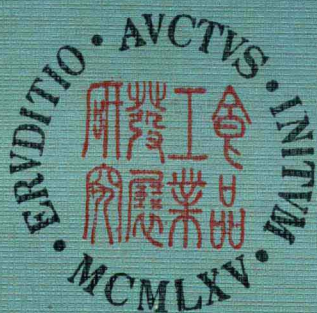


蔬果類殘留農藥之簡速檢驗法

傅 遠 鴻



食品工業發展研究所

研究報告第十九號 (食品化學之3)

中華民國六十年十月

蔬果類殘留農藥之簡速檢驗法

I、簡速檢驗法之改進研究

傅 遠 鴻

摘 要

以麻竹筍，花菜及四季豆為材料，試驗改進 lindane, aldrin, heptachlor, methyl parathion, ethyl parathion 及 DDT 等殘留農藥之簡速檢驗法，結果用薄層色折法可在兩小時內檢驗上述蔬菜中有無這些殘留農藥，其步驟如下：原料試樣 100 g 用 acetonitrile 200 ml 抽出後移溶於 n-hexane，濃縮後用 Florisil 管淨化，再濃縮後點於 Silica gel G 薄層片上，用 n-hexane 或 n-hexane: acetone 混合液展開，風乾後噴 BPB-AgNO₃ 溶液呈色。本法可檢出到 0.1 ~ 1.0 ppm 之上述農藥。

前 言

蔬菜水果中之殘留農藥問題，現已引起大眾的普遍重視。因此各國食品衛生當局紛紛開始檢驗食品原料及加工產品中之殘留農藥，而且有降低殘留農藥最高容許量之傾向，所以為食品加工廠尋找一種簡單迅速的檢驗方法，可以鑑別原料蔬果中有無殘留農藥，實有迫切之需要。關於農藥之檢驗方法，有濾紙色折法⁽¹⁾，氣液色折法⁽²⁾，⁽³⁾，及薄層色折法^{(4)~(6)}等。氣液色折法因所需設備昂貴而不適合，濾紙色折法因所需時間太長亦不適合。因此，決定採用薄層色折法，希望能在短時間（約兩小時）內能檢除含有殘留農藥之原料蔬菜水果，以提高蔬果加工產品之品質，並以保護食品加工業者。

蔬果類中殘留農藥之抽出，淨化有很多方法⁽³⁾，^{(7)~(9)}。經初步檢討後選取 Thornburg法⁽⁸⁾與 FDA 法⁽⁹⁾做比較試驗，以決定何法為優。並進一步研究可在兩小時內完成檢驗的簡速方法。至於薄層色折法因其靈敏度遠不如氣液色折法，所以必須找出一種靈敏度較高的呈色劑，使其檢出限度儘量提高以補救此缺點。因此，就 Walker 等⁽⁴⁾，Abott 等⁽⁵⁾及 Bunyan⁽⁶⁾所用的呈色劑做比較試驗，以決定採用何種呈色劑。至於供試農藥，則選定在本省最常用的 aldrin, lindane, heptachlor, DDT, methyl parathion 及 ethyl parathion 六種為主要供試農藥。

材料與方法

I 供試原料

1. 麻竹筍 2. 花菜 3. 四季豆

II 試藥

1. benzene : 西德 E. Merck 公司出品, G. R. 級。
2. acetonitrile : 日本和光純藥工業株式會社出品, 含量 90 % 以上。
3. ethylether : 西德 E. Merck 公司出品。
4. petroleum ether : 西德 E. Merck 公司出品。
5. n-hexane : 日本林純藥工業株式會社出品, 試藥一級。
6. chloroform : 西德 E. Merck 公司出品, G. R. 級。
7. methylene chloride : 日本林純藥工業株式會社出品, 試藥一級。
8. Florisil : 美國 Sigma 公司出品, 60-100 mesh. 在 650°C 加熱 1~3 小時活性化後貯存於玻璃乾燥器中, 須於二日內使用之, 否則, 須在 130°C 加熱 5 小時以上, 再活性化後始可使用。
9. Nucharattaclay : 美國 Varian aerograph 公司出品。
10. acetone : 西德 E. Merck 公司出品, G. R. 級。
11. Silica gel G : 西德 E. Merck 公司出品, 薄層色折專用品。
12. 無水硫酸鈉 : 西德 E. Merck 公司出品, E. P. 級。
13. Wet benzene : benzene 與蒸餾水在分液漏斗中振盪後, 取上層之 benzene 。
14. 溶出溶媒 : (I) 6 % ethyl ether in pet. ether
(II) 15 % ethyl ether in pet. ether
(III) n-hexane : methylene chloride : chloroform = 6 : 2 : 2 (V/V)
15. 色析展開溶媒 : (I) n-hexane
(II) n-hexane : acetone : 9 : 1 (V/V)
16. 呈色劑 : (I) (A) 0.1g bromphenol blue 溶於 100 ml acetone.
(B) 1 g Ag NO₃ 溶於 100 ml acetone-H₂O (1 : 3) 溶液。
(C) 5 % (v/v) Br₂ in CCl₄
使用時先噴 (A) 1 份與 (B) 9 份之混合液呈色, 然後再噴 (C) 液⁽⁶⁾。
(III) (A) 5 % (v/v) Br₂ in CCl₄
(B) 0.25 % (w/v) fluorescein in N, N-dimethyl formamide; 1 ml 用 ethanol 稀釋至 50 ml。
(C) 1.7 g Ag NO₃ 溶於 5 ml H₂O 後加 10 ml 2-phenoxyethanol, 再用 acetone 稀釋到 200 ml。

依 (A) , (B) , (C) 之順序噴好後, 再用紫外線燈照射之(4)。

Ⅲ標準農藥

- | | | |
|----------------------|----------------------------|---------------------------|
| 1. aldrin 99.7 % | 2. lindane 100.0 % | 3. DDT 100.0 % |
| 4. heptachlor 72.0 % | 5. methyl parathion 99.0 % | 6. ethyl parathion 99.0 % |
| 7. dieldrin 99.0 % | 8. methoxychlor 89.5 % | 9. malathion 96.8 % |
| 10. diazinon 95.0 % | 11. ronnel 98.5 % | |

以上標準農藥皆為經濟部商品檢驗局所贈送。

Ⅳ儀器裝置及方法

A、抽出淨化：

1. 淨化管：(a) 內徑 22 mm，長 300 mm 之玻璃管，下具活塞，用於 FDA 法之淨化。
(b) 內徑 15 mm，長 300 mm 之玻璃管，下具活塞，用於 FDA 變法之淨化。
關閉活塞，並在管底填裝玻璃棉後倒入 pet. ether (FDA 法) 或 n-hexane (FDA 變法)，慢慢加入活性化 Florisil (20 g 於 a 管，5 g 於 b 管)，充分攪拌後使 Florisil 沈下。
2. Thornburg 法⁽⁹⁾：
(a) 抽出：試樣 100 g 加 benzene 200 ml 和 ethanol 400 ml，用果汁機打兩分鐘後抽氣過濾，濾液倒入 1,000 ml 分液漏斗，加氯化鈉飽和水溶液 100 ml 和蒸餾水 500~600 ml，充分振盪後靜放，使兩液層分離，排棄下層液，再加蒸餾水洗到無 ethanol 為止，然後移入燒杯，加無水硫酸鈉脫水。
(b) 淨化：將經脫水之抽出液倒入 500 ml 三角燒瓶中，加 10 g Nucharattachay 振盪 1 分半鐘後靜放，待 Nucharattachay 沈下後把上澄液用濾紙過濾於另一三角燒瓶中，然後以 50 ml wet benzene 洗 Nucharattachay，靜放後將上澄液用同一濾紙過濾於同壹三角燒瓶中，重覆洗滌五次，每次洗液都合於同一三角燒瓶中，最後移入濃縮裝置之蒸餾燒瓶，在恒溫水槽內以 50°C 以下之溫度減壓濃縮。

3. FDA 法⁽¹⁰⁾：

- (a) 抽出：試樣 100 g 加 acetonitrile 200 ml，用果汁機打兩分鐘後抽氣過濾，濾液倒入 1,000 ml 分液漏斗，加 pet. ether 100 ml，激烈振盪 1 分鐘，加氯化鈉飽和水溶液 10 ml，及蒸餾水 600 ml，輕搖半分鐘後靜放，使兩液層分離，排棄下層液，上層液重覆水洗兩次後移入燒杯，加無水硫酸鈉脫水。
- (b) 淨化：將經脫水之抽出液移入濃縮裝置之蒸餾燒瓶，在恒溫水槽內，以 50°C 以下之溫度減壓濃縮至約 5 ml 將 Florisil 淨化管 (a) 之下邊活塞打開，使上層 pet. ether 流到快乾為止，加入濃縮抽出液，以少量溶出溶媒 (I) 沖洗蒸餾燒瓶，等濃縮抽出液快流乾時加入燒瓶內之洗液，置 500 ml 燒杯於淨化管

下面以接溶出液，等洗液快流乾時再加 200 ml 溶出溶媒 (I)，以每分鐘 5 ml 的流速溶出，等溶出溶媒 (I) 快流乾時再加 200 ml 溶出溶媒 (II)，以同樣的流速溶出。溶出完了後，將溶出液移入濃縮裝置之蒸餾燒瓶，在恒溫水槽內以 50°C 以下之溫度減壓濃縮。

4 FDA 變法：

(a) 抽出：用 n-hexane 代替 pet. ether 其他操作同上述 3 (a) 法。

(b) 淨化：用溶出溶媒 (III) 600 ml 代替溶出溶媒 (I) 和 (II) 各 200 ml，並使用淨化管 (b)，以每分鐘 8 ~ 10 ml 的流速溶出。其他操作同上述，3 (b) 法。

B、薄層色析：

1 薄層色析裝置：

(a) 鋪層裝置：瑞士 CAMAG A. G. 公司出品。

(b) 展開裝置：7 × 22 × 22 cm 玻璃槽。

(c) 薄層玻璃片：20 × 20 cm。

2 薄層片之製法：

取 Silica gel G 30 g，加水 60 ml 混合均勻後，用鋪層裝置在薄層玻璃片上鋪成厚度 250 μ 的薄層，風乾後置於 120 ~ 130°C 的乾燥箱中加熱 30 分鐘，活性化後移入玻璃乾燥器中保存之。

3 紫外綫照射裝置：瑞士 CAMAG A. G. 公司出品，波長 254 m μ 。

C、氣液色析：

1 氣液色析裝置：

(a) 色析儀：PERKIN-ELMER Model 881 Gas chromatograph，配有 electron capture detector。

(b) 柱 層：5' × 1/8" Pyrex 玻璃螺旋管，裝以 (4% SE-30 + 6% QF-1) coated on Chromosorb W (100-120 mesh)。

2 氣液色析條件：

(a) 氣體流速：20 ml N₂/min。

(b) 溫度：注入器；190°C。

柱 層；190°C。

檢出器：200°C。

實驗與結果

I. Thornburg 法與 FDA 法對農藥之抽出淨化效果比較試驗

把標準農藥 lindane 與 heptachlor 各 0.1 ppm，aldrin 0.3 ppm，DDT 1.0 ppm，methyl 與 ethyl parathion 各 5.0 ppm 添加於各種原料試樣 100 g 後，分別用此二法抽出淨化，而

後將淨化濃縮液用 benzene 稀釋成 50 ml，用 microsyringe 抽取 2.5 μ l，注入氣液色析儀予以分析，所得結果示於表 1。

至於抽出淨化所需時間，Thornburg 法為 170 分鐘而 FDA 法為 200 分鐘。

表 1 不同抽出淨化法對各種原料中殘留農藥之收回情形

Table 1. Gas chromatographic recovery, after different methods of extraction and clean-up, of pesticides added to various raw materials.

農藥 Pesticides	收回情形 * Recovery	Thornburg 法			FDA 法		
		竹筍 Bamboo shoot	花菜 Cauliflower	四季豆 Green bean	竹筍 Bamboo shoot	花菜 Cauliflower	四季豆 Green bean
Lindane		15.2	15.0	14.1	16.0	15.6	15.3
Heptachlor		11.9	12.3	11.6	12.6	12.7	12.1
Aldrin		18.7	17.9	17.4	19.5	19.3	19.5
Methyl parathion		15.5	14.6	14.2	15.8	15.5	15.6
Ethyl parathion		14.7	13.8	13.3	15.9	15.8	15.5
DDT		16.3	15.9	14.6	17.4	16.9	17.1
不純成份 ** Impurities		++	++	++	+	+	+

* 收回情形係以氣液色析圖上各農藥之 peak height 表示，並為三次實驗值之平均值。

** 因各原料所含之不純成份各不相同，在此只表示綜合結果。

II 溶出溶媒之組成與 Florisi 淨化管之改進試驗

因 FDA 法所使用之溶出溶媒 (6 % ether in pet. ether, 15 % ether in pet. ether 及 50 % ether in pet. ether 各 200 ml) 共需 600 ml，而溶出速度為 5 ml/min。所以共需 120 分鐘之溶出時間。為了要達到“迅速”之目的，必須設法改進此溶出溶媒之組成與使用容量，而使溶出時間縮短才可以。表 2 為使用 Florisil 淨化管 (a) (22 × 300 mm) 淨化時，各種溶出溶媒對各種農藥之溶出效果。可見溶出溶媒 D (n-hexane : methylene chloride : chloroform = 6 : 2 : 2) 之溶出效果最佳。

其次將溶出溶媒 D (n-hexane : methylene chloride : chloroform) 之配合比例加以改變，結果各種農藥之溶出效果也不同，如表 3 所示，但仍以 6 : 2 : 2 之混合比率對各種農藥之溶出效果為最佳。

最後將 lindane 添加到兩種不同長度的 Florisil 管上，用 n-hexane : methylene chloride : chloroform (6 : 2 : 2)，以 5 ml/min 或 8 ~ 10 ml/min 之流速溶出，以求收回 95 % 以上之

表 2 各種溶媒對 Florisil 管上各種農藥之溶出效果 *

Table 2. Elution efficiency of pesticides from a Florisil column with different eluting solvents

農 藥 Pesticides	溶出溶媒 ** Eluting solvents	A	B	C	D
Lindane		+++	++	+++	+++
Aldrin		+++	++	+++	+++
Methyl parathion		—	—	++	+++
Ethyl parathion		—	—	++	+++
D D T		+++	++	+++	+++
Malathion		—	—	+	+++

* Florisil 管 22 × 300 mm，溶出量 200 ml，溶出流速 5 ml/min.

** 溶出溶媒 A, ether: pet. ether (6:94); B, ether: n-hexane (10:90); C, n-hexane: ether: chloroform (8:1:1); D, n-hexane: methylene chloride: Chloroform (6:2:2).

表 3 不同配合比率之溶出溶媒對 Florisil 管上各種農藥之溶出效果 *

Table 3. Elution efficiency of pesticides from a Florisil Column with n-hexane: methylene chloride: chloroform of different ratios.

農 藥 Pesticides	溶出溶媒 Eluting solvent	n-Hexane: Methylene chloride: Chloroform (vol. ratio)						
		6:2:2	7:1:2	6:1:3	5:2:3	5:3:2	4:4:2	6:3:1
Lindane		+++	++	++	++	++	+	++
Aldrin		+++	++	++	++	++	+	++
Methyl parathion		+++	+++	+++	++	+++	++	+++
Ethyl parathion		+++	+++	++	++	+++	++	+++
D D T		+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
Malathion		+++	++	+++	+++	++	++	—

* Florisil 管 22 × 300 mm，溶出量 200 ml，溶出流速 5 ml/min.

lindane 所需溶出溶媒之容量，所得結果如表 4 所示。

表 4 不同流速之溶出溶媒對 Florisil
管上 Lindane 之溶出效果

Table 4. Elution efficiency of lindane on
a Florisil column with n-hexane
: methylen chloride: chloroform
(6:2:2) at different flow rates

Florisil管($\frac{\text{min}}{\text{min}}$) Florisil column	溶出流速 Flow rate	溶出量 * Elution volume
22 X 300	5 ml/min	200 ml
15 X 300	5 ml/min	110 ml
15 X 300	8-10 ml/min	60 ml

* 收回 95% 以上之 lindane 所需要的溶出溶媒 ml 數。

III FDA 變法對各種農藥之收回實驗

把六種標準農藥添加於三種原料（竹筍、花菜及四季豆）後用 FDA 變法分別抽出，淨化，濃縮。所得之淨化濃縮液用氣液色析儀予以分析，結果各種農藥由三種原料之收回率相差不大，故將其平均值列於表 5。

表 5 FDA 變法對各種原料中所含六種農藥之收回率
Table 5. Recovery of 6 kinds of pesticides from various
raw material by the modified FDA method

農 藥 Pesticides	收回率 * Recovery	氣液色析中滯留時間 Retention time on gas chromatography
Lindane	96.0 %	6.1 min.
Heptachlor	88.0	8.5
Aldrin	91.0	10.4
Methyl paration	87.5	15.9
Ethyl parathion	88.0	21.3
D D T	92.5	36.2

收回率係用氣液色析法分離後，比較各 peak 與標準農藥 peak 之高度。
所列數值係由三種原料之收回率之平均值。

IV標準農藥之薄層色析

將十一種標準農藥溶液，用微量吸管吸取不同量，點於 Silica gel G 薄層片上，用展開溶媒（II）展開後噴呈色劑（I）或（II）予以呈色，所得結果如表 6 所示。

表 6 標準農藥之薄層色析結果

Table 6. Thin-layer chromatography of authentic pesticides

農 藥 Pesticides	Rf 值 * Rf values	檢 出 限 度 Detectable amount	
		呈色劑（I）** Chromogenic reagent (I)	呈色劑（II）** Chromogenic reagent (II)
Aldrin	0.92	0.5 ug	5 ug
Heptachlor	0.89	0.5	2
D D T	0.79	0.5	5
Ronnel	0.66	0.5	2
Lindane	0.60	0.5	5
Diazinon	0.50	0.5	2
Methoxychlor	0.45	0.5	2
Ethyl parathion	0.43	0.2	2
Dieldrin	0.40	0.5	5
Methyl parathion	0.30	0.2	2
Malathion	0.26	0.2	2

* 薄層片為 Silica gel G 片；展開溶媒為 n-hexane: acetone (9:1, v/v)

** 呈色劑（I）係先噴 BPB-AgNO₃ 溶液，呈色後再噴 Br₂ vapor；呈色劑（II）係先噴 Br₂ 溶液，再噴 fluorescein 及 AgNO₃ 溶液呈色，然後用紫外綫照射。

V 實際分析實驗

為查究各種農藥添加到各種原料試樣後，用 FDA 變法抽出淨化所得之濃縮液，在薄層色析中之實際檢出情形，將不同量的各種農藥添加於 100 g 之各種原料中，然後按照 FDA 變法操作分析，所得結果如表 7 所示。

討 論

1. 由表 1 可知 FDA 法比 Thornburg 法對農藥之收回率高，同時對原料所含干擾物質（雜質）的抽出率也低，並且 benzene 之毒性較大，所以 FDA 法比較適合於殘留農藥之抽出檢驗。但因其所費時間太長，所以不合於此研究之要求——迅速。
2. 由表 2 及表 3 可知溶出溶媒 D (n-hexane: methylene chloride: chloroform=6:2:2) 對 lindane 等六種農藥之溶出效果最佳。又由表 4 可知，如使用 Florisil 淨化管 (b) (15 × 300 mm)，

表 7. 依薄層色析法 *分析各種原料中各種農藥之實際檢出情形

Table 7. Actual detection by thin-layer chromatography of pesticides added to various raw materials

農 藥 Pesticides	竹 筍 Bamboo shoot		花 菜 Cauliflower		Rf 值	可檢出濃度 Detectable concentration	
	添加濃度 Added concentration	檢出結果 Result of detection	添加濃度 Added concentration	檢出結果 Result of detection	Rf value	竹 筍 Bamboo shoot	花 菜 Cauliflower
Lindane	0.1 ppm	+	0.1 ppm	+	0.16	0.1ppm	0.1ppm
Heptachlor	0.1	+	0.1	+	0.63	0.1	0.1
Aldrin	0.1	+	0.1	+	0.73	0.1	0.1
D D T	0.1	+	0.1	+	0.48	0.1	0.1
Methyl parathion	0.5	+	1.0	+	0.30	0.5	1.0
Ethyl parathion	0.5	+	0.5	+	0.43	0.5	0.5

* lindane, heptachlor, aldrin及 DDT 係用展開溶媒 (I) 展開 10 cm , methyl 及 ethyl parathion 係用展開溶媒 (II) 展開 10 cm , 呈色劑為 BPB-AgNO₃ 溶液和 Br₂ vapor, 所需時間共約 120 分鐘。

溶出流速為 8 ~ 10 ml/min 時只需 60 ml 溶出量即可得 與 FDA 法同樣的溶出效果 , 因此可以縮短溶出時間不少。同時, 再由表 5 及表 7 可知, 用 FDA 變法能在兩小時內檢驗出含有 0.1 ~ 1.0 ppm 農藥的原料。

- 3 如再減少 Florisil 用量 (即小於 5 g) 或增加溶出溶媒流速 (即大於 8 ~ 10 ml/min), 則因原料所含干擾物質 (雜質) 被大量溶出, 所以無法達到淨化的目的, 因此影響到薄層色析分析, 所以 “淨化” 時使用 15 × 300 mm 淨化管, Florisil 5 g, 流速 8 ~ 10 ml/min 最適宜。
- 4 由表 6 可知使用呈色劑 (I) (BPB-AgNO₃ 溶液和 Br₂ Vapor) 時, 可以檢出到 0.2 ~ 0.5 μg 之農藥, 而使用呈色劑 (II) (Br₂ 溶液, fluorescein 溶液, AgNO₃ 溶液和紫外線照射) 時, 只能檢出到 2 ~ 5 μg 農藥。因此, 在薄層色析上農藥之檢出應使用呈色劑 (I) 。至於另一吸着劑 Al₂O₃, 雖然對各種農藥之分離能並不比 Silica gel G 差, 但其展開時間較 Silica gel G 長, 所以用 Silica gel G 為吸着劑較合適。

結 論

- 1 按照 FDA 變法步驟進行薄層色析, 可在兩小時內檢驗原料蔬果中有無 lindane, heptachlor, aldrin, DDT, methyl parathion 及 ethyl parathion 等之殘留農藥。
- 2 本法可檢出之農藥濃度, 除 methyl parathion 為 1.0 ppm, ethyl parathion 為 0.5 ppm 外, 其他均為 0.1 ppm。

参考文献

1. Bates, J. A. R. 1965. A general method for the determination of organophosphorus pesticide residues in food stuffs. *Analyst* 90, 453-466.
2. Langlois, B. E., Stemp, A. R. and Liska, B. J. 1964. Rapid clean up of dairy products for analysis of chlorinated insecticide residues by electron capture gas chromatography. *J. Agr. Food chem.* 12, 243-245.
3. Sissons, D. J., Telling, G. M. and Usher, C. D. 1968. A rapid and sensitive procedure for the routine determination of organo-chlorine pesticide residues in vegetables, *J. Chromatog.* 33, 435-449.
4. Walker, K. C. and Beroza, M. 1963. Thin layer chromatography for insecticide analysis. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 46, 250-261.
5. Abbott, D. C., Egan, H. and Thomson, J. 1964. Some observations on the thin-layer chromatography of organo-chlorine pesticides. *J. Chromatog.* 16, 481-487.
6. Bunyan, P. J. 1964. The detection of organo-phosphorus pesticides on thin-layer chromatograms. *Analyst* 89, 615-618.
7. Mills, P. A., Onley, J. H. and Gaither, R. A. 1963. Rapid method for chlorinated pesticide residues in nonfatty foods, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 46, 186-191.
8. Thornburg, W. W. 1963. Extraction and clean up procedures. p. 87-108. In Zweig, G., *Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators and Food Additives*. Vol. I, Academic Press, New York and London.
9. U. S. Department of Health, Education, and Welfare, Food and Drug Administration. 1969. *Pesticide Analytical Manual*. Vol. I, Methods Which Detect Multiple Residues.

A Simple and Rapid Method for the Detection of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables

I. Studies on the Improvement of the Simple and Rapid Method of Pesticide Detection

Y. H. Fu

Summary

The improvement of the simple and rapid method for the detection of lindane, aldrin, heptachlor, methyl parathion, ethyl parathion and DDT residues in bamboo shoots, cauliflower and green beans was tried. A method using thin layer chromatography was found to be effective in detecting the pesticide residue within two hours. The procedures are as follows; The sample is homogenized and extracted

with acetonitrile, and the pesticide residues are then transferred into n-hexane; After concentration, the extract is purified with a Florisil column, and the clean eluate is again concentrated, and then chromatographed on a Silica gel G thin-layer plate, with n-hexane or a n-hexane: acetone mixture as the developing solvent, and the chromatogram sprayed with BPB-AgNO₃ solution. By this method, it was able to detect 0.1 to 1.0 ppm of these pesticides within two hours.

蔬果類殘留農藥之簡速檢驗法

II、簡速檢驗法之田間應用

傅 遠 鴻

摘 要

用第 I 報所述之殘留農藥簡速檢驗法，確可在兩小時內檢出噴於田間花菜上的 lindane, aldrin, heptachlor, methyl parathion, ethyl parathion 及 DDT 等農藥之 0.1 ~ 1.0 ppm 殘留量。本法之可檢出濃度對 lindane, aldrin, heptachlor 及 DDT 為 0.1ppm，對 ethyl parathion 為 0.5ppm，而對 methyl parathion 為 1.0ppm。由本實驗結果獲知，在田間噴於花菜上的這些農藥殘留量隨着時間而逐漸減少，而在三星期後即降低到安全食用的程度。

前 言

在第一報簡速檢驗法之改進研究中⁽¹⁾，著者曾報告可在兩小時內用薄層色析法檢驗蔬菜中有無含殘留農藥。今欲證實此簡速檢驗法之可行，在田間把各種農藥噴到花菜上，而後按照本簡速檢驗法之步驟進行檢驗，以觀察各種農藥殘留量之變化情形，同時用氣液色析法作對照分析，以核對簡速檢驗法在定性上的準確性。

材料與方法

I. 供試原料

花菜：由新竹區農業改良場崎頂畜牧場供應。

II. 供試農藥

- | | | |
|------------------------|---|--------------|
| 1. lindane 乳劑 | : | } 由富農化學公司贈送。 |
| 2. hepta chlor 乳劑 | : | |
| 3. methyl parathion 乳劑 | : | |
| 4. ethyl parathion 乳劑 | : | |
| 5. aldrin 水和劑 | : | } 由市面購買。 |
| 6. D D T 水和劑 | : | |

Ⅲ. 施藥方法

把上述六種農藥各取 2 g，用水稀釋成 1ℓ 後，用小型手提噴霧器均勻噴到花菜上。

Ⅳ. 施藥與採樣日期

施藥日期：1 月 4 日

採樣日期：1 月 4 日，5 日，7 日，9 日，14 日，19 日及 25 日。

Ⅴ. 標準農藥

1. aldrin 99.7 %
2. lindane 100.0 %
3. DDT 100.0 %
4. heptachlor 72.0 %
5. methyl parathion 99.0 %
6. ethyl parathion 99.0 %

Ⅵ. 試藥

1. acetonitrile : 日本和光純藥工業株式會社出品，含量 90 % 以上。
2. n-hexane : 日本林純藥工業株式會社出品，試藥一級。
3. chloroform : 西德，E. Merck 公司出品，G. R. 級。
4. methylene chloride : 日本林純藥工業株式會社出品，試藥一級。
5. Florisil : 美國 Sigma 公司出品，60~100 mesh.
6. acetone : 西德，E. Merck 公司出品，G. R. 級。
7. Silica gel G : 西德 E. Merck 公司出品，薄層色析專用品。
8. 無水硫酸鈉：西德 E. Merck 公司出品，E. P. 級。
9. 淨化溶出溶媒⁽¹⁾：n-hexane : methylene chloride : chloroform = 6 : 2 : 2 (v/v).
10. 色析展開溶媒⁽²⁾：I. n-hexane (西德 E. Merck 公司出品)。
II. n-hexane : acetone = 9 : 1 (V/V) (均為西德 E. Merck 公司出品)
11. 呈色劑⁽³⁾：(A) 0.1g bromphenol blue 溶於 100 ml acetone。
(B) 1g 硝酸銀溶於 100ml acetone-H₂O (1:3) 溶液。
使用時取(A) 1 份與(B) 9 份混合之。

Ⅶ. 儀器裝置及方法

A. 儀器裝置

1. 淨化管：內徑 15 mm，長 300 mm 之玻璃管，下具活塞。
關閉活塞，並在管底填裝玻璃棉後，倒入 n-hexane 10 ml 慢慢加入活性化 Florisil 5 g，充分攪拌後使 Florisil 沉下。
2. 薄層色析裝置：(A) 鋪層裝置：瑞士 CAMAG A. G. 公司出品。
(B) 展開裝置：7 × 22 × 22 cm 玻璃槽。

(C)薄層玻璃片：20 × 20 cm .

3. 薄層片之製法：

取 Silica gel G 30g，加水 60 ml 混合均勻後，用鋪層裝置在薄層玻璃片上鋪成厚度 250 μ 的薄層。風乾後放入 120 ~ 130°C 的乾燥箱加熱 30 分鐘，活性化後移入玻璃乾燥器中保存之。

4. 紫外線照射裝置：瑞士 CAMAG A. G. 公司出品，波長 254 m μ 。

5. 氣液色析裝置：

(A)色析儀：PERKIN-ELMER Model 881 Gas Chromatograph，配有 electron capture detector。

(B)柱層：5' × 1/8" Pyrex 玻璃蛇管，裝以 (4% SE-30 + 6% QF-1) Coated on Chromosorb W (100-120 mesh)。

分析方法：

1. 抽出：取試樣 100 g 加 acetonitrile 200 ml，用果汁機打 2 分鐘後抽氣過濾，濾液倒入 1,000 ml 分液漏斗。加 n-hexane 100 ml，激烈振盪 1 分鐘，加氯化鈉飽和水溶液 10 ml 及蒸溜水 600 ml。輕搖半分鐘後靜放，使兩液層分離，排棄下層液，上層液用 100 ml 蒸餾水洗兩次。將上層液移入燒杯，加無水硫酸鈉脫水，而後移入濃縮裝置之蒸餾燒杯內，在恒溫水槽中以 50°C 以下之溫度減壓濃縮至約 5 ml。
2. 淨化：將 Florisil 淨化管之下邊活塞打開，使上層 n-hexane 流到快流乾為止，加入濃縮抽出液，以少量溶出溶媒沖洗蒸餾燒瓶，等濃縮抽出液快流乾時加入燒瓶內洗液，並置 100 ml 燒杯於淨化管下面以接溶出液。等洗液快流乾時再加入 60 ml 溶出溶媒，以每分鐘 8 ~ 10 ml 的流速溶出。溶出完了後，將溶出液移入濃縮裝置之蒸餾燒瓶內，在恒溫水槽中以 50°C 以下之溫度減壓濃縮至快乾為止。由恒溫水槽中取出燒瓶，對瓶內濃縮液吹以壓縮空氣，使其蒸發乾涸，然後正確加入 10 ml benzene，使瓶底殘渣完全溶解。

3. 薄層色析：

取 5 ml 淨化濃縮液再濃縮到 1 ml 後各取 2, 5, 10, 15 μ l 點於兩張薄層片上，放入展開裝置內，第一張用展開溶媒 (I)，第二張用展開溶媒 (II) 展開到 10 cm 高度，取出風乾後噴以呈色劑。

4. 氣液色析：

取 1 ml 淨化濃縮液用 benzene 稀釋至 100 ml，然後取 1 μ l 用氣液色析儀予以分析。其條件為：氣體流速 20 ml N₂/min.，注入器，柱層及檢出器之溫度各為 190°C，190°C 及 200°C。

實驗與結果

I. 殘留農藥之氣液色析：

按各採樣日期所採收的試樣，分別依照上述分析方法之步驟進行抽出，淨化，而後用氣液色析儀予以分析，所得結果如表 1 所示。

表 1. 施藥花菜中各種殘留農藥之氣液色析結果

Table 1. Gas chromatographic analysis of pesticide residues in cauliflower

施藥後經過日數 Days after pesticide application	殘 留 農 藥 *1 Pesticide residues (ppm)						
	Lindane	Heptachlor	Aldrin	Methyl parathion	Ethyl parathion	DDT	Dieldrin *2
0 day	tr. *3	3.6	12.5	34.75	20.75	9.1	—
1	tr.	3.0	4.0	32.25	15.5	7.55	—
3	tr.	2.95	2.79	42.5	22.25	13.0	—
5	tr.	1.0	0.65	8.5	7.5	3.2	tr.
10	tr.	0.72	0.69	9.0	3.6	2.88	tr.
15	tr.	0.1	tr.	1.3	0.94	1.7	tr.
21	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.

※ 1. 所列數值係兩個樣品分析值之平均值。

※ 2 係由 aldrin 分解而來。

※ 3 trace amount < 0.05 ppm.

II. 殘留農藥之薄層色析：

把上述試樣之抽出淨化液用薄層色析予以分析，所得結果如表 2 所示。

表 2. 施藥花菜中各種殘留農藥之薄層色析結果

Table 2. Thin-layer chromatographic analysis of pesticide residues in cauliflower

施藥後經過日數 Days after pesticide application	Lindane	Heptachlor	Aldrin	Methyl parathion	Ethyl parathion	DDT	Dieldrin
0 day	—	+++	+++	++++	++++	+++	—
1	—	+++	+++	++++	++++	+++	—
3	—	+++	+++	++++	++++	+++	—
5	—	++	++	+++	+++	++	—
10	—	++	++	+++	++	++	—
15	—	+	—	+	+	+	—
21	—	—	—	—	—	—	—

註：1. lindane, heptachlor, aldrin 及 DDT 係用展開溶媒(I)展開。

2. methyl parathion, ethyl parathion 及 dieldrin 係用展開溶媒(II)展開。

III. 各種農藥在花菜中之可檢出濃度

將不含農藥之花菜試樣 100g, 按照上述分析方法之步驟處理, 使最後所得之抽出淨化濃縮液體積為 0.2ml, 然後依照表 3 下註之配合比率, 將淨化濃縮液與各種標準農藥配合後點加於 Silica gel G 薄層片上, 而後予以展開呈色, 以判定各種農藥在花菜中可檢出之濃度與檢出限度, 所得結果如表 3 所示。

表中可檢出濃度為 0.1ppm 者, 雖可有 0.5 $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$, 1 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ 及 2 $\mu\text{g}/40\mu\text{l}$ 等配合, 但經實際分析結果發現, 由於原料抽出淨化濃縮液中所含外來物質之干擾, 0.5 $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ 者各種農藥之色點看不清楚, 而需 1 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ 或 2 $\mu\text{g}/40\mu\text{l}$ 始可看清楚。因此, 各種農藥之檢出限度, 在原料中與純粹品並不相同。

表 3. 各種農藥在花菜中可檢出之濃度與檢出限度

Table 3. Detectable concentration and amount of pesticides in cauliflower

農 藥 Pesticide	可 檢 出 濃 度 Detectable concentration	檢 出 限 度 Detectable amount	
		純 粹 品 Pure pesticide	原 料 中 In raw material
Lindane	0.1 ppm	0.5 μg	1.0 μg
Heptachlor	0.1	0.5	1.0
Aldrin	0.1	0.5	1.0
Methyl parathion	1.0	0.2	2.0
Ethyl parathion	0.5	0.2	2.0
D D T	0.1	0.5	1.0

註：由 100g 原料製成 0.2 ml 抽出淨化濃縮液後與標準農藥之配合方法如下：

- (a) 0.5 μg 農藥 / 1 μl 濃縮液, 1 $\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ 及 2 $\mu\text{g}/4\mu\text{l}$ 可得 1 ppm 濃度。
- (b) 0.5 $\mu\text{g}/2\mu\text{l}$, 1 $\mu\text{g}/4\mu\text{l}$ 及 2 $\mu\text{g}/8\mu\text{l}$ 可得 0.5 ppm 濃度。
- (c) 0.5 $\mu\text{g}/4\mu\text{l}$, 1 $\mu\text{g}/8\mu\text{l}$ 及 2 $\mu\text{g}/16\mu\text{l}$ 可得 0.25 ppm 濃度。
- (d) 0.5 $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$, 1 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ 及 2 $\mu\text{g}/40\mu\text{l}$ 可得 0.1 ppm 濃度。
- (e) 0.5 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$, 1 $\mu\text{g}/40\mu\text{l}$ 及 2 $\mu\text{g}/80\mu\text{l}$ 可得 0.05 ppm 濃度。

討 論

1. 由表 1 可知, 把農藥噴射到花菜後, 其農藥殘留量有隨着時間而逐漸減少的趨勢, 尤以有機磷農藥為甚。此即表示, 有機磷農藥比有機氯農藥在植物體內較易受破壞。