

食品中殘留農藥檢驗方法—殺蟲劑因滅汀之檢驗

Method of Test for Pesticide Residues in Foods-

Test of Emamectin Benzoate, an Insecticide

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於包葉菜、小葉菜類及果菜類作物中因滅汀 (emamectin benzoate; (10*E*,14*E*,16*E*,22*Z*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*S*,6'*R*,8*R*,12*S*,13*S*,20*R*,21*R*,24*S*)-6'-[(*S*)-*sec*-butyl]-21,24-dihydroxy-5',11,13,22-tetramethyl-2-oxo-3,7,19-trioxatetracyclo[15.6.1.1^{4,8}.0^{20,24}]pentacos-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-2'-(5',6'-dihydro-2'*H*-pyran)-12-yl 2,6-dideoxy-3-*O*-methyl-4-*O*-(2,4,6-trideoxy-3-*O*-methyl-4-methyl amino- α -*L*-*lyxo*-hexopyranosyl)- α -*L*-arabino-hexopyranoside)之檢驗。

2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)

2.1. 裝置：

2.1.1. 高效液相層析儀：

2.1.1.1. 檢出器：具有激發波長 360 nm，發射波長 460 nm 之螢光檢出器 (fluorescence detector)。

2.1.1.2. 層析管：Thermo Hypersil BDS C8，5 μ m，內徑 2.1 mm \times 15 cm，或同級品。

2.1.2. 攪拌均質器(Blender)。

2.1.3. 振盪器(Shaker)。

2.1.4. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。

2.1.5. 水浴槽。

2.2. 試藥：甲醇、甲苯、乙腈、乙酸乙酯、丙酮均採用液相層析級；三乙胺 (triethylamine)、三氟醋酸酐(trifluoroacetic anhydride)、無水乙醇、氯化鈉及無水硫酸鈉均採用化學試藥特級；因滅汀對照用標準品。

2.3. 器具及材料：

2.3.1. 抽氣瓶：500 mL。

2.3.2. 布赫納漏斗(Buchner funnel)：直徑 11 cm。

2.3.3. 分液漏斗：125 mL。

2.3.4. 濃縮瓶：250 mL、300 mL。

2.3.5. 試管：15 mL，附蓋。

2.3.6. 固相萃取匣(Solid phase extraction cartridge)：Bond Elut, Amino, 500 mg, 3 mL，或同級品。

2.3.7. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，Nylon 材質。

2.4. 移動相溶液之調製：

甲醇與水以 90：10 (v/v) 比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.5. 0.5 M 三乙胺溶液之調製：

稱取三乙胺 0.51 g，以甲苯溶解使成 10 mL。

2.6. 衍生化標準溶液之配製：

2.6.1. 標準溶液之配製：

取因滅汀對照用標準品約 10 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至 100 mL，作為標準原液。使用時再以乙腈稀釋至 0.1~1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作標準溶液。

2.6.2. 衍生化反應：

取 2.6.1 節標準溶液各 1 mL，以氮氣吹乾，加入 0.5 M 三乙胺溶液 1 mL，再加入三氟醋酸酐 0.1 mL，混合均勻後，於 40°C 水浴中反應 30 分鐘。再加入 0.5 M 三乙胺溶液 0.05 mL，混合均勻，以氮氣吹乾至 0.1 mL，殘留物以甲醇溶解並定容至 1 mL，供作衍生化標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 萃取：

取切碎後之檢體約 15 g，精確稱定，置於攪拌均質器中，加入甲醇：丙酮(1:1, v/v)溶液 100 mL，高速攪拌 1 分鐘，倒入附有濾紙之布赫納漏斗內，抽氣過濾入抽氣瓶，以甲醇：丙酮(1:1, v/v)溶液 20 mL 洗容器及殘渣，合併濾液，移入濃縮瓶中，於 40°C 以下水浴減壓濃縮至無有機溶媒。加入 20% 氯化鈉溶液 20 mL 於濃縮瓶中，振盪後倒入分液漏斗，再每次以乙酸乙酯 50 mL 萃取 2 次，每次振盪 1 分鐘，收集乙酸乙酯層。以無水硫酸鈉脫水，於 40°C 以下水浴減壓濃縮至乾，以無水

乙醇 10 mL 溶解，供淨化用。

2.7.2. 淨化：

取 2.7.1 節供淨化用之溶液，注入預經甲醇 5 mL 潤洗之固相萃取匣，收集流出液於試管中，以氮氣吹乾，供衍生化反應用。

2.7.3. 衍生化反應：

取 2.7.2 節供衍生化反應用之試管，加入 0.5 M 三乙胺溶液 1 mL，再加入三氟醋酸酐 0.1 mL，混合均勻，以下依 2.6.2 節進行衍生化反應，再以甲醇定容至 1 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及衍生化標準溶液各 50 μ L，分別注入高效液相層析儀中，參照下列條件進行液相層析，就檢液與衍生化標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中因滅汀之含量(ppm)：

$$\text{檢體中因滅汀之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中因滅汀之濃度(μ g/mL)

V：檢體經衍生化後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件：

層析管柱：Thermo Hypersil BDS C8，5 μ m，內徑 2.1 mm \times 15 cm

螢光檢出器：激發波長 360 nm，發射波長 460 nm

移動相溶液：依 2.4 節所調製之溶液

移動相流速：0.6 mL/min

附註：1. 本檢驗方法之檢出限量為 0.01 ppm。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

3. 以本方法檢出農藥時，應以衍生化反應前之檢液利用 LC/MS 等進行確認。