

# 建立以液相層析串聯質譜儀分析殺紋寧於小葉菜類中殘留之方法

廖保成<sup>1</sup>、江峻蔚<sup>2</sup>、廖偉志<sup>1\*</sup>、徐慈鴻<sup>1</sup>

## 摘要

廖保成、江峻蔚、廖偉志、徐慈鴻。2024。建立以液相層析串聯質譜儀分析殺紋寧於小葉菜類中殘留之方法。臺灣農藥科學 16 : 19-32。

探討異噁唑類 (isoxazoles) 殺菌劑殺紋寧 (hymexazol) 於小葉菜類中殘留分析方法的建立，以含乙腈溶液作為萃取溶液，使用 ACQUITY UPLC HSS T3 管柱於 30°C 進行層析分離，移動相為 0.2% 甲酸水溶液及乙腈，設定恆定流速 0.15 mL/min 進行洗脫，使用逆相條件之液相層析串聯式質譜儀 (Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS) 進行測定。小葉菜類選擇青蔥、青江菜及萵苣做為基質添加殺紋寧標準溶液 (0.02, 0.05, 0.1  $\mu\text{g/g}$ , n=5) 測得平均回收率範圍分別為介於 77.5-83.7%、112.8-116.8% 及 110.3-117.4% 之間，及相對標準偏差範圍分別介於 3.5-4.7%、0.7-3.3% 及 1.7-2.3%。定量極限 (limit of quantification, LOQ) 為 0.01  $\mu\text{g/g}$ 。本分析方法具備靈敏度與精確度之效能，可應用於小葉菜類中殺紋寧殘留量監測管理。

**關鍵詞：**液相層析串聯質譜儀、殺紋寧、小葉菜類、精確度

---

接受日期：2024 年 1 月 24 日

\* 通訊作者。E-mail: liaowch@acri.gov.tw

<sup>1</sup> 臺中市 農業部農業藥物試驗所

<sup>2</sup> 桃園市 農業部茶及飲料作物改良場

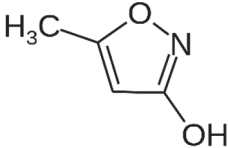
## 前言

殺菌劑殺紋寧化學名稱 5-methylisoxazol-3-ol (IUPAC) (表一)<sup>(7)</sup>，係屬異噁唑類殺菌劑 (isoxazoles fungicide)<sup>(2)</sup>，用於防治立枯病及水稻紋枯病之殺菌劑，本成分為三共股份有限公司於 1969 年於日本登記，日本已上市使用於水稻、甜菜、葫蘆科作物及蔬菜病害處理<sup>(7)</sup>。主要作用機制為藉由影響核酸合成進而干擾有絲分裂 (nucleic acids synthesis assembly in mitosis) 核酸合成組裝 (A3-DNA/RNA synthesis (proposed))，達到防治作用<sup>(2)</sup>。依據日本及歐盟針對殺紋寧於農作物使用管制之殘留量定義 (residue definition) 均

規範以主成分 (parent compound) 為主，並不含其他代謝產物，即以殺紋寧為容許量 (maximum residue limits, MRLs) 評估標準。目前國際公告作物中日本訂定殺紋寧在萵苣上的殘留容許量為 0.5 ppm<sup>(5)</sup>，歐盟訂定殺紋寧在小葉菜類 (包含青蔥及萵苣) 上的殘留容許量為 0.02 ppm<sup>(6)</sup>。因此殺菌劑殺紋寧申請運用於臺灣登記使用，有必要建立小葉菜類中殺紋寧殘留檢驗方法，以供後續殘留容許量訂定以及小葉菜類進出口與市售產品檢測殺紋寧殘留量之參考，目前 2022 年 8 月 17 日衛生署公告修正食品中殘留農藥檢驗方法—多重殘留分析方法 (五) 之適用分析範圍中未納入殺紋寧，故殺紋寧殘留檢測分析方法之開發具應用性及必要性。

表一、殺紋寧物理化學性質<sup>(6)</sup>

Table 1. Physical and chemical properties of Hymexazol<sup>(6)</sup>

Active ingredient	Hymexazol
Chemical name	5-methylisoxazol-3-ol (IUPAC)
Chemical structure	
Molecular formula	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>
Molecular weight	99.1
Melting point	86-87°C
Vapor pressure	182 mPa (25°C)
Solubility in water	5.82 x 10 <sup>4</sup> (pH 3), 6.51 x 10 <sup>4</sup> (distilled), 6.78 x 10 <sup>4</sup> (pH 9) (mg/L, 20-25°C)
Solubility in various solvents	Soluble in acetone (730), dichloromethane (602), ethanol acetate (437), hexane (12.2), methanol (968) and toluene (176) (g/L, 20-25°C)

本研究參考 2016 年李輝等人發表 3 種方法測定植物源性農產品中殺紋寧殘留量<sup>(1)</sup>，參考其蔬菜類前處理淨化方式，並結合 QuEChERS 方法前處理<sup>(3)</sup> 萃取操作，利用 LC/MS/MS 兼具靈敏度及選擇性之優勢，建立殺紋寧於小葉菜類中殘留分析方法，探討三種小葉菜類基質（青蔥、青江菜及萵苣）之添加回收率及定量極限，驗證分析方法之靈敏度及準確度。

## 材料與方法

### 一、試藥

殺紋寧 (hymexazol) 對照標準品為純度 99.8%，由 Mitsui chemical agro, inc. 製造（日本福岡縣）。相關分析試藥包括乙腈 (acetonitrile) 層析級，J.T.Baker（中國）、甲酸 (formic acid) GR 級，Merck（芬蘭）、無水硫酸鎂 (magnesium sulphate anhydrous) ACS 級，J.T.Baker（日本）、氯化鈉 (sodium chloride) GR 級，Merck（加拿大）、GCB (Supelclean™ ENVI-Carb™ SPE Bulk Packing) HPLC 級，Supelco（美國）及 0.2 μm 濾膜 (PTFE, Hydrophobic vent filters)，Agilent（美國）等。緩衝 - 鹽混合劑：實驗室製備，內容含無水硫酸鎂及氯化鈉，並依重量比例 4：1 混合。萃取用淨化管：實驗室製備，以聚丙烯 (polypropylene, PP) 材質離心管，秤取內容物含無水硫酸鎂 900 mg 及 GCB 120 mg。

### 二、儀器設備

攪拌混合器 (food crushing equipment)：ROBOT COUPE，R301 Ultra（法國）。高速震盪組織研磨均質機 (high-throughput plant and tissue homogenizer)：SPEX SamplePrep，Geno/Grinder 2010（美國）。離心機 (centrifuge)：Beckman Coulter，Allegra X-30R（美國）。吹氮濃縮機 (nitrogen blowing concentrator)：Organomation Associates, Inc，N-EVAP 112（美國）。

液相層析儀 Agilent 1200 series liquid chromatography（美國）；質譜儀 AB SCIEX QTRAP（美國）；控制及數據分析系統 Instrument Control and Data Processing Software (AL Version 1.6.3)（美國）。

### 三、試驗作物來源

作物皆來自雲林縣莿桐鄉之試驗田，青蔥 (*Allium fistulosum*) 品種為北蔥，青江菜 (*Brassica chinensis* L.) 品種為農光青江白菜，萵苣 (*Lactuca sativa* L.) 品種為桃源半結球萵苣。

### 四、樣品製作及保存

青蔥樣品將鬚根去除後整株完整取樣，青江菜及萵苣樣品則直接整株完整取樣，添加乾冰進行樣品均質處理，至少取樣 500 g 作為次樣品 (sub-sample)，裝罐

密封，並保存於低溫冷凍（低於  $-18^{\circ}\text{C}$ ）條件下，以待試驗分析用。

## 五、標準溶液之配製

精秤對照標準品，以乙腈溶解及定量，製備標準儲備溶液 (standard stock solution)  $1,000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ，於  $-18^{\circ}\text{C}$  條件下避光儲存。使用時，量取適量標準儲備溶液，以乙腈稀釋成  $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$  作為分析用標準工作溶液 (standard working solution)。

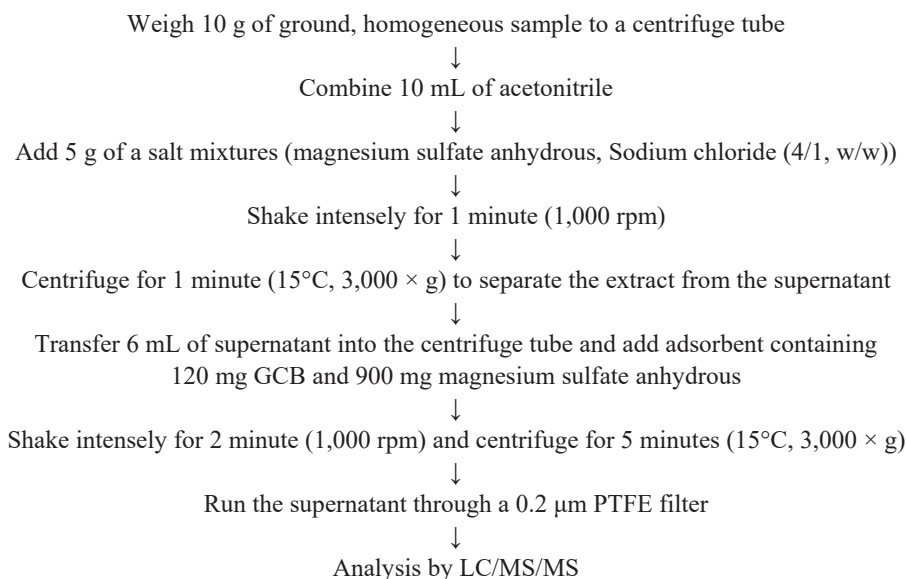
## 六、LC 移動相之配製

移動相 A 液：0.2% 甲酸水溶液，配製方法為取甲酸  $2.04\ \text{mL}$ ，以去離子水定

容至  $1,000\ \text{mL}$ ，混合均勻。移動相 B 液：乙腈溶液。

## 七、檢液之製備

秤取青蔥、青江菜及萵苣均質樣品  $10\ \text{g}$  於個別離心管中，添加  $10\ \text{mL}$  乙腈，加入緩衝-鹽混合劑  $5\ \text{g}$  (無水硫酸鎂：氯化鈉=4：1 (重量比))，高速震盪 1 分鐘後，離心 1 分鐘 ( $3,000 \times g$ ,  $15^{\circ}\text{C}$ )，取  $6\ \text{mL}$  上層液入離心管 (預秤無水硫酸鎂  $900\ \text{mg}$  及 GCB  $120\ \text{mg}$ )，經高速震盪 2 分鐘後，再離心 5 分鐘 ( $3,000 \times g$ ,  $15^{\circ}\text{C}$ )，取上層澄清液經  $0.2\ \mu\text{m}$  濾膜過濾 (PTFE, hydrophobic vent filters) 供作檢液 (圖一)。



圖一、小葉菜類中殺紋寧殘留分析流程圖。

Fig. 1. Flowchart illustrating the analysis of hymexazol residue in leafy vegetables.

## 八、液相層析串聯質譜分析條件

### 1. 液相層析儀

層析管柱：ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm)。層析管柱溫度：30°C。流速：0.15 mL/min。注入量：5 μL。移動相分析條件：動相 A (0.2% 甲酸水溶液)、動相 B (乙腈)，動相恆定比例為 A : B = 40% : 60%。分析時間：10 分鐘。

### 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) : 5,500 V

離子源溫度 (source temperature) : 550°C。

氣簾氣體 (curtain gas) : 35 psi

碰撞氣體 (collision gas) : high

離子源氣體 1 (ion source gas 1) : 55 psi

離子源氣體 2 (ion source gas 2) : 45 psi

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

分析參數：偵測離子對、碰撞能量、QTRAP 相關設定與掃描方式 (表

二)。

## 九、標準檢量線之製作

取殺紋寧標準工作溶液分別製作純溶劑標準劑與基質匹配標準溶液之檢量線 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。

## 十、分析成分鑑定及含量測定

精確量取檢液及標準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/12682/2019<sup>(4)</sup> (表三) 鑑定，並依下列計算式求得檢體中殺紋寧濃度 (μg/g)。

檢體中殺紋寧濃度 (μg/g) = C × V ÷ W

C：由基質匹配檢量線求得之濃度 (μg/mL)

V：檢液定容之體積 (mL)

W：檢體重量 (g)

表二、殺紋寧多重反應偵測之條件

Table 2. MRM parameters used in the analysis of hymexazol

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Collision energy (V)	Declustering Potential (V)	Entrance Potential (V)	Collision cell exit Potential (V)	Scan mode
Hymexazol	100.1	54.1	20	68	8	12	Positive
		28.1	26				

表三、質譜分析之相對離子強度最大可容許範圍

**Table 3.** Recommended maximum tolerances for ion ratios detected using LC/MS/MS

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

<sup>1)</sup> Maximum acceptable tolerance ranges are in accordance with EU regulations defined in SANTE/12682/2019

### 十一、添加回收試驗

秤取青蔥、青江菜及萵苣均質樣品 10 g，加入殺紋寧標準溶液，使其濃度為 0.02、0.05 及 0.1 µg /g，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，以檢液所測得殺紋寧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<sup>(4)</sup>。

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

秤取均質後之青蔥、青江菜及萵苣檢體 10 g，加入適量殺紋寧標準溶液，依所建立之檢驗方法步驟求得。測定離子訊號與雜訊之比值 (signal-to-noise ratio, S/N ratio) 大於 10，定性離子大於 3，作為方法定量極限之測定<sup>(4)</sup>。

### 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. 純溶劑標準劑檢量線 (standard calibration curve, SCC)：標準品溶於乙腈溶劑，配製濃度為 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 µg/mL。
2. 基質匹配標準劑檢量線 (matrix calibration curve, MCC)：各別取空白青蔥、青江菜及萵苣檢體最終萃取液添加標準溶液使其最終濃度為 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 µg/mL。
3. 基質效應計算公式如下：

$$\text{基質效應} = (\text{MCC 之斜率} - \text{SCC 之斜率}) / \text{SCC 之斜率} \times 100\%$$

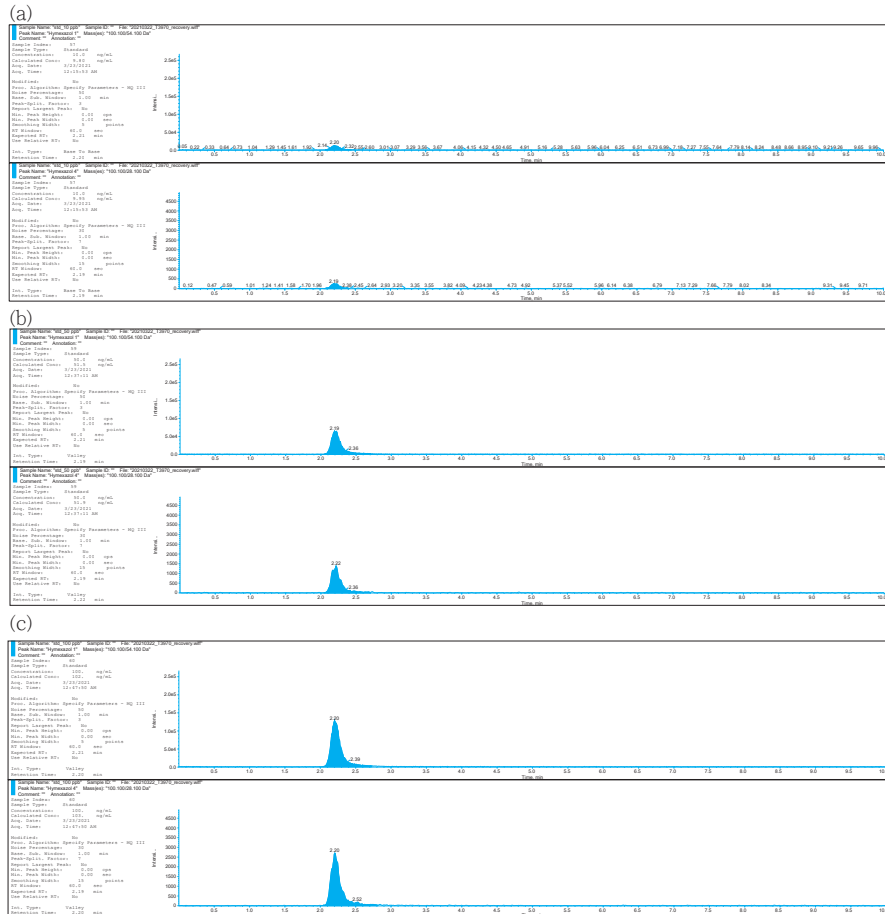
## 結果與討論

### 一、質譜儀之最適分析條件

運用動態多重反應監測 (dynamic multiple reaction monitoring, DMRM) 功能及 Infusion Compound Optimization 程式自動優化找出最佳條件。以電灑游離法作為離子源，並以 MRM 模式檢測小葉菜類中殺紋寧。霧化氣體及進樣氣體皆為氮氣，離子噴霧電壓 (ionspray voltage) 為 5,500V，離子源溫度 (source temperature) 550°C，氣簾氣體 (curtain gas) 35psi，碰撞氣體 (collision gas) high 模式，離子源氣體 1 (ion source gas 1) 55psi，離子源氣

體 2 (ion source gas 2) 45psi，選定之最佳碰撞能量分別為 20V (m/z 54.1) 及 26V (m/z 28.1)。母離子於碰撞室 (collision cell) 以氦氣碰撞，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，本研究殺紋寧之母離子為 m/z 100.1，子

離子選定 m/z 54.1，及 m/z 28.1，其中 m/z 54.1 離子訊號較強作為定量，因此，本研究質譜鑑定參數選擇 100.1>54.1 為定量離子對，100.1>28.1 為定性離子對。其相對離子強度介於 92.8-95.7% 及 8.5-61.6% 之間。殺紋寧純溶劑標準劑之質譜圖，如圖二。



圖二、殺紋寧純溶劑標準劑 (a) 0.01 µg/mL (b) 0.05 µg/mL (c) 0.1 µg/mL 之質譜圖。

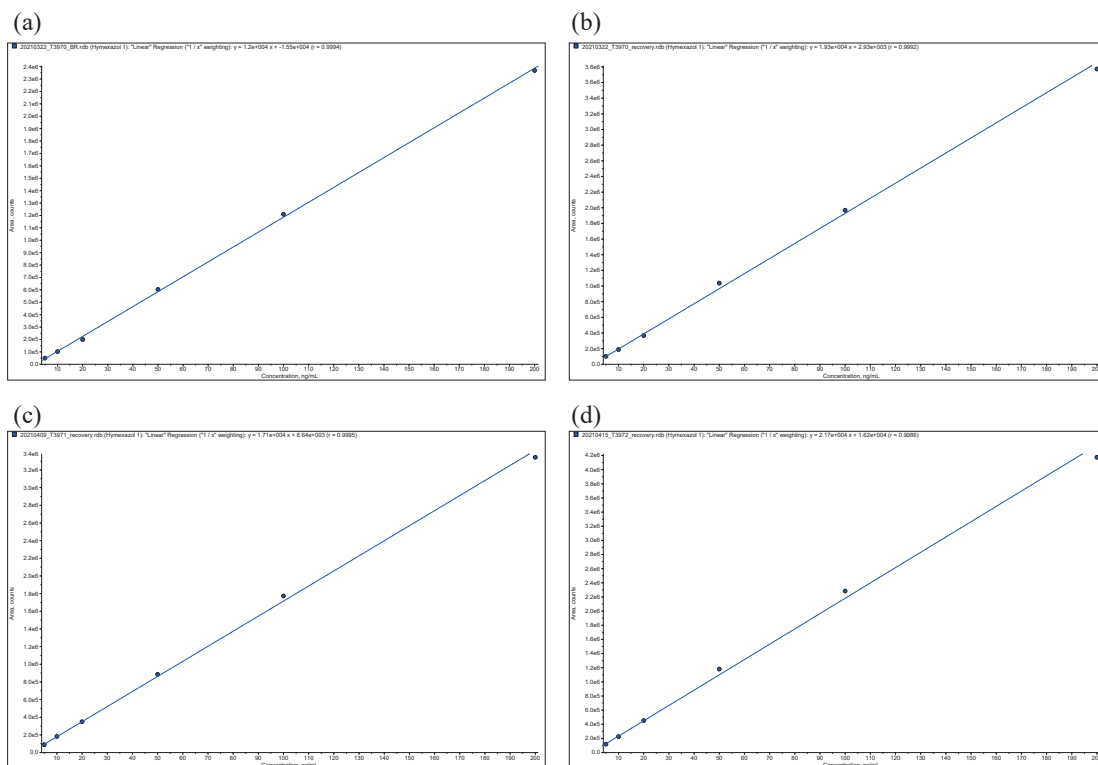
Fig. 2. Representative mass chromatograms of (a) 0.01 µg/mL, (b) 0.05 µg/mL and (c) 0.1 µg/mL hymexazol.

## 二、液相層析條件

採用層析管柱 ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)。移動相採用二相混合分析，移動相 A 液為 0.2% 甲酸水溶液，及 B 液為乙腈，其層析沖提比例為 40% : 60%，層析管柱溫度：30°C。流速：0.15 mL/min。注入量：5 μL。分析時間：10 分鐘。殺紋寧批次分析滯留時間分別介於 2.03-2.23 分鐘之間。

## 三、標準檢量線與基質效應

標準儲備溶液 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。為評估三種基質干擾物各別對分析物於質譜儀離子化之影響情形，分別製備純溶劑標準劑檢量線 (standard calibration curve, SCC)，及基質匹配標準劑檢量線 (matrix calibration curve, MCC)，如圖三，並比較



圖三、(a) 純溶劑標準劑檢量線與 (b) 基質 (青蔥) 匹配標準劑檢量線 (c) 基質 (青江菜) 匹配標準劑檢量線 (d) 基質 (萵苣) 匹配標準劑檢量線。

**Fig. 3.** Calibration curves of hymexazol in (a) solvent, (b) matrix of spring onion, (c) matrix of bok choy, and (d) matrix of lettuce.

其斜率。測得殺紋寧 SCC 檢量式為  $y = 1.2e+004x - 1.55e+004$ ，MCC 檢量式分別為青蔥  $y = 1.93e+004x + 2.93e+003$ 、青江菜  $y = 1.71e+004x + 8.64e+003$  及萵苣  $y = 2.17e+004x + 1.62e+004$ ，利用【基質效應 = (MCC 之斜率 - SCC 之斜率) / SCC 之斜率 × 100%】計算公式，求得基質效應分別為 60.8%、42.5% 及 97.0%，結果顯示皆為基質增強效應<sup>(4)</sup>。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。

#### 四、添加回收試驗

分別於小葉菜類基質檢體中加入殺紋寧標準溶液，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 (表四) 範圍分別為

青蔥 77.5-83.7%、青江菜 112.8-116.8% 及萵苣 110.3-117.4% 之間，相對標準偏差分別介於 3.5-4.7%、0.7-3.3% 及 1.7-2.3%。方法之溶劑空白分析 (BK)，及基質空白分析 (CK) 於殺紋寧滯留時間窗內未檢出殘留，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 與對照標準溶液之 LC/MS/MS 比較圖譜 (圖四~圖六)。

#### 五、定量極限

本檢驗方法分析殺紋寧之定量極限可至 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 57.1-67.1。

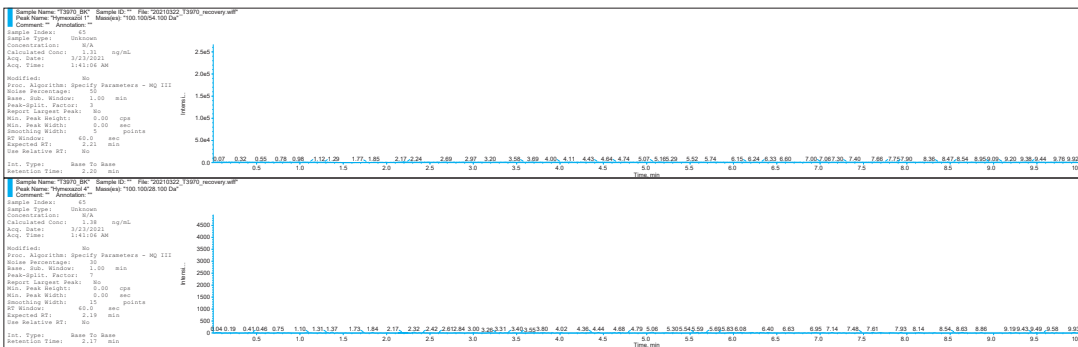
表四、殺紋寧添加回收試驗結果

Table 4. Results of hymexazol recovery tests

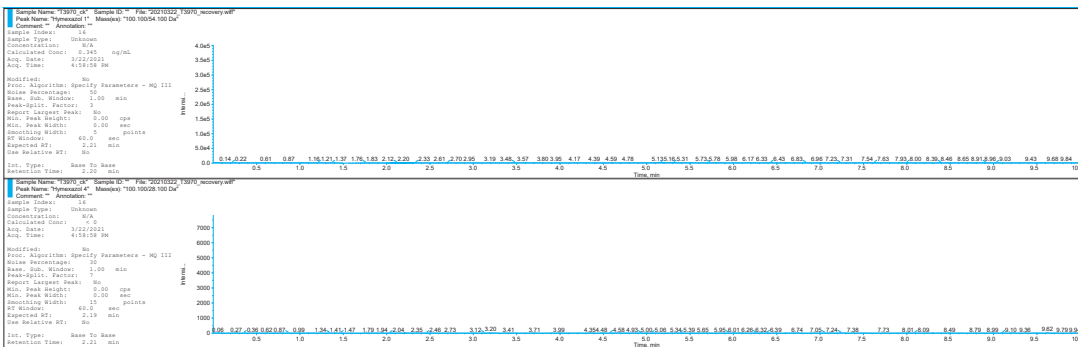
Matrix sample	Concentration of hymexazol <sup>1)</sup> (µg/g)	Recovery rate range (%)	Average recovery rate (%)	Relative standard deviation (%)	Number of repetitions
Spring onion	0.02	80.0 - 90.0	83.7	4.7	5
	0.05	80.4 - 88.2	83.3	3.5	5
	0.1	73.6 - 81.3	77.5	4.1	5
Bok choy	0.02	115.5 - 117.5	116.8	0.7	5
	0.05	115.6 - 118.8	116.4	1.1	5
	0.1	107.0 - 116.0	112.8	3.3	5
Lettuce	0.02	107.5 - 113.5	110.3	2.3	5
	0.05	114.8 - 120.2	117.4	1.9	5
	0.1	110.0 - 115.0	111.8	1.7	5

<sup>1)</sup> The concentration of hymexazol that was added to each sample.

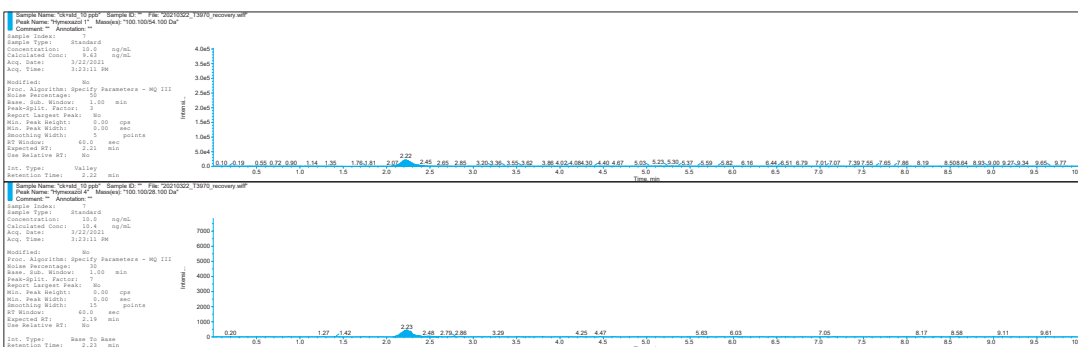
(a)



(b)



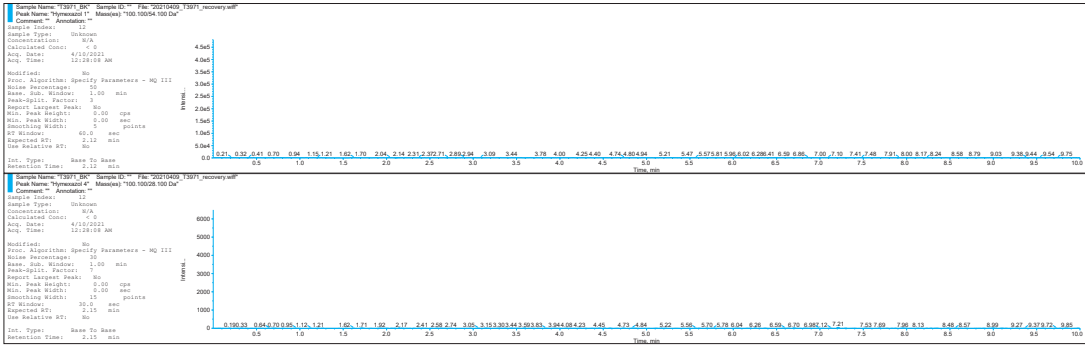
(c)



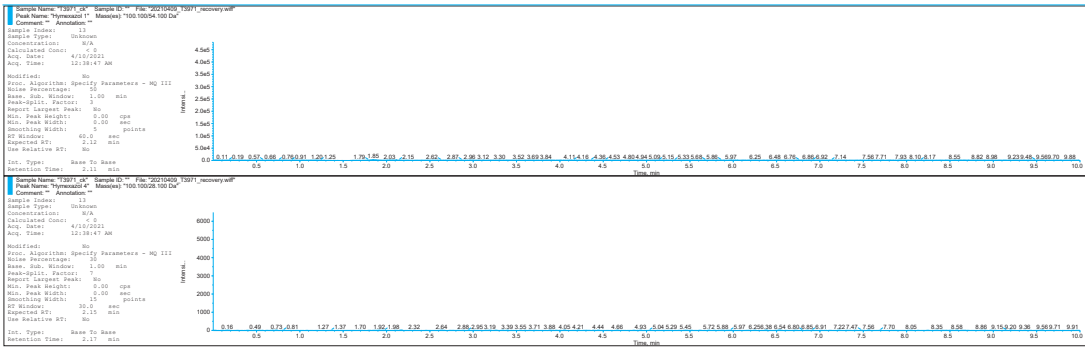
圖四、(a) 空白試劑、(b) 空白基質(青蔥)、(c) 殺紋寧標準基質匹配 0.01 µg/mL (青蔥) 之 LC/MS/MS 分析圖譜。

Fig. 4. Representative mass chromatograms of (a) reagent blank, (b) matrix blank of spring onion, and (c) matrix spiked with 0.01 µg/mL hymexazol.

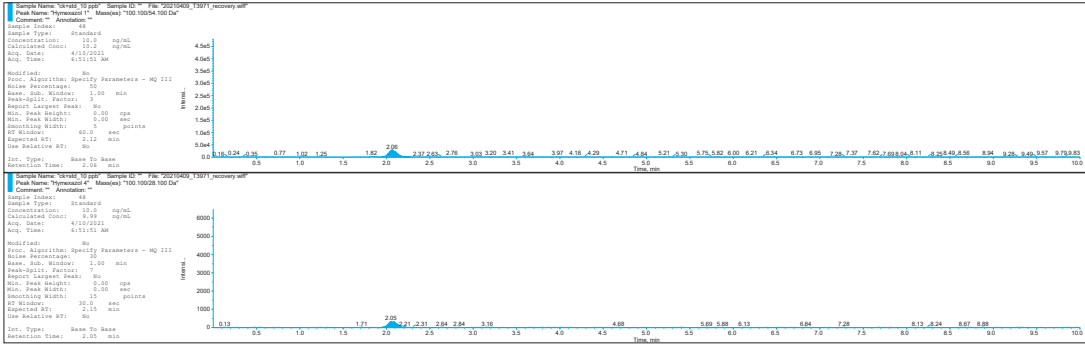
(a)



(b)



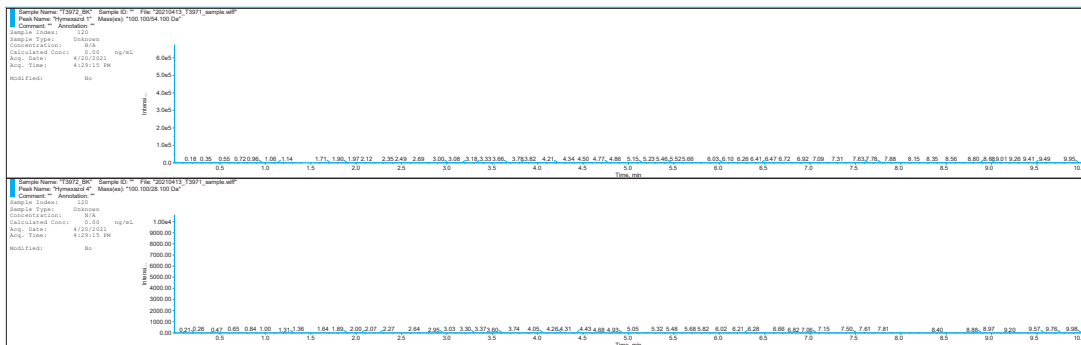
(c)



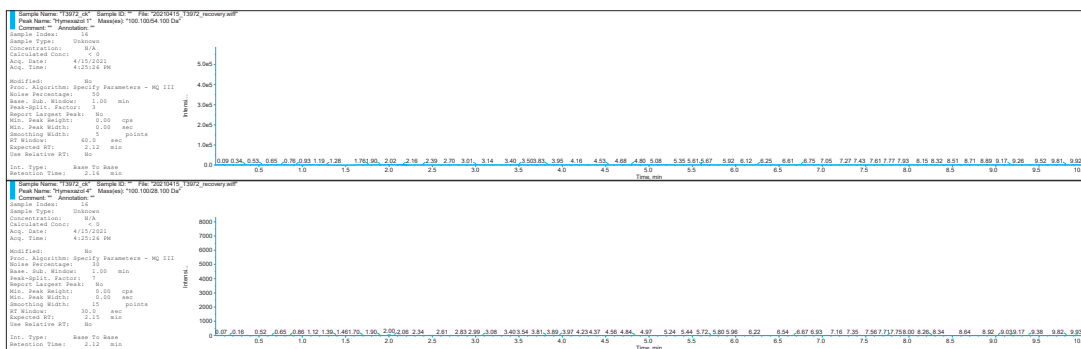
圖五、(a) 空白試劑、(b) 空白基質(青江菜)、(c) 殺紋寧標準基質匹配 0.01 µg/mL (青江菜) 之 LC/MS/MS 分析圖譜。

Fig. 5. Representative mass chromatograms of (a) reagent blank, (b) matrix blank of bok choy, and (c) matrix spiked with 0.01 µg/mL hymexazol.

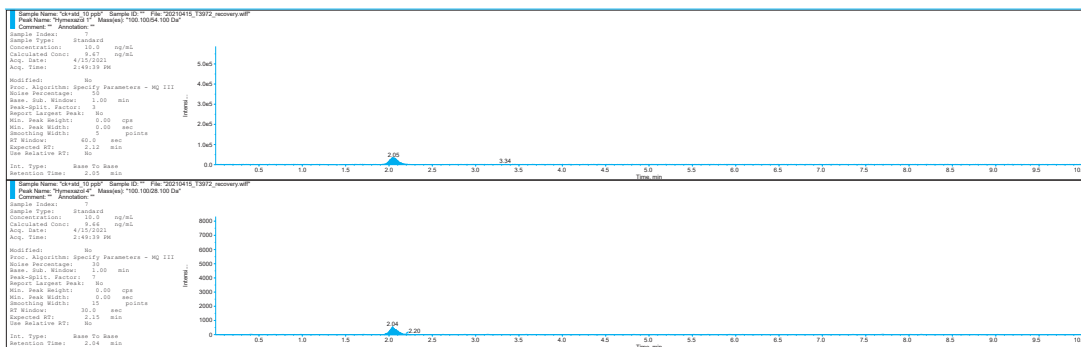
(a)



(b)



(c)



圖六、(a) 空白試劑、(b) 空白基質 (萵苣)、(c) 殺紋寧標準基質匹配 0.01 µg/mL (萵苣) 之 LC/MS/MS 分析圖譜。

Fig. 6. Representative mass chromatograms of (a) reagent blank, (b) matrix blank of lettuce, and (c) matrix spiked with 0.01 µg/mL hymexazol.

## 結論

以乙腈溶液萃取小葉菜類三種基質中殺紋寧，利用液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 進行定性定量測定。殺紋寧基質匹配之檢量線性相關係數皆大於 0.995，基質效應分別為 60.8%、42.5% 及 97.0%，顯示為基質增強效應；定量極限為 0.01 µg/g；添加平均回收率分別為青蔥 77.5-83.7%、青江菜 112.8-116.8% 及萵苣 110.3-117.4%，及相對標準偏差分別為 3.5-4.7%、0.7-3.3% 及 1.7-2.3%。本研究於方法開發途中測試過以多重殘留分析方法 (五) 的分析條件檢測小葉菜類中殺紋寧之添加回收率，測試結果顯示回收率不佳 (約 46% 以下)，故須另外開發適用之分析方法。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，可應用於小葉菜類中殺紋寧之殘留量監測。

## 謝辭

本研究承蒙農業藥物試驗所殘留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. 李輝、江澤軍、曹維強、楊麗華、邵華、金芬、余永新、金茂俊、王珊珊、鄭鸞飛、王靜等。2016。3 種方法測定植物源性農產品中啞霉靈殘留量。分析測試學報 35：1434-1439。
2. 許如君。2023。農用藥劑分類及作用機制檢索。4 版。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。臺北。127 頁。
3. 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. European committee for standardization. DIN EN15662:2009-02.
4. European Committee Directorate General for Health and Food Safety. 2019. Guidance document on analysis quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANTE/12682.
5. The Japan Food Chemical Research Foundation. Maximum Residue Limits (MRLs) List of Agricultural Chemicals in Foods. Retrieved from [http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide\\_detail?id=53800](http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=53800) (Sep. 15, 2023)
6. European Commission. Pesticide residue(s) and maximum residue levels (mg/kg). Retrieved from [https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls/details?lg\\_code=EN&pest\\_res\\_id\\_list=324&product\\_id\\_list=](https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls/details?lg_code=EN&pest_res_id_list=324&product_id_list=) (Sep. 15, 2023)
7. Turner, J. A. 2018. The pesticide manual: a world compendium, 18th ed. British Crop Protection Council, Hampshire, UK. 1385 pp..

# Establishment of an Analytical Method to Assess Hymexazol Residue in Leafy Vegetables by LC-MS/MS

Bao-Cheng Liao<sup>1</sup>, Chun-Wei Chiang<sup>2</sup>, Wei-Chih Liao<sup>1\*</sup>, Tsyng-Horng Shyu<sup>1</sup>

## Abstract

Liao, B. C., Chiang, C. W., Liao, W. C., and Shyu, T. H. 2024. Establishment of an analytical method to assess hymexazol residue in leafy vegetables by LC-MS/MS. *Taiwan Pestic. Sci.* 16: 19-32.

In this study, we established an analytical method for the residue analysis of hymexazol, a fungicide that is characterized by isoxazole compounds. In validating our method, hymexazol residues were extracted from spring onion, bok choy and lettuce matrices using acetonitrile. Chromatographic separation was then performed using an ACQUITY UPLC HSS T3 column at 30°C. The mobile phase comprised 0.2% formic acid aqueous solution and acetonitrile at a constant flow rate of 0.15 mL/min. Quantification was performed by reversed phase HPLC with electrospray MS/MS-detection. We found that, at fortification levels of 0.02, 0.05 and 0.1 µg/g hymexazol, the average recovery rate of spring onion ranged from 77.5 to 83.7%, and the relative standard deviation ranged from 3.5 to 4.7%. The average recovery rate of boy choy ranged from 112.8 to 116.8%, and the relative standard deviation ranged from 0.7 to 3.3%. The average recovery rate of lettuce ranged from 110.3 to 117.4%, and the relative standard deviation ranged from 1.7 to 2.3%. The limit of quantification (LOQ) was determined to be 0.01 µg/g. Results of this study indicate that our proposed analytical method can easily detect low levels of hymexazol with good precision and sensitivity. Our method can be applied in regulatory and monitoring applications of hymexazol in leafy vegetables.

**Key words:** LC-MS/MS, hymexazol, leafy vegetables, precision

---

Accepted: January 24, 2024.

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

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

<sup>2</sup> Tea and Beverage Research Station, Ministry of Agriculture, Taoyuan