

中藥材農藥殘留檢驗方法草案

Method of Test for Pesticide Residues in Chinese Medicine Raw Materials— Multiresidue Analysis Draft

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於中藥材中 46 項農藥多重殘留分析。
 - 1.1 殘留農藥檢測限量及實測農藥殘留量均以檢體重量為計算基準；殘留農藥之檢驗包括農藥本身及其代謝產品在內。
2. 檢驗方法：檢體採用 QuEChERS 方法(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) 前處理後，以液相層析串聯質譜儀 (liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS) 及氣相層析串聯質譜儀(gas chromatograph/tandem mass spectrometer, GC-MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Poroshell 120 EC-C18，2.7 μm ，內徑 3.0 mm \times 150 mm，或同級品。
 - 2.1.1.3. 保護管：Poroshell 120 EC-C18，2.7 μm ，內徑 3.0 mm \times 5 mm，或同級品。
 - 2.1.2. 氣相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.2.1. 離子源：電子游離(electron ionization, EI)。
 - 2.1.2.2. 層析管：DB-5MS UI 毛細管，內膜厚度 0.25 μm ，內徑 0.25 mm \times 30 m，或同級品。
 - 2.1.3. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.4. 粉碎機(Grinder)。
 - 2.1.5. 高速分散裝置(High speed dispersing device)：SPEX SamplePrep 2010 GenoGrinder[®]，1000 rpm 以上，或其他具振盪功能之裝置。

- 2.1.6. 離心機(Centrifuge)：可達 $3000 \times g$ 以上，控制溫度可達 15°C 以下者。
- 2.1.7. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。
- 2.1.8. 試管震盪器(Vortex-Mixer)。
- 2.2. 試藥：無水乙酸、甲酸及乙酸銨均採試藥特級；正己烷及丙酮均採用殘留量級；乙腈及甲醇均採液相層析級。無水乙酸鈉、無水硫酸鎂、primary secondary amine (PSA)、octadecylsilane, end-capped (C18 EC)及 graphitized carbon black (GCB)均採用分析級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 以上)；農藥對照用標準品亞滅培等 46 項(品項見附表一、附表二及附表三)；磷酸三苯酯(triphenylphosphate, TPP)內部標準品。
- 2.3. 器具及材料：
- 2.3.1. 離心管：15 mL 及 50 mL，PP 材質。
- 2.3.2. 濾膜：孔徑 $0.2 \mu\text{m}$ ，PTFE 材質。
- 2.3.3. 容量瓶：25 mL 及 50 mL，褐色。
- 2.3.4. 陶瓷均質石(Ceramic homogenizer)^(註 1)：採用 Bond Elut QuEChERS P/N 5982-9313，或同級品。
- 2.3.5. 萃取用粉劑^(註 2)：含無水硫酸鎂 4 g 及乙酸鈉 1 g。
- 2.3.6. 淨化用離心管^(註 2)：含 PSA 450 mg、無水硫酸鎂 900 mg、C18EC 300 mg 及 GCB 50 mg，檢液負荷量 6 mL。
- 2.3.7. 樣品瓶：1.8 mL，玻璃材質，夾蓋或螺旋蓋；10 mL，玻璃材質，附螺旋蓋。
- 註 1：陶瓷均質石可視檢體黏稠度自行評估使用。
- 註 2：可依需求自行評估使用市售各種萃取及淨化用組合套組。
- 2.4. 試劑之調製：
- 2.4.1. 含 1% 乙酸之乙腈溶液：
- 取無水乙酸 10 mL 與乙腈 990 mL，混合均勻。

2.4.2. 含 5% 甲酸之乙腈溶液：

取甲酸 5 mL 與乙腈 95 mL，混合均勻。

2.4.3. 丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液：

取丙酮與正己烷以 1：1 (v/v)比例混勻。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 移動相溶液 A：

取乙酸銨 0.39 g，以去離子水溶解使成 1000 mL，加入甲酸 1 mL，混合均勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。

2.5.2. 移動相溶液 B：

取乙酸銨 0.39 g，以甲醇溶解使成 1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。

2.6. 內部標準溶液之配製：

取磷酸三苯酯內部標準品約 50 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至 50 mL，作為內部標準原液，於-18°C避光貯存備用。

2.6.1. 取適量內部標準原液以甲醇稀釋至 50 µg/mL，供作 2.8.節檢液調製用之內部標準溶液。

2.6.2. 取適量內部標準原液以甲醇稀釋至 5 µg/mL，供作 2.9.1.節 LC-MS/MS 分析用之內部標準溶液。

2.6.3. 取適量內部標準原液以丙酮稀釋至 5 µg/mL，供作 2.9.2.節 GC-MS/MS 分析用之內部標準溶液。

2.7. 標準溶液之配製：

2.7.1. 取農藥對照用標準品各約 25 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至 25 mL，作為標準原液，於-18°C避光貯存備用。臨用時取適量標準原液以甲醇稀釋至 1 µg/mL，供作 2.9.1.節 LC-MS/MS 分析用標準溶液。

2.7.2. 取農藥對照用標準品各約 25 mg，精確稱定，以丙酮或正己烷溶解並定容至 25 mL，作為標準原液，於-18°C避光貯存備用。臨用時

取適量標準原液以丙酮：正己烷(1:1, v/v)稀釋至 1 µg/mL，供作 2.9.2.節 GC-MS/MS 分析用標準溶液。

2.8. 檢液之調製：

取磨粉後之檢體約 2 g，精確稱定，置於 50 mL 離心管中，加入冷藏預冷之去離子水 10 mL，靜置 20 分鐘，加入含 1% 乙酸之乙腈溶液 10 mL 及 50 µg/mL 內部標準溶液 10 µL，再依序加入陶瓷均質石 1 顆及萃取用粉劑，蓋上離心管蓋，隨即激烈振盪數次，防止鹽類結塊，再以高速分散裝置於 1000 rpm 振盪或以手激烈振盪 1 分鐘後，於 15°C，3000 ×g 離心 1 分鐘。取上清液 6 mL，置於淨化用離心管，以高速分散裝置以 1000 rpm 振盪或以手激烈振盪 1 分鐘後，於 15°C，3000 ×g 離心 2 分鐘。取上清液 1 mL，以氮氣吹至剛乾，殘留物以甲醇 1 mL 溶解，混合均勻，以濾膜過濾後，供作檢液 I，以 LC-MS/MS 分析。另取上清液 1 mL，以氮氣吹至剛乾，殘留物以適量丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液 1 mL 溶解，混合均勻，以濾膜過濾後，供作檢液 II，以 GC-MS/MS 分析。

2.9. 基質匹配檢量線製作：

2.9.1. LC-MS/MS：

取空白檢體，依 2.8 節調製未添加內部標準品之淨化後上清液，分別量取 1 mL，以氮氣吹至剛乾，分別加入 1 µg/mL 標準溶液 2~200 µL、5 µg/mL 內部標準溶液 10 µL 及甲醇，使體積為 1 mL，混合均勻，供作基質匹配檢量線溶液 I，依下列條件進行分析。就各農藥與內部標準品波峰面積比，與對應之各農藥濃度，製作 0.002~0.2 µg/mL 之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註3)：

層析管溫度：40°C。

移動相溶液：A 液與 B 液以下列條件進行梯度分析。

時間(min)	A(%)	B(%)
0.0 → 5.0	98 → 60	2 → 40
5.0 → 20.0	60 → 0	40 → 100
20.0 → 25.0	0 → 0	100 → 100

移動相流速：0.4 mL/min。

注入量：5 μ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：

電灑離子化正離子(ESI⁺)採用 4 kV，

電灑離子化負離子(ESI⁻)採用 4 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：280°C。

霧化氣體溫度(Nebulizer gas temperature)：350°C。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如附表一及附表二。

2.9.2. GC-MS/MS：

取空白檢體，依 2.8.節調製未添加內部標準品之淨化後上清液，分別量取 1 mL，以氮氣吹至剛乾，分別加入 1 μ g/mL 標準溶液 2~200 μ L、5 μ g/mL 內部標準溶液 10 μ L 及丙酮：正己烷(1:1, v/v)溶液使體積為 1 mL，混合均勻，供作基質匹配檢量線溶液 II，依下列條件進行分析。就各農藥與內部標準品波峰面積比，與對應之各農藥濃度，製作 0.002~0.2 μ g/mL 之基質匹配檢量線。

氣相層析串聯質譜分析測定條件^(註3)：

層析管溫度：初溫：60°C，維持1分鐘。

溫度上升速率1：以40°C/min升至170°C。

溫度上升速率2：再以10°C/min升至310°C。

終溫：最終以310°C，維持1.75分鐘。

移動相流速：氮氣，1 mL/min。

注入器溫度 (Injector temperature) : 280°C。

注入量 : 1 µL。

注入模式 (Inject mode) : 不分流 (splitless)。

離子化模式 : 電子游離 (EI), 70 eV。

離子源溫度 : 300°C。

偵測模式 : 多重反應偵測。偵測離子對及碰撞能量如附表三。

註 3 : 上述測定條件分析不適時, 可依所使用之儀器, 設定適合之測定條件。

2.10. 鑑別試驗及含量測定 :

於自動注入器分別取檢液及標準溶液注入液相及氣相層析質譜儀中, 參照 2.9 節儀器條件進行分析, 就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^(註 4)鑑別之。並依下列計算式求出檢體中各農藥之含量(µg/g, ppm) :

$$\text{檢體中各農藥之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C : 由各農藥之基質匹配檢量線求得檢液中各農藥之濃度(µg/mL)

V : 萃取檢體之含 1% 乙酸之乙腈溶液體積(10 mL)

M : 取樣分析檢體之重量(g)

註 4 : 相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相除而得 (≤100%), 容許範圍如下 :

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30

≤ 10

± 50

附註：

1. 本檢驗方法之定量極限如附表一、附表二及附表三。
2. 本檢驗方法所列品項可依需求評估以 GC-MS/MS 或 LC-MS/MS 分析。
3. 檢驗步驟中添加之磷酸三苯酯(triphenylphosphate, TPP)內部標準品，由於無法代表所有農藥的物化特性，故於計算各農藥濃度時不一定要納入計算式。建議可用於確認流程，作為品質管制參考。
4. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

附表一、亞滅培等 15 項農藥之多重反應偵測模式參數及定量極限(LC-MS/MS 正離子模式)

項次	分析物		定量離子對			定性離子對			定量極限 (ppm)
	英文名	中文名	前驅離子(<i>m/z</i>)> 產物離子(<i>m/z</i>)	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	前驅離子(<i>m/z</i>)> 產物離子(<i>m/z</i>)	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	
1	Acetamiprid	亞滅培	223 > 126	80	15	223 > 56	80	15	0.05
2	Azoxystrobin	亞托敏	404 > 372	60	5	404 > 344	60	15	0.05
3	Buprofezin	布芬淨	306 > 201	120	10	306 > 116	120	15	0.05
4	Carbendazim	貝芬替	192 > 160	80	15	192 > 132	80	20	0.05
5	Carbofuran	加保扶	222 > 165	120	10	222 > 123	120	20	0.05
6	3-keto Carbofuran	3-酮基加保扶	236 > 208	120	10	236 > 151	120	10	0.05
7	3-OH Carbofuran	3-羥基加保扶	238 > 181	80	10	238 > 163	80	15	0.05
8	Chlorantraniliprole	剋安勃	482 > 451	92	13	482 > 284	92	9	0.05
9	Dimethomorph	達滅芬	388 > 301	120	15	388 > 165	120	30	0.05
10	Flusilazole	護矽得	316 > 247	144	13	316 > 165	144	25	0.05
11	Hexaconazole	菲克利	314 > 159	120	21	314 > 70	120	17	0.05
12	Imidacloprid	益達胺	256 > 209	80	10	256 > 175	80	10	0.05
13	Propargite	毆蟎多	368 > 231	100	5	368 > 175	100	15	0.05
14	Pyraclostrobin	百克敏	388 > 194	120	10	388 > 163	120	20	0.05
15	Pyridaben	畢達本	365 > 309	120	10	365 > 147	120	15	0.05
I.S.	Triphenylphosphate	磷酸三苯酯	327 > 77	144	45	-	-	-	-

附表二、芬普尼等 2 項農藥之多重反應偵測模式參數及定量極限(LC-MS/MS 負離子模式)

項次	分析物		定量離子對			定性離子對			定量極限 (ppm)
	英文名	中文名	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	
1	Fipronil	芬普尼	435 > 330	92	13	435 > 250	92	29	0.05
2	Fipronil-sulfone	芬普尼代謝物	451 > 415	92	13	451 > 282	92	29	0.05

附表三、阿特靈等 29 項農藥之多重反應偵測模式參數及定量極限(GC-MS/MS)

項次	分析物		定量離子對		定性離子對		定量極限 (ppm)
	英文名	中文名	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	碰撞能量 (eV)	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	碰撞能量 (eV)	
1	Aldrin	阿特靈	263 > 193	35	263 > 191	35	0.02
2	α -BHC	α -蟲必死	181 > 145	15	217 > 181	5	0.05
3	β -BHC	β -蟲必死	181 > 145	15	217 > 181	5	0.05
4	γ -BHC (Lindane)	γ -蟲必死 (靈丹)	217 > 181	5	181 > 145	15	0.05
5	δ -BHC	δ -蟲必死	181 > 145	15	217 > 181	5	0.05
6	Chlorpyrifos	陶斯松	197 > 169	15	314 > 258	15	0.05
7	λ -Cyhalothrin	賽洛寧	208 > 181	10	197 > 141 181 > 152	10 25	0.05
8	Cypermethrin	賽滅寧	163 > 91	15	163 > 127	5	0.05
9	α -Cypermethrin	亞滅寧	163 > 91	15	163 > 127	5	0.05
10	o,p' -DDD(o,p' -TDE)	o,p' -滴滴滴	235 > 165	20	237 > 165	20	0.05
11	o,p' -DDE	o,p' -滴滴易	246 > 176	30	248 > 176	30	0.05
12	o,p' -DDT	o,p' -滴滴涕	235 > 165	20	237 > 165	20	0.05
13	p,p' -DDD(p,p' -TDE)	p,p' -滴滴滴	235 > 165	20	237 > 165	20	0.05
14	p,p' -DDE	p,p' -滴滴易	246 > 176	40	246 > 211	20	0.05
15	p,p' -DDT	p,p' -滴滴涕	235 > 165	20	237 > 165	20	0.05
16	Dieldrin	地特靈	263 > 193	35	263 > 191	35	0.02
17	Difenoconazole	待克利	323 > 265	15	325 > 267	15	0.05
18	Esfenvalerate	益化利	225 > 119	15	225 > 147	10	0.05

附表三、阿特靈等 29 項農藥之多重反應偵測模式參數及定量極限(GC/MS/MS)(續)

項次	分析物		定量離子對		定性離子對		定量極限 (ppm)
	英文名	中文名	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	碰撞能量 (eV)	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	碰撞能量 (eV)	
19	Fenpropathrin	芬普寧	181 > 152	25	208 > 181	5	0.05
20	Fenvalerate	芬化利	225 > 119	15	225 > 147	10	0.05
21	Iprodione	依普同	314 > 245	10	314 > 271 314 > 56	5 22	0.05
22	Methyl pentachlorophenyl sulfide	五氯苯基甲基硫化物	296 > 246	35	296 > 281	20	0.05
23	Paclobutrazol	巴克素	236 > 125	10	236 > 167	10	0.05
24	Pentachloroaniline	五氯苯胺	265 > 158	20	265 > 167	20	0.05
25	Permethrin	百滅寧	183 > 168	10	183 > 153	15	0.05
26	Procymidone	撲滅寧	283 > 96	15	96 > 53 96 > 67	15 10	0.05
27	Quintozene (PCNB)	五氯硝苯	249 > 214	12	295 > 237	20	0.05
28	Tebuconazole	得克利	250 > 125	20	125 > 89	15	0.05
29	Triazophos	三落松	161 > 134	5	161 > 91	15	0.05
I.S.	Triphenylphosphate	磷酸三苯酯	326 > 169	30	-	-	-