

食品中殘留農藥檢驗方法—殺蟲劑可尼丁及其代謝物之檢驗

Method of Test for Pesticide Residues in Food-

Test of Clothianidin and its Metabolites, an Insecticide

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於瓜果類及米類中可尼丁(clothianidin; (E)-1-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-3-methyl-2-nitroguanidine)及其代謝物 *N*-methyl-*N'*-nitroguanidine (MNG)、*N*-(2-chlorothiazol-5-ylmethyl)-*N'*-methylurea (TZMU)、*N*-(2-chlorothiazol-5-ylmethyl)-*N'*-nitroguanidine (TZNG)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：具有波長 265 nm 及 254 nm 之紫外光檢出器。
 - 2.1.1.2. 層析管：Zorbax SB-Aq, 3.5 μm, 內徑 2.1 mm × 150 mm 或同級品。
 - 2.1.2. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.3. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.1.4. 粉碎機(Miller)。
 - 2.1.5. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.6. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.1.7. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.1.8. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2. 試藥：甲醇、正己烷、乙腈、乙酸乙酯及冰醋酸均採用殘量級；氫氧化鈉、1-辛烷磺酸鈉(1-octanesulfonic acid, sodium salt)、氯化鈉及無水硫酸鈉均採用試藥特級；可尼丁及其代謝物(MNG、TZNG、TZMU)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 11cm。
 - 2.3.3. 分液漏斗：125 mL。
 - 2.3.4. 濃縮瓶：50 mL 及 250 mL。

2.3.5. 固相萃取匣：ENVI-Carb, 3 mL, 250 mg 或同級品。

2.3.6. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，Nylon 材質。

2.4. 移動相溶液之調製：

2.4.1. 移動相溶液 A：去離子水以濾膜過濾，供作移動相溶液 A。

2.4.2. 移動相溶液 B：甲醇。

2.4.3. 移動相溶液 C：

稱取 1-辛烷磺酸鈉 1.08 g，以去離子水溶解使成 1000 mL，以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液 C。

2.5. 標準溶液之配製：

取可尼丁及代謝物對照用標準品各約 10 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至 100 mL，作為標準原液。使用時取適量各標準原液混合後，以乙腈稀釋至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，作為混合標準原液，再以 1% 醋酸溶液稀釋至 0.01 ~ 4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作混合標準溶液，臨用時調製。

2.6. 檢液之調製：

2.6.1. 萃取：

將檢體細切，以攪拌均質器均質後，取約 20 g，精確稱定，置於均質機中(米類則取磨成粉末之檢體約 5 g，精確稱定，置於均質機中，加水 10 mL，靜置 30 分鐘)，加入甲醇 100 mL (米類則加入 50 mL)，攪拌均質 1 分鐘，倒入附有濾紙之布赫納漏斗內，抽氣過濾入抽氣瓶中，以甲醇 20 mL 洗滌容器及殘渣，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，以水定容至 25 mL (a)。取 10 mL (米類則取 25 mL) (b) 置於分液漏斗內，加入正己烷 50 mL，振盪 1 分鐘，靜置分層，收集水層，供淨化用。

2.6.2. 淨化：

取 2.6.1. 節供淨化用之溶液，注入預先經甲醇 5 mL 及水 5 mL 潤洗之 ENVI-Carb 固相萃取匣，依序以水 2 mL 及乙腈：水(1:99, v/v) 溶液 3 mL 沖洗，棄流出液。固相萃取匣以真空抽乾後，以乙腈：水(7:3, v/v) 溶液 5 mL 沖提，收集沖提液於 10 mL 試管中。以氮氣吹至無有機溶媒，加入 0.1 N 氫氧化鈉溶液 1 mL，再以乙酸乙酯萃取二次，每次 5 mL，旋

渦混合1分鐘，靜置分層，收集有機溶媒層至20 mL試管中，以氮氣吹乾，再以1%醋酸溶液溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.7. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各20 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可尼丁及代謝物(MNG、TZMU、TZNG)之含量(ppm)：

$$\text{檢體(瓜果類)中可尼丁及代謝物之含量(ppm)} = \frac{C \times V \times F}{M}$$

$$\text{檢體(米類)中可尼丁及代謝物之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中可尼丁及代謝物之濃度(μ g/mL)

V：檢體最後經定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：a/b (見 2.6.1 節)

高效液相層析測定條件：

紫外光檢出器：波長 265 nm (0~12 分鐘)及 254 nm (12~30 分鐘)

層析管：Zorbax SB-Aq

移動相溶液：依 2.4 節所調製之溶液，線性梯度條件：

時間(min)	A (%)	B (%)	C (%)
0	20	0	80
20	40	60	0
30	40	60	0

移動相流速：0.3 mL/min

附註：1. 本檢驗方法之檢出限量可尼丁為 0.003 ppm，其代謝物皆為 0.02 ppm。

2. 食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。

3. 以本檢驗方法檢出時，應利用 LC/MS/MS 確認。