氯甲烷進行沖洗，最終以 3 mL 5% 甲酸 (in MeOH) 沖提並收集濾液，將其吹氮至乾後 (40°C)，以 50 mM 碳酸銨 (添加 0.1% 甲酸, in 50% MeOH) 進行回溶至 200 μL 並以經 0.2 μm PTFE 濾膜過濾後，以超高效液相層析串聯質譜儀 (Waters ACQUITY UPLC/Waters TQMS Xevo) 分析。

四、液相層析串聯質譜分析條件

(一) 超高效液相層析儀

層析管柱：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm $\times$ 100 mm $\times$ 1.7 μm)。

保護管柱：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 VanGuard Pre-Column (2.1 mm $\times$ 5 mm $\times$ 1.7 μm)。

層析管柱溫度： 50°C 。

流速：0.2 mL/min。

注入量：2 μL 。

移動相 (Mobile phase)：

A：碳酸銨與甲酸銨之混合水溶液 (0.3 mM $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ + 1 mM (NH_4FA) in DDW)。

B : 0.3 mM 碳酸銨之甲醇溶液
($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ in 95% MeOH) 移動相梯度分析條件如表八。

(二) 串聯質譜儀

串聯質譜儀：Waters Xevo TQMS

離子化模式採用電灑法：ESI。

離子噴霧電壓 (ionspray voltage)：3.2 kV。

離子源溫度：150°C。

溶媒揮散溫度 (desolvation temperature)：320°C。

進樣錐氣體流速 (cone gas flow)：80 L/hr。

溶媒揮散流速 (desolvation flow)：700 L/hr。

分析參數：滯留時間、偵測離子對、進樣錐電壓 (cone voltage, CV) 與碰撞能量 (如表九)。

五、標準液及檢量線之製作

取標準品工作溶液 5、10、20、50、100、200 及 500 $\mu\text{g/L}$ ，UPLC-MS/MS 分析，以波峰面積對濃度作圖，至少 5 種濃度繪製成標準檢量線。

六、基質效應 (Matrix Effect, ME)

試驗對照組用空白土壤樣品，於 2019 年 6 月採集自苗栗縣卓蘭鎮苗豐 0044 段 572 號處，植被為柑橘 (茂谷) 之土壤，並委託國立中興大學土壤調查試驗中心進行土壤性質分析，項目包含有機質、有機碳、水分、質地、酸鹼值、全氮及陽離子交換等 (表十)。

以空白土壤樣品檢液 (來源如前述材料方法三、樣品前處理)，添加固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 的標準品及同位素，使其最終農藥濃度為 5、10、20、

表八、液相層析移動相梯度條件

Table 8. HPLC gradient conditions

Time (min)	Flow (mL/min)	% A ^{a)}	% B ^{b)}
-	0.20	100	0
1.50	0.20	90	10
6.00	0.20	50	50
10.50	0.20	0	100
13.00	0.20	100	0
16.50	0.20	100	0

^{a)} Mobile phase A solution: mixed aqueous solution of 0.3 mM ammonium carbonate and 1 mM ammonium formate.

^{b)} Mobile phase B solution: 0.3 mM ammonium carbonate in methanol.

表九、多重反應偵測之條件

Table 9. MRM parameters

Compound	Ion mode	Retention time (min)	MRM transition (m/z)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Coefficient of determination (r ²)
gly-fmoc ^{a)}	ESI+	6.9	392>214 392>88	35	10 20	0.9986
glu-fmoc ^{b)}	ESI+	7.6	404>182 404>136	20	15 15	0.999
AMPA-fmoc ^{c)}	ESI-	8.4	331.9>110 331.9>136	11	8 17	0.9969
gly'-fmoc (內標)	ESI+	6.9	395>91 395>217	35	20 10	-
glu'-fmoc (內標)	ESI+	7.6	407>185 407>139	20	15 15	-
AMPA'-fmoc (內標)	ESI-	8.4	333.9>112 333.9>138	11	8 17	-

^{a)} 嘉磷塞 fmoc 衍生物，分子量 (g/mol)=391；其內標分子量 (g/mol)=394。

^{b)} 固殺草 fmoc 衍生物，分子量 (g/mol)=403；其內標分子量 (g/mol)=335。

^{c)} AMPA fmoc 衍生物，分子量 (g/mol)=333；其內標分子量 (g/mol)=406。

表十、供試土壤性質分析結果

Table 10. Characteristics of test soil

Soil characteristics	Value / Result
Organic matter (%)	2.8
Organic carbon (%)	0.72
Water content (%)	1.22
Texture	Loam
Sand (%)	44.1
Silt (%)	39.7
Clay (%)	16.2
pH	6.94
Total-N (%)	0.101
Cation exchange capacity (cmolc kg ⁻¹)	7.72

50、100、200 及 500 µg/L 而同位素濃度各為 50 µg/L 並以 UPLC-MS/MS 分析。

基質效應計算公式 ⁽⁷⁾ 如下 (濃度為 200 µg/L)：

$$ME (\%) = \left[\left(\frac{\frac{R_{std \text{ in matrix extract}}}{R_{IS \text{ in matrix extract}}}}{\frac{R_{std \text{ in solvent extract}}}{R_{IS \text{ in solvent extract}}}} \right) - 1 \right] \times 100$$

R=Detector response

七、添加回收試驗

取 2 g 空白對照組土壤樣品，加入含固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 的標準品的工作液，使其濃度為 50 µg/kg 及 200 µg/kg，依分析檢液之製備操作流程，以 UPLC-MS/MS 進行分析。同時進行空白試驗 (blank analysis) 作為對照分析比對，以檢液所測得各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，求取回收率。

結果與討論

一、質譜儀之最適分析條件

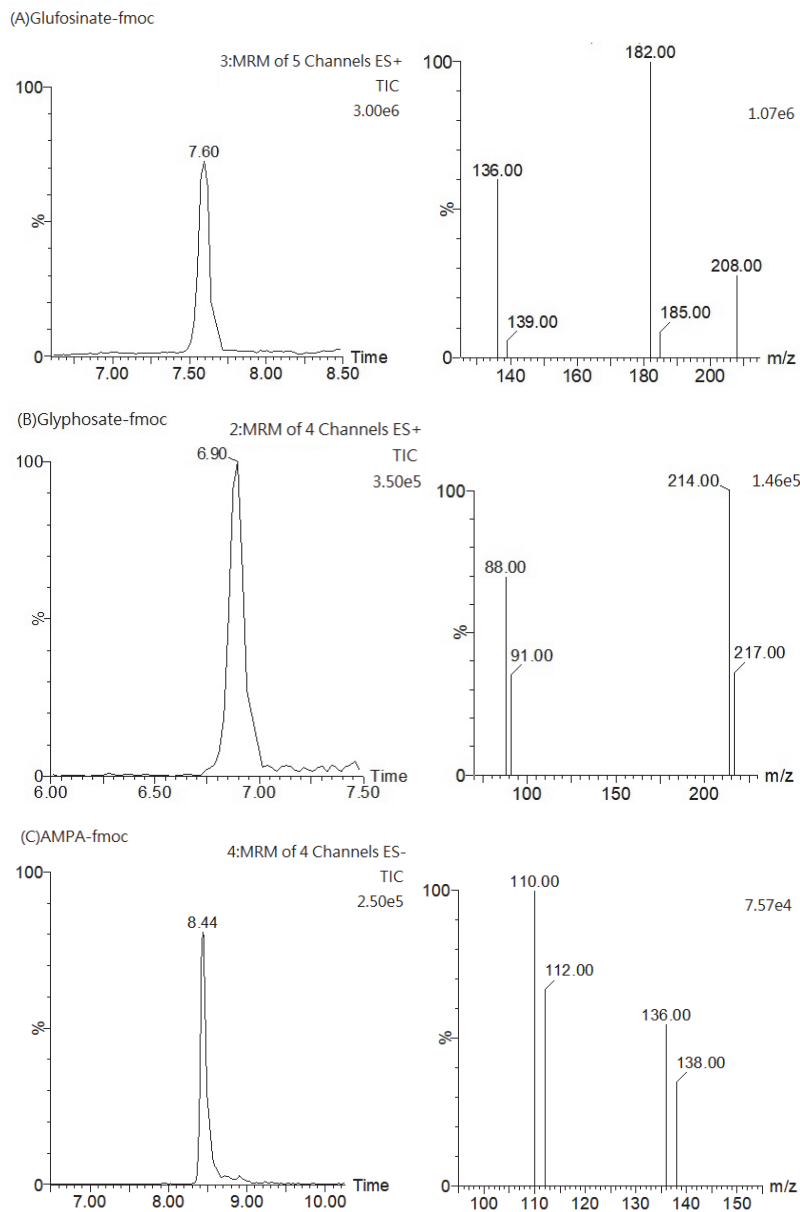
利用電灑游離法作為離子源，並以 MRM 模式檢測固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA。碰撞能量介於 8-20 eV。母離子於碰撞室 (collision cell) 以氬氣碰撞，誘導解離為子離子，再經由第二段質量分析器偵測合適之子離子，以獲得最大偵測感度，由母離子 A 碰撞誘導產生子離子 B，以 A>B 表示。

本研究固殺草以 FMOC-Cl 所衍生化之產物 (glu-fmoc) 母離子為 m/z 404 (ESI+)，子離子選定 m/z 182 及 m/z 136 (如

圖三)，其中 m/z 182 離子訊號較強作為定量，因此，本研究質譜鑑定參數選擇 404>182 為定量離子對，及 404>136 為定性離子對⁽¹¹⁾；而其同位素標準品衍生化的產物 (glu'-fmoc) 母離子 m/z 407 (ESI+)，子離子選定 m/z 185 及 m/z 139，本研究質譜鑑定參數選擇 407>185 為定量離子對，及 407>139 為定性離子對。

嘉磷塞以 FMOC-Cl 所衍生化之產物 (gly-fmoc) 母離子為 m/z 392 (ESI+)，子離子選定 m/z 214 及 m/z 88 (如圖三)，其中 m/z 214 離子訊號較強作為定量，因此，本研究質譜鑑定參數選擇 392>214 為定量離子對及 392>88 為定性離子對⁽¹¹⁾；而其同位素標準品衍生化的產物 (gly'-fmoc) 母離子 m/z 395 (ESI+)，子離子選定 m/z 91 及 m/z 217，本研究質譜鑑定參數選擇 395>91 為定量離子對及 395>217 為定性離子對。

嘉磷塞的代謝物 AMPA 以 FMOC-Cl 所衍生化之產物 (AMPA-fmoc) 母離子為 m/z 332 (ESI-)，子離子選定 m/z 110 及 m/z 136 (如圖三)，其中 m/z 110 離子訊號較強作為定量，因此，本研究質譜鑑定參數選擇 332>110 為定量離子對及 332>136 為定性離子對⁽¹²⁾；而其同位素標準品衍生化的產物 (AMPA'-fmoc) 母離子 m/z 334 (ESI-)，子離子選定 m/z 112 及 m/z 138，本研究質譜鑑定參數選擇 333.9>112 為定量離子對及 334>138 為定性離子對。(如表九)。



圖三、(A) 固殺草、(B) 嘉磷塞及 (C) AMPA 與 FMOC-Cl 之衍生物的總離子層析圖譜 (左圖) 與產物離子質譜圖 (右圖) (標準品濃度為 0.2 mg/kg)。

Fig. 3. Representative mass chromatogram determined through multiple reaction monitoring (MRM) of 0.2 mg/kg of (A) glufosinate, (B) glyphosate and (C) AMPA with FMOC-Cl agent.

二、檢量線分析

配製固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 的 3 種標準品檢量線濃度：5、10、20、50、100、200 及 500 $\mu\text{g/L}$ ，取 5 μL 注入儀器分析，其中固殺草及嘉磷塞及以正離子模式分析⁽¹¹⁾，AMPA 以負離子模式分析⁽¹²⁾，各濃度有效成分之訊號／雜訊比 (signal-to-noise ratio, S/N ratio) 均大於 10，各成分滯留時間、多重反應偵測之條件及多重反應偵測質譜圖如表五。以有效成分濃度為 X 軸，波峰面積比值為 Y 軸進行迴歸分析 (如圖四)，結果顯示其回歸決定係數 (r^2) 均可達 0.997 以上 (如表九)。

三、添加回收試驗及儀器重複注入精密性 (Repeatability)

將固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 的標準品及同位素添加於空白土壤樣品，使其最終農藥濃度為 50 $\mu\text{g/kg}$ 及 200 $\mu\text{g/kg}$ 而同位素濃度各為 50 $\mu\text{g/kg}$ 並以 UPLC-MS/MS 分析於土壤中固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 的 3 種標準品，進行方法回收率試驗 ($n=5$)。添加濃度為 50 $\mu\text{g/kg}$ 時，回收率介於 92.0-103.6%，相對標準偏差皆小於 20%。添加濃度為 200 $\mu\text{g/kg}$ 時，回收率介於為 93.4-96.8%，相對標準偏差在 10% 以下 (如表十一)。

四、方法定量極限 (Limit of Quantitation, LOQ)

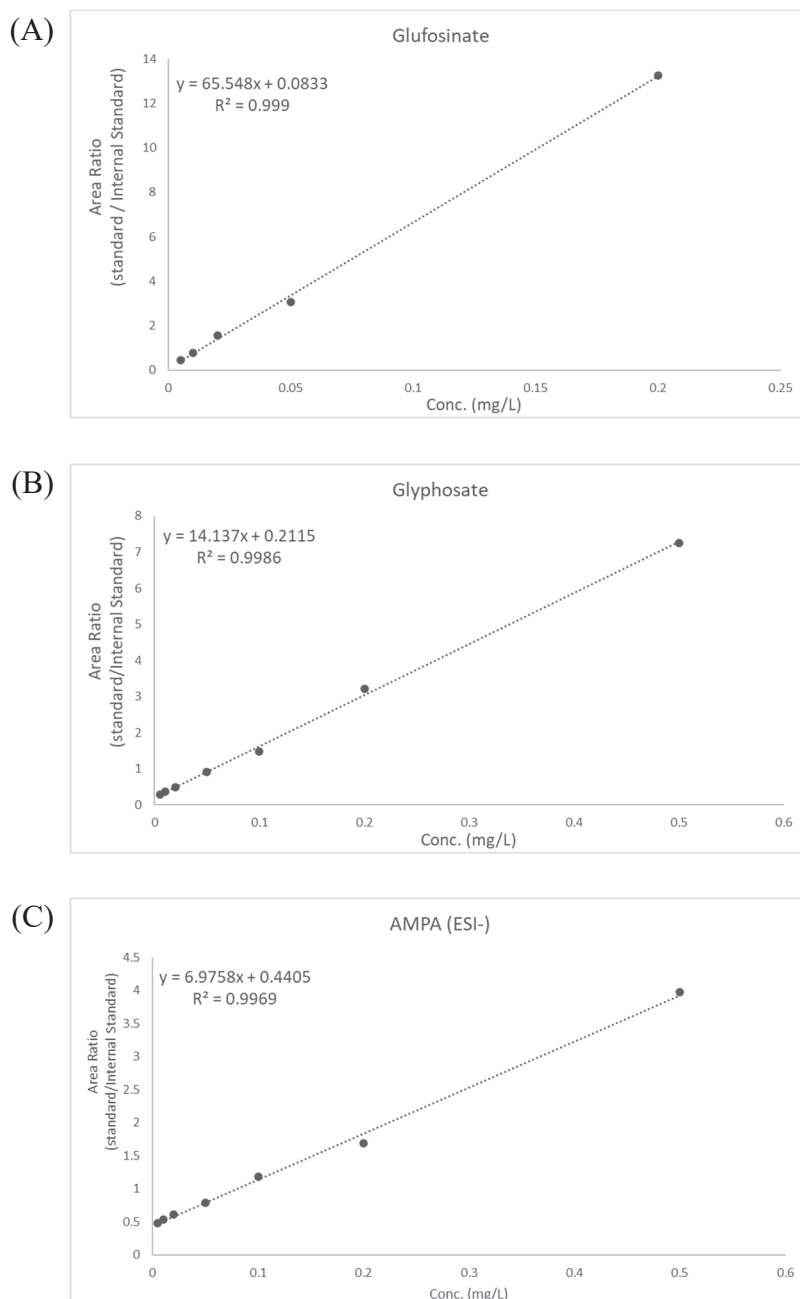
本檢驗方法固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA 之定量可至 0.001 mg/kg ，係將對照樣品實際添加濃度 0.001 mg/kg 經檢測方法步驟求得。並測得其定量離子之訊噪比 (signal to noise ratio, S/N ratio) 分別為 18.6、44 及 751.9。

五、基質效應 (Matrix Effect, ME)

考量土壤樣品是一種含大量化合物的複雜基質，這些化合物會干擾分析物信號，產生基質效應，為了減少基質效應的影響，需使用基質匹配檢量線來進行定量⁽⁸⁾。進一步以標準品及同位素添加和基質的濃度面積評估基質效應 (圖五)，若其比值超出大於 20%，則認定有增強或抑制基質干擾效應⁽¹⁴⁾，因此進行方法試驗 ($n=5$)。由結果顯示以 UPLC-MS/MS 分析之嘉磷賽、AMPA 及固殺草基質效應分別介於 25-52%、36-51% 及 15-29% (表十一至表十四)，三者皆有明顯的基質效應，且屬於增強效應，而本檢驗方法使用基質匹配檢量線並添加同位素作為內標加以分析並計算，可作為精確定量之方法。

結論

本研究建立一分析方法檢測土壤中固殺草、嘉磷塞及其代謝物 AMPA，將樣品



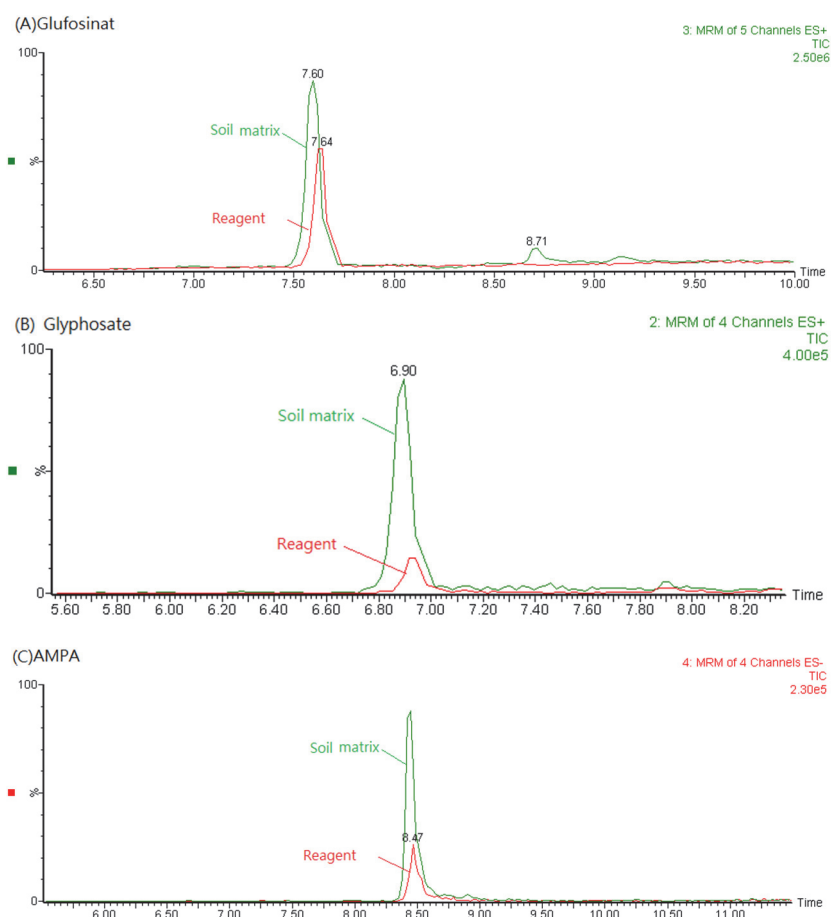
圖四、(A) 固殺草、(B) 嘉磷塞及 (C) AMPA 基質匹配標準劑檢量線 (土壤)。

Fig. 4. Calibration curves of (A) glufosinate, (B) glyphosate and (C) AMPA in matrix (soil).

表十一、添加回收試驗結果

Table 11. Results of recovery tests

Analyte	Concentration (mg/kg)	Average recovery (%)	CV (%)
Glyphosate	0.05	92.0	18.64
	0.2	93.4	9.30
AMPA	0.05	95.2	17.61
	0.2	96.8	6.67
Glufosinate	0.05	103.6	16.85
	0.2	96.3	4.13



圖五、標準品濃度為 0.2 mg/kg 之 (A) 固殺草、(B) 及 (C) AMPA 在土壤中之基質效應。

Fig. 5. Matrix effect of (A) glufosinate, (B) glyphosate and (C) AMPA in soil at a standard concentration of 0.2 mg/kg.

表十二、基質效應試驗結果-嘉磷賽

Table 12. Results of matrix effect tests - glyphosate

Item ^{d)}	Area	IS Area ^{a)}	Ratio of Area/IS area	ME RSD (%)	ME (%)
BK ^{b)} +STD	2230	1034	2.157	-	-
CK ^{c)} +STD rep-1	12897	4416	2.920	32.4	35.4
CK ^{c)} +STD rep-2	15320	4675	3.277		51.9
CK ^{c)} +STD rep-3	12691	4667	2.719		26.1
CK ^{c)} +STD rep 4	12025	4475	2.687		24.6
CK ^{c)} +STD rep5	11235	3969	2.831		31.3

a) IS: 內標準品 (同位素)。

b) BK: 二次水。

c) CK: soil.

d) Spike STD: 0.2 mg/kg.

表十三、基質效應試驗結果-AMPA

Table 13. Results of matrix effect tests - AMPA

Item ^{d)}	Area	IS Area ^{a)}	Ratio of Area/IS area	ME RSD (%)	ME (%)
BK ^{b)} +STD	3362	2719	1.237	-	-
CK ^{c)} +STD rep-1	8377	4998	1.676	17.5	35.5
CK ^{c)} +STD rep-2	9681	5209	1.859		50.3
CK ^{c)} +STD rep-3	9887	5465	1.809		46.3
CK ^{c)} +STD rep 4	8869	5278	1.680		35.9
CK ^{c)} +STD rep5	10771	5760	1.870		51.2

a) IS: 內標準品 (同位素)。

b) BK: 二次水。

c) CK: soil.

d) Spike STD: 0.2 mg/kg.

表十四、基質效應試驗結果-固殺草

Table 14. Results of matrix effect tests - glufosinate

Item ^{d)}	Area	IS Area ^{a)}	Ratio of Area/IS area	ME RSD (%)	ME (%)
BK ^{b)} +STD	90378	8676	10.417	-	-
CK ^{c)} +STD rep-1	125279	9642	12.993	22.4	24.7
CK ^{c)} +STD rep-2	147251	11729	12.554		20.5
CK ^{c)} +STD rep-3	102678	7673	13.382		28.5
CK ^{c)} +STD rep 4	153568	12796	12.001		15.2
CK ^{c)} +STD rep5	122662	9694	12.653		21.5

a) IS: 內標準品 (同位素)。

b) BK: 二次水。

c) CK: soil.

d) Spike STD: 0.2 mg/kg.

以衍生化劑 (FMOC-Cl) 於硼酸緩衝溶液 (40 mM, pH=9) 下進行衍生化，並以固相萃取匣 (Oasis HLB) 淨化濃縮步驟，其後以超高液相層析串聯質譜儀 (UPLC-MS/MS) 進行定量定性測定，確效試驗結果包含檢量線 r^2 皆>0.99，回收率介於 70-120%、高濃度及低濃度的精密性分別為 4-9% 及 17-19%，定量極限為 0.001 mg/kg⁽⁴⁾。

謝辭

本研究承蒙農業部 2020 年農科-7.7.1-藥-P2 計畫經費補助及本所殘留管制組環境安全研究室許得美小姐與張巧盈小姐協助試驗工作，謹此謝忱。

引用文獻

1. 袁秋英、蔣慕琰。1994。抗除草劑基因改造作物之特性及其生態問題。檢自 <https://www.moa.gov.tw/ws.php?id=6123> (Apr. 16, 2025)
2. 蔣永正、蔣慕琰。2006。農田雜草與除草劑要覽。行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所印。臺中。259 頁。
3. 農業部動植物防疫檢疫署。2023。我國農藥管理及其展望。檢自 <https://pesticide.aphia.gov.tw/information/Data/BriefContent/68> (Apr. 16, 2025)
4. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。食品化學檢驗方法之確效規範。Retrieved

<https://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?id=f636921436165222394> (Apr. 16, 2025)

5. Campanale, C., Triozzi, M., Massarelli, C., and Uricchio, F. 2022. Development of a UHPLC-MS/MS method to enhance the detection of glyphosate, AMPA and glufosinate at sub-microgram / L levels in water samples. J. Chromatogr. A. 1672: 463028.
6. CIPAC-Collaborative International Pesticides Analytical Council. 2022. Navigate code numbers. Retrieved from <https://www.cipac.org/index.php/code-numbers/navigate-code-numbers> (Apr. 16, 2025)
7. EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides. 2021. Main changes introduced in Document N° SANTE/11312/2021 with respect to the previous version (Document N° SANTE 12682/2019). Retrieved from https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11312_2021.pdf (Apr. 16, 2025)
8. Feng, X., He, Z., Wang, L., Peng, Y., Luo, M., and Liu, X. 2015. Multiresidue analysis of 36 pesticides in soil using a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method by liquid chromatography with tandem quadruple linear ion trap mass spectrometry. J. Sep. Sci. 38: 3047-3054.
9. Grandcoin, A., Piel, S., and Baurès, E.

2017. Aminomethylphosphonic acid (AMPA) in natural waters: Its sources, behavior and environmental fate. *Water Res.* 117: 187–197.
10. Hanke, I., Singer, H., and Hollender, J. 2008. Ultratrace-level determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and glufosinate in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: performance tuning of derivatization, enrichment and detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 391: 2265-2276.
 11. Ibáñez, M., Pozo, O. J., Sancho, J. V., López, F. J., and Hernández, F. 2005. Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 1081: 145-155.
 12. Meyer, M. T., Loftin, K. A., Lee, E. A., Hinshaw, G. H., Dietze, J. E., and Scribner, E. A. 2009. Determination of glyphosate, its degradation product aminomethylphosphonic acid, and glufosinate, in water by isotope dilution and online solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *USGS (U.S. Geological Survey) Techniques and Methods* 5-A10.
 13. National Library of Medicine. 2025. PubChem. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71317104> (Apr. 16, 2025)
 14. Sun, L., Kong, D., Gu, W., Guo, X., Tao, W., Shan, Z., Wang, Y., and Wang, N. 2017. Determination of glyphosate in soil/sludge by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1502: 8-13.
 15. The United States Pharmacopeial Convention 2012, Second supplement to USP 35–NF 30, Reference tables / Description and solubility 5805.
 16. University of Hertfordshire. 2025. Pesticide Properties Data Base (PPDB). Retrieved from <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/372.htm> (Apr. 16, 2025)

Establishment of an Analytical Method for Glufosinate, Glyphosate and Glyphosate Metabolite AMPA in Soil

Wen-Li Shih¹, Pei-Yu Jiang^{1*}, Chien Chu¹, Tsyr-Horng Shyu¹

Abstract

Shih, W.L., Jiang, P. Y., Chu, C., and Shyu, T. H. 2026. Establishment of an analytical method for glufosinate, glyphosate and glyphosate metabolite AMPA in soil. Taiwan Pestic. Sci. 20: 1-19.

High-polarity pesticides, such as the herbicides glyphosate and glufosinate, have broad effectiveness and non-selectivity for weed control, making them herbicides of choice globally; however, the risk of environmental contamination remains a pressing concern. Furthermore, the major degradation product of glyphosate, aminomethylphosphonic acid (AMPA), has been found present in plants, water, and soil samples. Despite the prevalent use of these herbicides in Taiwan, there are currently no relevant environmental testing data. To address concerns associated with environmental residue and possible adverse effects, an analytical method applying 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride (FMOC-Cl) derivatization was developed for the determination of glufosinate, glyphosate and AMPA in soil samples. Soil samples were first extracted with 0.6 M KOH_(aq.), cleaned up with solid-phase extraction, and then diluted in water. Following FMOC-Cl derivatization and solid-phase extraction, liquid chromatography-tandem mass spectrometry was employed to analyze each FMOC-derivative. Stable isotope internal standards for each analyte were also used. The matrix-matched calibration range for UPLC-MS/MS was 0.001 to 0.1 mg/kg ($r^2 > 0.999$), and the average recoveries by UPLC-MS/MS at two spike levels (0.05 and 0.2 mg/kg) were 92.0-103.6% and 93.4-96.8%, respectively, with RSDs of less than 20%. The obtained CV% (0.2 mg/kg, 5 replicates) of the spiked sediment samples was 4.13-9.30%.

Accepted: January 24, 2026.

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

¹ Agricultural Chemicals Research Institute, Ministry of Agriculture, Taichung

Therefore, the analytical methods established and confirmed in this study for glufosinate and glyphosate residues and AMPA in environmental samples could be used for subsequent environmental residue monitoring and environmental risk assessment.

Key words: soil, herbicides, glyphosate, glufosinate, AMPA, UPLC-MS/MS