

編號：CCMP88-RD-049

中藥材微量有機磷農藥之超臨界流體檢驗方法之研究

Supercritical Fluid Analysis and Investigation of Trace Organophosphorus Pesticides in Chinese Herbs

凌永健

國立清華大學化學系

摘要

中藥材成份複雜且來源不一，產地之生長環境不易控制，須加以嚴格檢測及管理，以確保消費者之健康，和增進國產中藥材成品之外銷競爭力。有機磷農藥雖易分解，但使用廣泛，且屬神經性毒劑，其農藥殘留問題更凸顯。現今法規並無完整規範藥材中殘留農藥安全容許量，因此建立中藥材微量農藥殘留檢測方法應是速不容緩之研究目標之一。

本研究發展超臨界二氧化碳流體萃取—線上淨化—附氮磷偵測器氣相層析儀偵測方法以分析中藥材中 12 種殘留微量有機磷農藥。探討修飾劑種類及添加量、萃取壓力、萃取溫度、吸附劑種類等變因，探討最適化萃取條件，結果以純二氧化碳流體，100 μ L 修飾劑，萃取壓力 250 atm、萃取溫度 50°C、靜態萃取時間 5 min、動態萃取時間 20 min、填充 2 g 矽酸鎂之線上淨化方式為最適化萃取條件。方法偵測極限約為 0.25 ppm，回收率介於 20 ~ 70%，但不適用於達馬松、二氯松及亞素靈。本方法具有簡易、快速、溶劑及樣品用量少之優點，用來分析市售 36 種單方生藥材及 4 種複方中藥材中有機磷農藥，其殘留量皆低於方法偵測極限。由於有機磷農藥之半衰期短，建議未來抽檢市售中藥材中殘留有機磷農藥，以新鮮藥材為優先。

關鍵詞：中藥材、有機磷農藥、超臨界流體萃取、農藥殘留分析

ABSTRACT

Chinese herbs (CHs) possess complex composition and come from various sources. The control of the culturing environment is difficult. In order to protect the health of the consumers and to strengthen the exporting competency, it is necessary to analyze and manage the CHs. Organophosphorus pesticides (OPPs) could readily decompose. However, they were widely used and were neurotoxics. Current regulations do not have comprehensive tolerance levels of pesticide residues in CHs. The development of analytical methods for pesticide residues in CHs is highly demanding.

This project developed a supercritical CO₂ fluid extraction-online cleanup-gas chromatograph nitrogen phosphorus detection method to analyze 12 residues OPPs (methamidophos, diazinon, parathion, EPN, monocrotophos, malathion, demeton, parathion methyl, dichlorpvos, trichlorfon, Ethion, dimethoate) in CHs. Factors, such as modifiers, extraction temperature, extraction pressure and absorbents were investigated to search for the optimal extraction conditions. The results indicate that CO₂ fluid, 100 μL methanol modifier, 250 atm extraction pressure, 50°C extraction temperature, 5 min static extraction temperature, 20 min dynamic extraction time, and 2 g Florisil online cleanup is the optimal extraction condition. The method detection limits were about 0.25 ppm. Mean recoveries between 20 % and 70 % were obtained. The method does not work for methamidophos, dichlorpvos and monocrotophos. The method is simple, rapid and requires only small amount of samples and solvents. The method was used to analyze CHs sold in Taiwan, which included 36 herb pulverization and 4 pulverization extract (i.e., scientific Chinese Medicines). The OPPs residues were all below the method detection limits. Considering the results from the preliminary investigation and the short half-life of OPPs, We suggest that the analysis of fresh CHs should be of higher priority should future screening of OPPs residues in CHs is carried out.

Key Words : Chinese herbs 、 organophosphorus pesticides 、 supercritical fluid extraction 、 pesticide residues analysis

壹、前言

中藥具有藥效溫和與副作用小的優點，民間對於中藥有相當程度的依賴度，中

藥已成為國人傳統生活之一部份，市場需求量甚大，國產之中藥材已不敷所需，大部份皆仰賴進口，根據農委會統計進口數量已佔市場五成以上。由於中藥材成份複雜且來源不一，產地之生長環境不易控制，須加以嚴格檢測及管理，以確保消費者之健康，和增進國產中藥材成品之外銷競爭力。現今對於藥材的研究大多著重於其有效成份分析 [1-4]，或是製造過程中微生物污染情形 [5]，或者微量重金屬含量測試 [6]，甚少研究是否受其它有害物質，如農藥殘留污染。中藥材須長時間栽培 [7]，在這期間，為①防除中藥材之病蟲鼠害雜草者；②調節中藥材生長或影響其生理作用者；③調節有益昆蟲生長者。必須噴灑農藥，若農藥使用不當將會污染土壤及水源進而累積於植物體中。

自 1939 年有機合成農藥問世以來，幾乎完全取代傳統除蟲方式。化學殺蟲劑是指任何用來防治害蟲之化學物，日常所使用之化學殺蟲劑絕大部份是為有機合成農藥如①有機磷，②氨基甲酸鹽，③有機磷劑，④除蟲菊精類。依其理化特性、毒效期、毒力作用機制依種類不同而有極大差別 [8]。依其防治對象，農藥包括了殺蟲劑、殺菌劑、除草劑、殺鼠劑、殺線蟲及植物生長調節劑等。屬有機磷農藥有 59 種殺蟲劑、7 種殺菌劑、2 種殺曼劑、3 種殺線蟲劑，為國內目前使用最廣之農藥 [9]，在環境中分佈極為廣泛，舉凡土壤、水質、空氣、底泥、污泥、生物體、事業廢棄物、蔬果農產品、農作物等。透過食物鏈和飲用水進入人體中，會干擾中樞神經系統的正常運作，造成中毒。

噴灑殺蟲劑約只有 10% 停留於農作物植物體上，大部份直接進入土壤及水中，透過自然界循環，散播各地，雖然農藥對於害蟲的防治工作極為有效，可節省許多人力、物力、時間，但是其殘留在環境空間相當廣，加大對於環境之不良影響。透過食物、水源或皮膚的接觸，將使得有機磷農藥進入於生物體，造成慢性中毒，增大致癌、致畸之機率。除此外，部份有機磷農藥屬劇毒性，因此世界各國也陸續對此類有機磷農藥加以禁用及管制。

我國於 1997 年所訂定之「飲用水水源水質標準」 [10]，規定達馬松 (methamidophos)、大利松 (diazinon)、巴拉松 (parathion)、一品松 (EPN)、亞素靈 (monocrotophos) 之最大限值分別為 0.02、0.02、0.02、0.005 和 0.01 ppm；我國中藥材之主要進口地區-大陸，其「地面水中有害物質的最高容許濃度」 [11]，規定馬拉硫磷 (馬拉松, malathion)、內吸磷 (滅賜松, demeton)、甲基對硫磷 (甲基巴拉松, parathion methyl)、對硫磷 (巴拉松, parathion)、樂果 (大滅松, dimethoate) 之最大限值分別為 0.25、0.03、0.02、0.003 和 0.08 ppm；我國中藥材之主要出口地區-日本，其「管制進口中藥材之要求」 [12]，規定巴拉松 (parathion)、馬拉松 (malathion)、和撲滅松 (fenitrothion) 之最大限值分別為 0.3、0.2 和 0.2 ppm；文獻上有關中藥材中之有機磷農藥的報導非常有限，所查到者皆來自大陸地區，在「慶余腎氣丸、複方丹參片中有機磷農藥多殘留分析方

法的研究」中 [13]，所分析的有機磷農藥有：敵敵畏（二氯松，dichlorpvos）、敵百虫（三氯松，trichlorfon）、甲安磷（tamaron）、樂果（大滅松，dimethoate），其方法偵測極限約在 10^{-2} mg/g (10 ppm)；在另一篇「藥材的農藥殘毒及其控制」中 [14]，提及久效磷（亞素靈，monocrotophos）、磷安(phosphamidon)、甲安磷(tamaron)、三硫磷(carbophenothion)為禁用之高毒農藥。目前分析和中藥材類似之蔬果、雜糧中有機磷農藥大多採用有機溶劑萃取如索氏萃取法 [15] 萃取法 [16] 等方式，這些方法由於必須使用大量有機溶劑易造成二次污染。除此之外，由於其選擇性差，基質干擾嚴重，必須再以淨化管柱進行淨化步驟。較理想的分析方法，必須具有方法簡單、操作方便、分析快速、選擇性好、又不易造成二次污染等特性，超臨界流體萃取技術(Supercritical fluid extraction technology)即具有上述優點 [17-21]。本研究擬結合超臨界流體萃取技術之較佳萃取效率及氣相層析儀附氮磷(或火燄光度)偵測器(GC-NPD or -FPD)之低偵測極限的優點，完成下列三目的：

- (1) 引進並發展超臨界二氧化碳流體萃取及線上淨化技術，以簡化前處理步驟、縮短萃取時間及減少有機溶劑用量。輔以氣相層析儀附氮磷偵測器定量技術，能快速、簡易、可靠的例行分析中藥材微量有機磷農藥之殘留量的檢驗方法。成果除供撰寫技術報告外，亦將發表論文於國際期刊上，讓國際間了解我國具有一定水準之中藥材微量有機磷農藥殘留之檢驗能力，而得以遏止此類有機磷農藥殘留之中藥材流入我國，以保障國人之權益及健康。
- (2) 利用上述檢驗方法分析市售之常用中藥材，包括①根類、②根莖類、③莖木類、④皮類、⑤葉類、⑥花類、⑦果實及種子類、⑧複方科學濃縮製劑，共 40 種中藥材中之達馬松 (methamidophos)、大利松 (diazinon)、巴拉松 (parathion)、一品松 (EPN)、亞素靈 (monocrotophos)、馬拉松 (malathion)、滅賜松 (demeton)、甲基巴拉松 (parathion methyl)、二氯松 (dichlorpvos)、三氯松 (trichlorfon)、甲安磷 (tamaron) (註：無市售之標準品，改代以愛殺松 Ethion) 和大滅松 (dimethoate) 等十二種有機磷農藥之殘留量。
- (3) 參加國內研討會，推廣所建立之綠色化學分析技術和品保/品管系統，協助培中藥材中微量有機磷農藥檢驗人才。

貳、材料與方法

2-1、試藥

- (1) 丙酮 (acetone)：HPLC 及 optima 級, Tedia 公司 (Fairfield, OH, USA)。

- (2) 甲醇 (methanol) : HPLC 及 optima 級, Tedia 公司 (Fairfield, OH, USA)。
- (3) 乙酸乙酯 (ethyl acetate) : Optima 級, Tedia 公司 (Fairfield, OH, USA)。
- (4) C₁₈ 吸附劑 : 40 μm, Nacalia 公司, (東京, Japan)。
- (5) 矽酸鎂 (Florisil) : 60/100 mesh, Janssen 公司 (Geel, Belgium)。
- (6) 矽膠 (silica gel) : 100/200 mesh, ASTM 923 級, Aldrich (Milwaukee, WI, U. S. A)。
- (7) 12 種單一有機磷農藥、前處理內標 Tributylphosphate 及定量內標 Famphur : AccuStandard (New Haven, CT, USA), 100 ppm 於甲醇。圖 1 為其化學結構圖。
- (8) SFE 級二氧化碳氣體, 氣體鋼瓶需有插管 (Diptube), 內為液態二氧化碳 (Scott Specialty Gases, Inc. Plumsteadville, PA, USA)。
- (9) 工業級二氧化碳級純度 99.6 % (冷卻用), 洽隆公司 (新竹)。

2-2、中藥材

- (1) 單方生藥材 : 茯苓、黨參 (Codonopsis Radix)、當歸 (Ligustici Radix)、牛膝 (Radix Achyranthis Bidentatae)、獨活 (Radix Angelicae Pubescentis)、三七、川芎 (Rhizoma Chuanxiong)、山藥、蒼朮 (Rhizoma Atractylodis)、知母、澤瀉 (Rhizoma Alismatis)、竹茹 (Caulis Bambusae)、桑枝、檀香 (Santali Lignum)、大薊 (Cirsii Japonici Herba)、鉤藤 (Uncaria Hirsuta Haviland)、五加皮 (Cortex Acanthopanax)、厚朴 (Cortex Magnoliae Officinalis)、地骨皮 (Lycii Radicis Cortex)、秦皮 (Cortex Fraxini)、杜仲、茵陳蒿 (Artemisiae Capillaris Herba)、枇杷葉 (Folium Erobotryae)、番瀉葉 (Sennae Folium)、石南藤、艾葉、密蒙花 (Buddleiae Flos)、款冬花 (Flos Farfarae)、芫花 (Daphnis Genkwae Flos)、丁香 (Caryophylli Flos)、金銀花 (Flos Lonicerae)、白果 (Ginkgo Semen)、芡實、牛蒡子、山梔子 (Gardeniae Fructus)、五味子共 36 種, 購自市面。其來源及用途如表 1⁽²²⁾ 所列。
- (2) 複方中藥材 : 補中益氣湯 (PU-CHUNU-I-CHI-TANG)、小柴胡湯 (HSIAO-CHAI-HU-TANG)、龍膽瀉肝湯 (LUNG-DAN-HSIEH-GAN-TANG)、滋腎明目湯共 4 種, 購自市面。其來源及用途如表 1⁽²²⁾ 所列。

2-3、實驗設備

- (1) 天平 (Balance) : 40 SM-200A, Precisa 公司。
- (2) 研鉢和杵 (磁) 東光公司。
- (3) 索氏萃取裝置 : Pyrex 材質, 東光公司。

- (4) 氮氣吹除裝置(附濃縮管)。
- (5) 磨碎機。
- (6) 超臨界流體萃取儀(SFE)：Suprex - Prepmaster with AccuTrap (Pittsburgh, PA, USA)。
- (7) 氣相層析儀：HP 5890 Series II，附氮磷偵測器(NPD)，和自動注射器(HP-7673)。
- (8) 氣相層析質譜儀：HP 5890 Series II-5972 MSD，和自動注射器(HP-7673A)。

2-4 實驗方法

- (1) 空白樣品製備：由於市售藥材多已經烘乾，所以藥材不需經任何烘乾步驟，即可進行磨碎。以磨碎機磨勻後，取約 30 g 甘草粉放入索氏萃取裝置中，以 250 mL 水迴流 8 小時，爾後依序更換溶劑為 50% 甲醇、正己烷，再各迴流 8 小時。洗淨後之甘草粉置於烘箱中乾燥(50 °C)。過篩，得到顆粒大小介於 80-60 mesh (0.177-0.255 mm)之間。
- (2) 吸附劑使用前的處理：① C₁₈ 吸附劑放入索氏(Soxhlet)萃取裝置中，以正己烷/丙酮(1:1)混合溶液(HPLC 級)連續萃取 24 小時，取出後在 60 °C 烘箱烘乾備用。② 矽膠、矽酸鎂等吸附劑，先在 150 °C 烘箱連續加熱至少 12 小時，使用前再放到乾燥箱冷卻至室溫。
- (3) 添加標準溶液之配製：將 10 mg 之 14 種有機磷農藥混合標準溶液，取 10 mg 至 10 mL 的定量瓶中，再由定量針筒吸取 5 μL 用丙酮稀釋至 1 mL，製備 5 ppm 之添加標準溶液。
- (4) 標準品添加及萃取槽充填：採用填充吸附劑於萃取槽之線上淨化方式，去除空白甘草不易製備所產生之干擾。由實驗結果可知若填充 2 克矽酸鎂可完全去除干擾。圖 2(a)為系統空白層析圖，圖 2(b)為未填充矽酸鎂之甘草層析圖，圖 2(c)為填充 2 g 矽酸鎂之空白甘草層析圖。故在 10 mL 萃取槽中充填 0.2 g 空白甘草樣品，採取點滴添加法 (spot method) 方式，多點均勻分佈添加 20 μL、5 ppm 之 12 種有機磷農藥標準品，和 60 μL、5ppm Tributylphosphate 前處理內標，再加入 100 μL 之甲醇，靜置 5 分鐘待溶劑揮發，再填充 2 克矽酸鎂(如圖 3)後，進行超臨界流體萃取。
- (5) 處理真實樣品 (SFE)：首先磨粉、過篩，得到顆粒介於 60-80 mesh 間之粉末，取 0.2g 粉末樣品填充至萃取槽，添加前處理內標 Tributylphosphate 5ppm 60 μL，填充 2 g 矽酸鎂淨化吸附劑，再加入 100 μL 之甲醇後，進行超臨界流體萃取。以填充低溫玻璃珠之收集槽收集，再以丙酮沖提，用氮氣濃縮至略少於 1 mL，加入定量內標 Famphur 1 ppm 100μL，以 GC-NPD 定量及 GC/MS 確認。分析流程圖如圖 4a 所示。
- (6) 處理真實樣品 (LLE)：首先磨粉、過篩，得到顆粒介於 60-80 mesh 間之粉

末，取 1 g 粉末樣品至 125 mL 分液漏斗，添加前處理內標 Tributylphosphate 5 ppm 60 μ L，搖晃震盪萃取。以濃縮管收集，用氮氣濃縮至略少於 1 mL，加入定量內標 Famphur 1 ppm 100 μ L，以 GC-NPD 定量及 GC/MS 確認。分析流程圖如圖 4b 所示。

(7) 氣相層析儀-氮磷偵測器(GC-NPD)：HP 5890 Series II。

注射器型式：管端注射法 (on-column)。

載負氣體：氮氣(N₂)，流速 7 mL/min。

補充氣體：氮氣(N₂)，壓力：45.7 psi。

偵測器型式：氮磷偵測器。

注射器溫度：150 °C

偵測器溫度：300 °C。

管柱條件：DB-5 (30 m 長 x 0.25 mm 內徑，0.25 mm 膜厚)

120 $\xrightarrow{6 \text{ ? /min}}$ 190 ? $\xrightarrow{40 \text{ ? /min}}$ 285 ?
(2 min)

燃火氣體與流速：氦氣(He)：3-4 mL/min，

空氣(Air)：100-120 mL/min，

載負氣體+補充氣體：30 mL/min。

圖 5 為 75 ppb 之 12 種有機磷農藥標準品(含內標準品 Tributyl phosphate 300 ppb，Famphur 100 ppb)之 GC-NPD 層析圖。

(8) 氣相層析質譜儀 (GC-MS)：HP 5890 Series II-5972 MSD。

注射器型式：非分流式。

載負氣體：氦氣(He)，流速 2 mL/min。

注射器溫度：200 °C。

偵測器溫度：300 °C。

管柱條件：DB-5 (30 m 長 x 0.25 mm 內徑，0.25 mm 膜厚)

120 $\xrightarrow{5 \text{ ? /min}}$ 180 ? $\xrightarrow{20 \text{ ? /min}}$ 300 ?
(2 min) (3 min)

離子化方式：電子撞擊法(EI)，70eV。

質譜儀：5972 MSD。

圖 6 為 12 種有機磷農藥標準品(含內標準品 Tributyl phosphate 300 ppb，Famphur 100 ppb)之 GC-MS 選擇離子層析圖。濃度分別為(a)1000 ppb，(b)150 ppb。

(9) 製備 GC-NPD 檢量線：取配製溶於丙酮之 12 種有機磷農藥標準品(如圖 5)。

分別以丙酮稀釋，配製成含前處理內標 Tributyl phosphate 300 ppb 及內標準品 Famphur 100 ppb 的一系列不同濃度之檢量標準溶液(150、100、75、50、25、10 和 5 ppb)。用自動注射針分別注射 5 μ L 之各濃度的檢量標準溶液至 GC-NPD，記錄所選擇的波峰，然後繪製待測物相對於內標準品 (Famphur) 之訊號面積相對比值對濃度相對比值的檢量線。利用下式由檢量線之斜率求得各個待測物的感應因子 RF_x (Response Factor)：

$$RF_x = \frac{A_x \times C_{is}}{A_{is} \times C_x}$$

式中 RF_x ：x 待測物之感度因子
 A_x ：x 待測物之面積
 A_{is} ：內標準品之面積
 C_x ：x 待測物濃度(ppb)
 C_{is} ：內標準品濃度(ppb)

- (10)製備 GC/MS 檢量線：取配製溶於丙酮之 12 種有機磷農藥標準品(如圖 6)。分別以丙酮稀釋，配製成含前處理內標 Tributyl phosphate 300 ppb 及內標準品 Famphur 100 ppb 的一系列不同濃度之檢量標準溶液(150、100、75、50、25 和 10 ppb)。用自動注射針分別注射 1 μ L 之各濃度的檢量標準溶液至 GC/MS。用和 GC-NPD 相同的方法製備感應因子。
- (11)空白甘草樣品添加試驗回收率：利用下式計算：

$$\text{回收率 (\%)} = \frac{A_x \times C_{is}}{A_{is} \times C_{sp} \times RF_x} \times 100$$

式中 C_{sp} ：樣品內添加的標準品濃度(ppb)

- (12)真實樣品中有機磷殘留之定量：利用下式求得樣品中待測物的濃度：

$$C_{real} = \frac{A_x \times C_{is} \times V}{A_{is} \times RF_x \times m}$$

式中 C_{real} ：真實樣品中待測物濃度(ng/g)

V ：上 GC 之溶液體積 (mL)

m ：真實樣品之重量(g)

- (13)確認方法：利用 GC/MS 以選擇性離子監測(SIM)方式確認待測物。有機磷農藥所選用之定性及定量離子如表 2 所示。經由 GC/MS-SIM 之確認分析，可避免因基質干擾而產生誤判之情形。

參、結果

- 3-1、收集之相關資料：表 3：有機磷農藥之物理性質⁽²³⁾、表 4：有機磷農藥之毒性值⁽²³⁾、表 5：有機磷農藥之名稱、用途和容許量^(11,24)。
- 3-2、建立方法之相關結果：表 6：修飾劑的種類對萃取回收率(%)之影響、表 7：修飾劑的添加量對萃取回收率(%)之影響、表 8：樣品含水率(%)、表 9：萃取壓力對萃取回收率(%)之影響、表 10：萃取溫度對萃取回收率(%)之影響。
- 3-3、品保及品管相關數據：表 11：有機磷農藥在 DB-5 層析管柱的滯留時間(分鐘)、表 12：有機磷農藥的感應因子及線性迴歸值(R^2)、表 13：儀器偵測極限、表 14：方法偵測極限。
- 3-4、分析真實樣品之相關數據：表 15：中藥材中殘留有機磷農藥的分析結果、獨活之 GC-NPD 層析圖(圖 6)、檀香之 GC-NPD 層析圖(圖 7)、密蒙花之 GC-NPD 層析圖(圖 8)、密蒙花(LLE)之 GC-NPD 層析圖(圖 9)、滋腎明目湯之 GC-NPD 層析圖(圖 10)、當歸之 GC-NPD 層析圖(圖 11a)、當歸(重覆)之 GC-NPD 層析圖(圖 11b)、當歸(添加)之 GC-NPD 層析圖(圖 12a)、當歸(LLE)之 GC-NPD 層析圖(圖 12b)、當歸之 GC/MS-SIM 層析圖(圖 13)。

肆、討論

4-1、尋找 SFE 萃取之最佳化條件

(1)修飾劑種類

由於 CO_2 為非極性物質，為了增加對於極性待測物的萃取，通常會加入極性的溶劑，以增加二氧化碳的極性。修飾劑的功能為：①增加待測物在流體之溶解度。②幫助待測物從基質點脫附。③幫助待測物在基質中的擴散能力。本研究比較添加 100 μL 修飾劑(如乙酸乙酯、水、丙酮、己烷、甲醇)和不加任何修飾劑之萃取效率(表 6)，結果發現無論使用何種極性修飾劑，達馬松、二氯松和亞素靈之回收率，皆趨近於 0。對其他待測物，則以甲醇之回收率最高。由於市售烘乾過之中藥材中含水率介於 1~8 % (表 7)，所添加的甲醇，會修飾萃取流體的溶解度，增加其中 9 種待測物的溶解度，增加最顯著的為三氯松。這結果和文獻上的報導一致⁽²⁵⁾。後續的實驗，因此以二氧化碳加甲醇修飾劑作為萃取流體。修飾劑的添加量對萃取回收率之影響，則如表 8 所示，使用點滴添加法，加入 100、200、300 至 400 μL 不等量的甲醇，100 和 200 μL 之平均萃取回收率較高且相近 (55 %對 53 %)，後續的實驗，因此以二氧化碳加 100 μL 甲醇修飾劑作為萃取流體。添加 300 μL 甲醇時，使用點滴添加法和混漿式添加法，仍以待測物和基質接觸時間較短的點滴添加法的萃取回收率 (52 %) 較高，和混漿式添加法的

萃取回收率 (44 %) 有點差別，但其差異為 8 %，不似有機氯農藥之 v 相差到 20 %⁽²¹⁾，原因是因後者之待測物在基質中滯留時間長，分佈均勻而與基質作用完全，較能模擬基質和待測物之作用情況，不過也因此產生回收率較差的情況。由於各個待測物的萃取回收率皆一致性的降低 (一品松例外)，且後續的尋找 SFE 萃取之最佳化條件，主要在做相對比較，因此後續的實驗，仍使用比較省時、省事的點滴添加法。

(2) 萃取壓力

壓力增加，流體之密度相對變大，溶解度也因而提高 (三氯松之回收率普遍偏高，原因不明，其結果在此不予考慮) 本研究選用 150 atm, 200 atm, 250 atm, 300 atm, 350 atm，將同時考量回收率和基質干擾，以尋找最佳萃取壓力。結果(表 9)發現當壓力上升，回收率明顯上升，至 200 atm 時，回收率達穩定狀態。比較 200、250 及 300 atm 之回收率，及可能之基質干擾，最佳萃取壓力因此設定在 250 atm。

(3) 萃取溫度

在萃取過程中，溫度之改變，除了會影響流體的密度之外，也會影響待測物的揮發性，溫度增加時，待測物更易揮發，但是流體密度減少，將同時考量回收率和基質干擾，以尋找最佳萃取溫度。選用 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C，五點作為變因探討。結果(表 10)顯示，50 °C 時達最大萃取回收率，之後萃取回收率逐漸下降。種待測物的萃取回收率介於 20 % 和 70 % 之間，平均之萃取回收率為 50 %。因此最佳萃取溫度設定在 50°C。

(4) 萃取時間

萃取時間長短會影響萃取效率及流體之選擇性。萃取時間依萃取方法可分為靜態萃取時間及動態萃取時間。靜態萃取時將樣品浸泡於流體之中，使流體、基質、待測物三者之間有充份的時間達成平衡狀態，如此可減少動態萃取時間，以最少量的二氧化碳流體達到最高的萃取效率，另一方面使用極性修飾劑和流體均勻混合，增加修飾劑對於基質、待測物的作用時間。動態萃取方法為系統不斷提供乾淨的二氧化碳流體通過萃取槽，使待測物在流體中一直保持未飽和狀態，以增加待測物溶於流體之機會。大致而言，萃取時間愈長，使用流體的體積愈多，萃取效率愈好，不過萃取流體有最大體積之限制。在上年度的研究中⁽²¹⁾，發現萃取時間會影響回收率，但影響不似修飾劑、萃取壓力、萃取溫度之顯著。本研究因此選用相同之最佳靜態萃取時間設定在 5 分鐘，最佳動態萃取時間設定在 20 分鐘。

(5) 吸附劑種類及數量

萃取組成複雜的樣品，往往不可避免基質干擾的困擾。傳統的索氏萃取法，萃取液因此必須流過淨化管柱，以去除干擾，不僅耗時且費力，在超臨界

流體萃取法中對於複雜樣品的基質干擾，可用線上淨化方式，同步完成萃取淨化，以減少分析時間。線上淨化方式有二種方式：其一為在收集槽中填充吸附劑，如：矽酸鎂、C₁₈、矽膠. . 等，利用不同極性沖提液，以類似固相萃取法方式去除干擾，另一種方式則於萃取槽中，樣品上層填充吸附劑。兩者主要差別在於前者以固相萃取法原理，利用吸附劑、干擾物、待測物及沖提之有機溶劑，彼此間的交互關係，以去除干擾，而後者則利用干擾物、待測物對於吸附劑、二氧化碳（加上修飾劑）流體之競爭能力不同，以去除干擾。填充 2 g 之矽酸鎂、C₁₈、矽膠吸附劑於萃取槽，以去除干擾，結果(圖 7)顯示，各種吸附劑減少基質干擾的效果相似(圖 7a, 7b, 7c)，皆較未使用吸附劑為佳(圖 7d)。考慮上年度的結果為填充矽酸鎂的效果最好⁽²¹⁾，最佳線上淨化吸附劑因此設定為 2 g 矽酸鎂。

(7)綜合上述實驗結果，最適化之萃取條件為：

①萃取系統

流體：純二氧化碳流體。

修飾劑：甲醇，100 μL。

萃取壓力：250 atm。

萃取溫度：50°C。

靜態萃取時間：5 min。

動態萃取時間：20 min。

淨化系統：填充 2 g 矽酸鎂於萃取槽之線上淨化方式。

萃取槽：10 mL，不銹鋼材質(內徑 1 公分，長度 11 公分)。

②收集系統

限流器溫度：80°C。

收集器填充物：0.5 g 玻璃珠，(140~270 mesh，購自 Sigma Chemical Co., Louis, USA.)。

收集器溫度：-30°C。

沖提溫度：30°C。

沖提溶劑：丙酮 6 mL，流速 1 mL/min。

4-2、品保品管

(1)12 種有機磷農藥的滯留時間、檢量線、感應因子及線性迴歸值

取配製溶於丙酮之 12 種有機磷農藥標準品，分別以丙酮稀釋，配製成含前處理內標 Tributylphosphat (300 ppb)及內標準品 Famphur (100 ppb)的一系列不同濃度之檢量標準溶液(GC-NPD 為 150、100、75、50、25、10 和 5 ppb；GC/MS 為 150、100、75、50、25 和 10 ppb)。用自動注射針分別注射 5 μL (或 1 μL)之各濃度的檢量標準溶液至 GC-NPD (或 GC/MS)，記錄所選擇的波峰

之滯留時間。其滯留時間(表 11)所示,同一批次樣品之待測物,其滯留時間(包括前處理內標)的再現性皆在 2 秒之內。然後繪製待測物相對於內標準品之訊號面積相對比值,對濃度相對比值的檢量線。12 種有機磷農藥的感應因子以及及線性迴歸值,如表 12 所示。比較線性迴歸值,GC-NPD 檢量線中的達馬松(0.957)、二氯松(0.909)、三氯松(0.988)、亞素靈(0.971)小於 0.995;GC/MS 檢量線中的二氯松(0.993)、三氯松(0.825)、滅賜松(0.992)低於 0.995;兩部儀器皆得到較差結果者為二氯松和三氯松,這可能和三氯松不穩定,遇水易分解為二氯松有關,這可從 GC/MS 選擇離子層析圖(圖 6)不同濃度之 12 種有機磷農藥標準品,(a)1000 ppb,(b)150ppb,在 3.77 分鐘(二氯松)和 7.40 分鐘(三氯松)之波峰強度的改變而看出。分析時必須嚴格控制二氯松和三氯松的檢量線,以避免定量誤差。在分析每批次樣品前宜先以以檢量線的中間濃度標準品,查核檢量線之適用性,若測定值與原來檢量線之偏差在 $\pm 20\%$ 之內,則可繼續使用此檢量線,反之則必須重新製備檢量線。

(2) 儀器偵測極限與方法偵測極限

儀器偵測極限之測定方法,為配製高濃度至低濃度的標準溶液,注入 GC-NPD (或 GC/MS),當檢量線斜率不呈線性而出現明顯轉折點,此點之相對濃度即為儀器偵測極限,表 13 為儀器偵測極限。表 14 為依此估算之方法偵測極限。約在 0.25 ppm,未來若有降低方法偵測極限之需要,可先減少濃縮液之體積,從現有之 1 mL 減至 0.1 mL,或使用較多的樣品量,如從現有之 0.2 增至 1g。當可降低方法偵測極限至低於 0.1 ppm(註:達馬松、二氯松及亞素靈不適合用此方法分析)。

(3) 精密度及準確度

由於有機磷農藥受到真實樣品之基質干擾情形,非常普遍(見 4.3、真實樣品分析段)。因此精密度及準確度,以真實樣品中用 GC-NPD 有測到疑似亞素靈之當歸的結果來說明(表 15),4 次重複分析疑似亞素靈的結果為 6.15 ± 1.25 ,精密度約在 20%左右。準確度以添加分析亞素靈的結果來推算,非常不理想,應是本方法不適用於亞素靈之故。若以適用之 9 種有機磷農藥在當歸和空白(即甘草)樣品中的添加分析結果結果為 $92\% \pm 54\%$,推算準確度約為 92%,介於 38%至 146%間。

(4) 添加試驗

為確定真實樣品中基質的干擾程度,須進行添加試驗。除此外,添加試驗也可確認待測物用。選用當歸真實樣品(GC-NPD 層析圖如圖 13a),進行添加試驗,添加 5 ppm 20 μ L 的 12 種有機磷農藥標準品,GC-NPD 層析圖結果如圖 14a,回收率結果如表 15。和甘草空白的結果一併考量,顯示使用

此方法所得萃取物，基質干擾程度除較早流出的數個待測物外，皆比較輕微。

(5) 重覆試驗

選用當歸作為重覆試驗之真實樣品，重覆 4 次，結果如表 15 所示，相對標準偏差約在 20 % 左右。

4-3、真實樣品分析

(1) 市售 36 種單方生藥材之分析

分析市售 36 種單方生藥材，包括單方生藥材：茯苓、黨參(*Codonopsis Radix*)、當歸 (*Ligustici Radix*)、牛膝(*Radix Achyranthis Bidentatae*)、獨活(*Radix Angelicae Pubescentis*)、三七、川芎(*Rhizoma Chuanxiong*)、山藥、蒼朮(*Rhizoma Atractylodis*)、知母、澤瀉(*Rhizoma Alismatis*)、竹茹(*Caulis Bambusae in Taeniam*)、桑枝、檀香(*Santali Lignum*)、大薊(*Cirsii Japonici Herba*)、鉤藤(*Uncaria hirsuta Haviland*)、五加皮(*Cortex Acanthopanax*)、厚朴(*Cortex Magnoliae Officinalis*)、地骨皮(*Lycii Radicis Cortex*)、秦皮(*Cortex Fraxini*)、杜仲、茵陳蒿(*Artemisiae Capillaris Herba*)、枇杷葉(*Folium Erobotryae*)、番瀉葉 (*Sennae Folium*)、石南藤、艾葉、密蒙花(*Buddleiae Flos*)、款冬花(*Flos Farfarae*)、芫花(*Daphnis Genkwae Flos*)、丁香(*Caryophylli Flos*)、金銀花(*Flos Lonicerae*)、白果(*Ginkgo Semen*)、芡實、牛蒡子、山梔子(*Gardeniae Fructus*)、五味子共 36 種。結果發現部份樣品，如獨活、檀香和當歸遭受有機磷農藥污染，如表 15 所示，主要以當歸中的亞素靈比較嚴重。其餘測值皆靠近方法偵測極限。未測到殘留有機磷農藥的真實樣品，則以密蒙花為代表，一併討論於下。

① 獨活、檀香、密蒙花

獨活中測到 0.1 ppm 的大滅松、大利松和一品松，檀香中則測到 0.2 ppm 的大利松，其 GC-NPD 層析圖分別如圖 8 和圖 9。除了所標示的數個譜峰外，仍有許多譜峰，是含氮之組成（因所使用之氮磷偵測器會偵測到含或氮磷之化合物）或是其他種的殘留有機磷農藥，不得而知。推估其量不高，因此未再做進一步確認。密蒙花樣品則是未測到殘留的有機磷農藥（圖 10），使用液液萃取（LLE）所得到的 GC-NPD 層析圖，如圖 11，在約 10 分鐘處，有根強的譜峰，但不是待測物，前處理內標準品 tributyl phosphate 則不見。實驗時觀察到，液液萃取的萃液常呈現不同之顏色，但超臨界萃取的萃液則大都是無色，表示超臨界萃取對有機磷農藥的選擇性較高。

② 當歸

當歸中受到疑似亞素靈的嚴重污染，平均濃度約為 6.2 ppm。真實樣品和其重覆分析樣品之 GC-NPD 層析圖，如圖 13a 和 13b 所示，顯示添加之亞素靈和疑似亞素靈污染物的滯留時間相近（圖 14a）。使用液液萃取（LLE）所得到的 GC-NPD 層析圖，如圖 14b，亦顯示顯示添加之亞素靈和疑似亞素靈污染物的滯留時間一樣。然而這和在前述找尋最適化條件時，對亞素靈的萃取回收率很低之結果不一致。因此進一步以 GC/MS-SIM 確認（用 m/z 127），圖 15 為當歸之 GC/MS-SIM 層析圖，在 12.03 分鐘處，並無亞素靈的譜峰出現，說明用 GC/MS-SIM 確認的助益。

(2) 市售 4 種複方中藥材之分析

選用補中益氣湯、龍膽瀉肝湯、小柴胡湯、滋腎明目湯。共 4 種複方中藥材，作為成品分析之樣品。所含單方生藥材種類如下：①補中益氣湯：人參、白朮、黃耆、當歸、大棗、陳皮、柴胡、甘草、生薑、升麻；②龍膽瀉肝湯：龍膽、黃芩、山梔子、澤瀉、木通、前車子、生地黃、當歸、柴胡、甘草；③小柴胡湯：柴胡、黃芩、人參、甘草、生薑、半夏、大棗；④滋腎明目湯：川芎、當歸、芍藥、熟地黃、生地黃、人參、桔梗、梔子、白芷、黃連、菊花、甘草、蔓荊子、茶葉、燈心草。皆未測到殘留之有機磷農藥。圖 12 為代表性的滋腎明目湯之 GC-NPD 層析圖，在分析時窗間（1 至 15 分鐘），未看到任何譜峰，表示所採用的單方生藥材未含有機磷農藥，或是即使存在有機磷農藥，在製備科學中藥的過程，也會被清除掉。從分析單方生藥材的結果來看，前者的可能性比較高。

伍、結論與建議

- 1、本研究建立超臨界二氧化碳流體萃取-線上淨化-附氮磷偵測器氣相層析儀偵測方法，分析中藥材中 12 種殘留微量有機磷農藥達馬松 (methamidophos)、大利松 (diazinon)、巴拉松 (parathion)、一品松 (EPN)、亞素靈 (monocrotophos)、馬拉松 (malathion)、滅賜松 (demeton)、甲基巴拉松 (parathion methyl)、二氯松 (dichlorpvos)、三氯松 (trichlorfon)、愛殺松 (Ethion) 和大滅松 (dimethoate) 等 12 種有機磷農藥之殘留量。
- 2、探討修飾劑種類及數量、萃取壓力、萃取溫度、吸附劑種類等變因作為最適化萃取條件之探討，結果以純二氧化碳流體，100 μ L 甲醇修飾劑，萃取壓力 250 atm、萃取溫度 50°C、靜態萃取時間 5 min、動態萃取時間 20 min、填充 2 g 矽酸鎂之線上淨化方式為最適化萃取條件。
- 3、本方法適用於分析大利松 (diazinon)、巴拉松 (parathion)、一品松

- (EPN)、馬拉松 (malathion)、滅賜松 (demeton)、甲基巴拉松 (parathion methyl)、三氯松 (trichlorfon)、愛殺松 (Ethion) 和大滅松 (dimethoate) 等，但不適用於達馬松 (methamidophos)、二氯松 (dichlorpvos)、及亞素靈 (monocrotophos)。分析時必須嚴格控制二氯松和三氯松的檢量線，以避免定量誤差。本方法具有簡易、快速、溶劑及樣品用量少之優點。
- 4、方法偵測極限約為 0.25 ppm，回收率介於 20 ~ 70%。本方法具有簡易、快速、溶劑及樣品用量少之優點。未來若需降低方法偵測極限，可從減少濃縮液之體積，或使用較多的樣品量，降低方法偵測極限至低於 0.1 ppm。使用本方法可快速、方便分析中藥材中有機磷農藥殘留，但不適用於部分有機磷農藥，實用性有待商榷。
 - 5、分析市售 36 種單方生藥材及 4 種複方中藥材，其中之有機磷農藥殘留量皆低於方法偵測極限。以當歸為例，GC-NPD 分析為陽性之樣品，為防止假陽性結果，最好再以 GC/MS 進行確認。
 - 6、人經常長時間服用中藥材，若其中有有機磷農藥殘留，將會進入人體之中，危害人體健康。由於高單價之中藥材，野外已近枯竭，市面所見幾乎是全為人工栽培，在栽培過程中，多會使用農藥，中藥材中很有可能殘留有有機磷農藥。然從初步調查結果及考量有機磷農藥之半衰期短，建議未來抽檢市售中藥材中殘留有有機磷農藥，以新鮮藥材為優先。

陸、參考文獻

1. 陳奇主編，中藥名方藥理與應用，台北南天書局，1993.
2. 林景彬，林宗旦著，中藥製劑學，合記圖書出版社，1995.
3. 張麗卿，許順吉，中藥製劑安中散之定量研究，藥物食品分析，1993, 1(2):183-189.
4. Ma X, Yu X, Zheng Z, Mao J. Analytical Supercritical Fluid Extraction of Chinese Herbal Medicine, Chromatographia, 1991, 32(1-2):41-44.
5. 顧祐瑞，中藥濃縮劑製程中微生物污染之探討，藥物食品分析，1994, 2(1):49-62.
6. Teng JH, Wang TL, Lin WC, Chen MT, Chen ZS Investigation on Four Heavy Metal Constituents of Commercial Restorative Chinese Medicines, J. Food and Drug Analysis, 1995, 3(3):193-201.
7. 田明，揭開人蔘神祕面紗，允晨文化，1995.
8. Chau SY, Afghan BK, Analysis of Pesticides in Water, CRC press, Inc. Boca Raton, Florida, Vol. I, 2-5, 1982.

9. 「農藥成分使用方法及使用範圍一覽表」，台灣省政府農林廳編印，77年6月。
10. 「飲用水水源水質標準」，行政院環境保護署，86年9月24日，(86)環毒字第56075號。
11. 環境科學大辭典，中國環境科學出版社，1993。
12. 日本管制進口中藥材之要求。
13. 袁藹之、王敏娟、余洪、陳鶴鑫、虞云龍，慶余腎氣丸、複方丹參片中有機磷農藥多殘留分析方法的研究，中成藥，1994，16(9):38-39。
14. 華生、李桂藝、張敬水，藥材的農藥殘毒及其控制，基層中藥雜誌，1992，6(1):31-32。
15. Gillespie AM, . Daly SL, Multicolumn Solid-Phase Extraction Clean-up of Organosphorus and Organochlorine Pesticide Residues in Vegetable-oil and Butter Fat, 1995, JAOAC, 78(2): 431-437.
16. Lafleur AL, Pangaro AL, Artefact Formation in the Soxhlet Extraction of Environmental Sample with Acetone, Anal. Lett. A, 1981, 14(19):1613-1624.
17. 林新發，廖俊雄，陳健忠，凌永健，”超臨界流體萃取和潔淨科技(上)” ，科儀新知，1995，17(2):50-58。
18. 林新發，廖俊雄，陳健忠，凌永健，”超臨界流體萃取和潔淨科技(下)” ，科儀新知，1995，17(3):82-92。
19. Ling YC, . Liao JH, Matrix Effect on Supercritical Fluid Extraction of Organochlorine Pesticides from Sulfur-containing Soils, J. Chromatogr. A, 1996, 754:285-294.
20. Ling YC, Teng HC, Supercritical Fluid Extraction and Clean-up of Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls from Mussels, J. Chromatogr. A, 1997, 754(1/2): 285-294.
21. Ling YC, Teng HC, Supercritical fluid extraction and clean-up of organochlorine pesticides in Chinese herbal medicine, J. Chromatogr. A, 1999, 835(1-2): 145-157.
22. 張永勳，常用中藥三百種。<http://www2.cmc.edu.tw/~epc/her.htm>. 1999
23. <http://www.chemfinder.com> 1999.
24. 「殘留農藥安全容許量」，行政院衛生署，88年4月27日，衛生署衛食字第八八〇二七〇七一號公告增列。
25. Nemoto S, Sasaki K, Toyoda M, Saito Y, Effect of Extraction Conditions and Modifiers on the Supercritical Fluid Extraction of 88 Pesticides, J. Chromatogr. Sci., 1997, 35: 467-477.

表1、中藥材來源及用途⁽²²⁾

總類	中藥材	來源	用途 ⁽²²⁾
根類	茯苓	湖北、雲南、貴州	利尿藥
	黨參	山西、河北、陝西	健脾胃藥
	當歸	四川、甘肅、雲南	降血脂藥
	牛膝	四川、河南、山西	活血祛瘀藥
	獨活	湖北、四川、浙江	抗風濕藥
	三七	雲南、廣西	抗冠心病藥
根莖類	川芎	四川、江西、貴州	抗冠心病藥
	山藥	河南、湖北、山西	強壯藥
	蒼朮	浙江、江蘇、湖南	芳香化濕藥
	知母	河北、山西、東北	清熱瀉火藥
	澤瀉	四川、福建、陝西	降血脂藥
莖木類	竹茹	南方各省	化痰藥
	桑枝	江蘇、浙江、湖北	—
	檀香	印度、馬來西亞	行氣止痛藥
	大薊	我國各地均產	降膽固醇藥
	鉤藤	廣西、四川、雲南	降血壓藥
皮類	五加皮	湖北、河南、四川	抗風濕藥
	厚朴	四川、陝西、湖南	芳香化濕藥
	地骨皮	我國南北各省	降血糖藥
	秦皮	陝西、河南、遼寧	抗菌消炎藥
	杜仲	四川、雲南、貴州	降血壓藥
葉類	茵陳蒿	陝西、山西、安徽	利水道藥
	枇杷葉	廣東、湖北、四川	化痰藥
	番瀉葉	印度	瀉藥
	石南藤	安徽、江蘇、甘肅	祛風藥
	艾葉	全國大部地區	溫經止血藥
花類	密蒙花	湖北、四川、雲南	祛翳障藥
	款冬花	河南、陝西、甘肅	止咳平喘藥
	芫花	長江流域以南、山東	止瀉藥
	丁香	廣東、廣西	止痛藥
	金銀花	河南、山東	抗菌消炎藥
果實及種子類	白果	四川、湖北、江西	定痰哮喘藥
	芡實	江蘇、湖北、湖南	—
	牛蒡子	四川、湖北、河北	傷風感冒藥
	山梔子	江西、浙江、福建	抗菌消炎藥
	五味子	遼寧、吉林、內蒙古	降血壓藥
複方科學濃縮製劑	補中益氣湯	台灣	健裨補氣藥
	龍膽瀉肝湯	台灣	瀉肝火藥
	滋腎明目湯	台灣	明目清熱藥
	小柴胡湯	台灣	胃腸炎藥

表 2、有機磷農藥選擇離子偵測用之定性及定量離子

有機磷農藥	定量離子 (m/z)	定性離子 (m/z)	定量離子/定性離子
Methamidophos	94	95	1.83±11 ^a
Dichlorvos	109	185	3.85±4
Trichlorfon	79	109	1.88±20
Demeton	88	89	1.55±5
Tributyl phosphate	99	155	9.90±7
Monocrotophos	127	67	4.36±11
Dimethoate	87	93	1.50±7
Diazinon	137	179	1.87±11
Methyl parathion	109	125	1.10±4
Malathion	173	125	0.62±6
Parathion	97	109	1.14±4
Ethion	231	97	0.69±5
Famphur	218	93	1.87±5
EPN	157	169	2.35±15

^a±11 表示由六種不同濃度之檢量線所求得的百分相對標準偏差為 11。

表 3、有機磷農藥之物理性質⁽²³⁾

農藥名稱	半衰期 (days)	沸點 (°C)	熔點 (°C)	水中溶解度
Methamidophos	--	--	44.5	2 X 10 ⁶
Dichlorvos	--	140	-60	微溶 1 g/100 mL
Trichlorfon	--	100	83	微溶 1-5 g/100 mL
Demeton	--	134 at 2 mmHg	-25	不溶
Tributyl phosphate	--	289	-80	0.10 g/100 mL
Monocrotophos	1.3-3.4	54-55	55	----
Dimethoate	0.9-7.2	--	52	難溶
Diazinon	0.4-5.3	84	--	4 mg/L
Methyl parathion	0.1-13.9	--	38	50 mg/L
Malathion	0.3-10.9	157	2.9	145 mg/L
Parathion	0.2-7.3	160	6	不溶
Ethion	2.3-10.5	--	-13	微溶
Famphur	--	--	--	--
EPN	0.6-7.0	--	36	不溶

表 4、有機磷農藥之毒性值⁽²³⁾

農藥名稱	LD ₅₀ (mg/kg)
Methamidophos	--
Dichlorvos	70
Trichlorfon	--
Demeton	2.5-6.2
Tributyl phosphate	3.0
Monocrotophos	13-23
Dimethoate	300-500
Diazinon	15-600
Methyl parathion	14
Malathion	4000
Parathion	13
Ethion	13
Famphur	--
EPN	35-45

表5、有機磷農藥之名稱、用途和容許量^(11, 24)

國際普通名稱	大陸普通名稱 ¹¹	國內普通名稱 ²⁴	作物類別 ²⁴	容許量(ppm) ²⁴	備註 ²⁴	FAO/WHO 日容許攝入量(mg/kg) ¹¹
Methamidophos	---	達馬松	乾豆類 包葉菜類 根菜類 核果類 米類 小葉菜類 果菜類 瓜菜類 豆菜類 柑桔類	0.03 0.5 0.1 0.2 0.5 0.5 0.5 0.5 0.5 0.5	殺蟲劑	---
Dichlorpvos	敵敵畏	二氣松	根菜類 包葉菜類 小葉菜類 果菜類 瓜菜類 蕈菜類 豆菜類 茶類	0.1 0.5 0.5 5 0.5 5 0.5 2.0	殺蟲劑	0.004
Trichlorfon	敵百虫	三氣松	茶類	2.0	殺蟲劑	0.01
Demeton-s-methyl	甲基內吸磷 甲基-O 五九	滅賜松	根菜類 柑桔類 甘蔗類	0.1 0.5 0.1	殺蟲劑	0.005
Monocrotophos	久效磷	亞素靈	米類	0.02	殺蟲劑	0.006
Dimethoate	樂果	大滅松	核果類 柑桔類	1.0 2.0	殺蟲劑	2.5
Diazinon	---	大利松	米類 小葉菜類 包葉菜類 大漿果類 小漿果類 梨果類	0.1 0.5 0.5 1.0 0.5 1.0 0.2	殺蟲劑	---

			瓜菜類 果菜類 豆菜類 根菜類 蕈菜類 茶類	0.2 0.2 0.1 0.2 2.0		
Methyl parathion	甲基對硫磷 甲基一六〇五	甲基巴拉松	米類 雜糧類	0.5 0.5	殺蟲劑	0.001
Malathion	馬拉硫磷	馬拉松	米類 瓜菜類 大漿果類 包葉菜類 小葉菜類 豆菜類 柑桔類 果菜類 蕈菜類 乾豆類 甘蔗類	0.1 1.0 1.0 2.0 2.0 2.0 1.0 2.0 0.5 0.5	殺蟲劑	0.2
Parathion	對硫磷 一六〇五 E605	巴拉松	---	---	殺蟲劑	0.005
Ethion	乙硫磷 一二四〇 蚜滿立死 益賽昂	愛殺松	柑桔類 小漿果類 果菜類	3.0 0.5 0.5	殺蟲劑	0.005
EPN	苯硫磷 伊皮恩	一品松	米類 雜糧類 乾豆類	0.5 0.5 0.1	殺蟲劑	---
Tamaron	甲氨磷	---	---	不能用 在蔬菜 、茶葉 和果樹 上	殺蟲劑	---

表 6、修飾劑的種類對萃取回收率(%)之影響

	乙酸乙酯	水	丙酮	己烷	甲醇
Tributylphosphate	13	0	25	0	89
methamidphos	2	0	2	3	2
dichlorvos	6	3	4	0	4
trichlorfon	50	0	38	19	65
demeton	31	23	14	11	52
monocrotophos	5	0	10	0	1
dimethoate	13	0	10	0	38
Diazinon	34	0	26	14	63
methyl parathion	28	26	25	16	47
malathion	44	0	29	17	72
parathion	30	22	22	14	49
ethion	77	45	49	48	72
EPN	24	11	17	15	39

註：萃取壓力 250 atm，萃取溫度 50 °C，靜態萃取時間 5 分鐘，動態萃取時間 20 分鐘。

表 7、樣品含水率(%)

樣品	含水率 ^a (%)
甘草	7.9
番瀉葉	1.9
密蒙花	1.2
白果	2.1
當歸	2.2
五加皮	3.9
川芎	1.8
檀香	4.0
滋腎明目湯	4.7

^a 約 10 g 重的樣品，在 100°C 烘乾 24 小時，達恆重後，所損失之重量。

表 8、修飾劑的添加量對萃取回收率(%)之影響

農藥名稱	100 μ L (點滴添加)	200 μ L (點滴添加)	300 μ L (點滴添加)	300 μ L (混漿式添加)	400 μ L (點滴添加)
methamidphos	2	2	2	1	2
dichlorvos	4	8	6	2	0
trichlorfon	65	75	128	93	113
demeton	52	27	23	21	18
monocrotophos	1	13	10	8	11
dimethoate	38	19	24	22	21
Diazinon	63	61	45	37	40
methyl parathion	47	28	38	35	33
malathion	72	93	65	52	48
parathion	49	67	33	31	28
ethion	72	79	73	61	60
EPN	39	25	35	40	37

註：萃取壓力 250 atm，萃取溫度 50 °C，靜態萃取時間 5 分鐘，動態萃取時間 20 分鐘。

表 9、萃取壓力對萃取回收率(%)之影響、

農藥名稱	150	200	250	300	350
Methamidphos	9	8	11	5	8
Dichlorvos	16	37	23	7	37
Trichlorfon	129	193	267	52	193
Demeton	74	19	30	23	19
Monocrotophos	0	0	1	0	0
Dimethoate	0	70	41	19	70
Diazinon	0	31	28	49	31
Methyl parathion	36	63	88	48	63
Malathion	0	37	36	68	37
Parathion	73	39	53	50	39
Ethion	91	87	97	95	87
EPN	18	22	50	42	22

註：萃取溫度 50 °C，靜態萃取時間 5 分鐘，動態萃取時間 20 分鐘。

表 10、萃取溫度對萃取回收率(%)之影響

農藥名稱	30 °C	40 °C	50 °C	60 °C	70 °C
Methamidphos	1	1	2	0	0
Dichlorvos	3	5	4	11	0
Trichlorfon	19	55	49	49	40
Demeton	17	18	17	14	20
Monocrotophos	4	3	1	0	0
Dimethoate	2	8	38	4	5
Diazinon	19	31	63	15	18
Methyl parathion	21	30	47	17	19
Malathion	27	42	72	17	18
Parathion	21	35	49	16	20
Ethion	57	69	72	63	63
EPN	23	32	39	18	21

註：萃取壓力 250 atm，靜態萃取時間 5 分鐘，動態萃取時間 20 分鐘。

表 11、有機磷農藥在 DB-5 層析管柱的滯留時間(分鐘)^a

農藥名稱	GC-NPD	GC/MS
	平均滯留時間±SD	平均滯留時間±SD
Methamidophos	1.87±0.00	3.46±0.025
Dichlorvos	1.98±0.01	3.75±0.004
Trichlorfon	3.77±0.01	7.66±0.007
Demeton	5.67±0.01	10.60±0.004
Tributylphosphate	6.19±0.01	11.29±0.003
Monocrotophos	6.74±0.02	12.03±0.017
Dimethoate	7.26±0.02	12.85±0.005
Diazinon	8.48±0.00	14.56±0.005
Methyl parathion	9.67±0.01	16.54±0.024
Malathion	10.97±0.00	18.40±0.002
Parathion	11.20±0.01	18.64±0.003
Ethion	13.36±0.01	21.20±0.001
Famphur	13.52±0.01	21.44±0.001
EPN	14.00±0.02	22.20±0.001

^a由六種不同濃度之檢量線所求得的

表 12、有機磷農藥的感應因子及線性迴歸值(R²)

有機磷農藥	GC-NPD		GC/MS	
	感應因子	R ²	感應因子	R ²
Tributylphosphate ^a	0.0056	0.997	0.0719	0.999
Methamidphos	0.0083	0.957	0.0446	0.996
Dichlorvos	0.0141	0.909	0.0979	0.993
Trichlorfon	0.0014	0.988	0.0005	0.825
Demeton	0.0103	0.999	0.0256	0.992
Monocrotophos	0.0064	0.971	0.0190	0.998
Dimethoate	0.0130	0.995	0.0219	0.998
Diazinon	0.0060	0.999	0.0061	1.000
Methyl parathion	0.0123	0.997	0.0107	0.995
Malathion	0.0092	0.999	0.0068	0.995
Parathion	0.0100	0.998	0.0049	0.999
Ethion	0.0179	0.999	0.0061	0.999
EPN	0.0117	0.999	0.0060	0.995

^a Tributylphosphate 標準溶液濃度，GC-NPD 為 100、150、200、250、300、400 ppb，GC/MS 為 100、150、200、250、300、350 ppb

表 13、儀器偵測極限(ppb)

有機磷農藥	GC-NPD ^a	GC/MS-SIM ^b
Methamidphos	25	10
Dichlorvos	25	10
Trichlorfon	50	25
Demeton	10	10
Monocrotophos	50	10
Dimethoate	10	10
Diazinon	10	10
Methyl parathion	10	10
Malathion	10	10
Parathion	10	10
Ethion	10	10
EPN	10	10

^a 標準溶液濃度為 5，10，25，50，75，100，150 ppb

^b 標準溶液濃度為 10，25，50，75，100，150 ppb

表 14、方法偵測極限(ppb)

有機磷農藥	GC-NPD ^a	GC/MS-SIM ^b
Methamidphos	NA ^c	NA ^c
Dichlorvos	NA ^c	NA ^c
Trichlorfon	1.25	0.125
Demeton	0.25	0.05
Monocrotophos	NA ^c	NA ^c
Dimethoate	0.25	0.05
Diazinon	0.25	0.05
Methyl parathion	0.25	0.05
Malathion	0.25	0.05
Parathion	0.25	0.05
Ethion	0.25	0.05
EPN	0.25	0.05

^a 由表 13 之 GC-NPD 儀器偵測極限 x 5 μ L / 0.2 g 求得

^b 由表 13 之 GC/MS 儀器偵測極限 x 1 μ L / 0.2 g 求得

NA^c 本方法並不適用

表 15：中藥材中殘留有機磷農藥的分析結果(濃度單位，ppm)

農藥名稱	獨活	檀香	當歸	當歸	當歸 (重覆)	當歸	當歸 ^a (添加)	空白	空白 ^a (添加)
Methamidphos	ND	ND	0.3 ^b	ND	ND	0.3 ^b	0	ND	0
Dichlorvos	ND	ND	0.4 ^b	0.5 ^b	1.8 ^b	ND	0	ND	0
Trichlorfon	ND	ND	ND	ND	ND	0.3	250	ND	50
Demeton	ND	ND	ND	ND	ND	ND	150	ND	50
Monocrotophos	ND	ND	7.6 ^b	7.2 ^b	4.8 ^b	5.0 ^b	0	ND	0
Dimethoate	(0.1) ^c	ND	ND	0.3	(0.1) ^c	ND	50	ND	0
Diazinon	(0.1) ^c	(0.2) ^c	ND	ND	ND	ND	50	ND	100
Methyl parathion	ND	ND	ND	0.3	ND	ND	150	ND	100
Malathion	ND	ND	ND	ND	ND	(0.1) ^c	50	ND	100
Parathion	ND	ND	ND	ND	ND	(0.1) ^c	100	ND	100
Ethion	ND	ND	ND	(0.2) ^c	ND	0.1	50	ND	100
EPN	(0.1) ^c	ND	ND	(0.1) ^c	ND	0.4	50	ND	50

^a 添加濃度為 5 ppm 40 μ L，以%回收率表示。

^b 不適合用本方法分析

^c 低於方法偵測極限

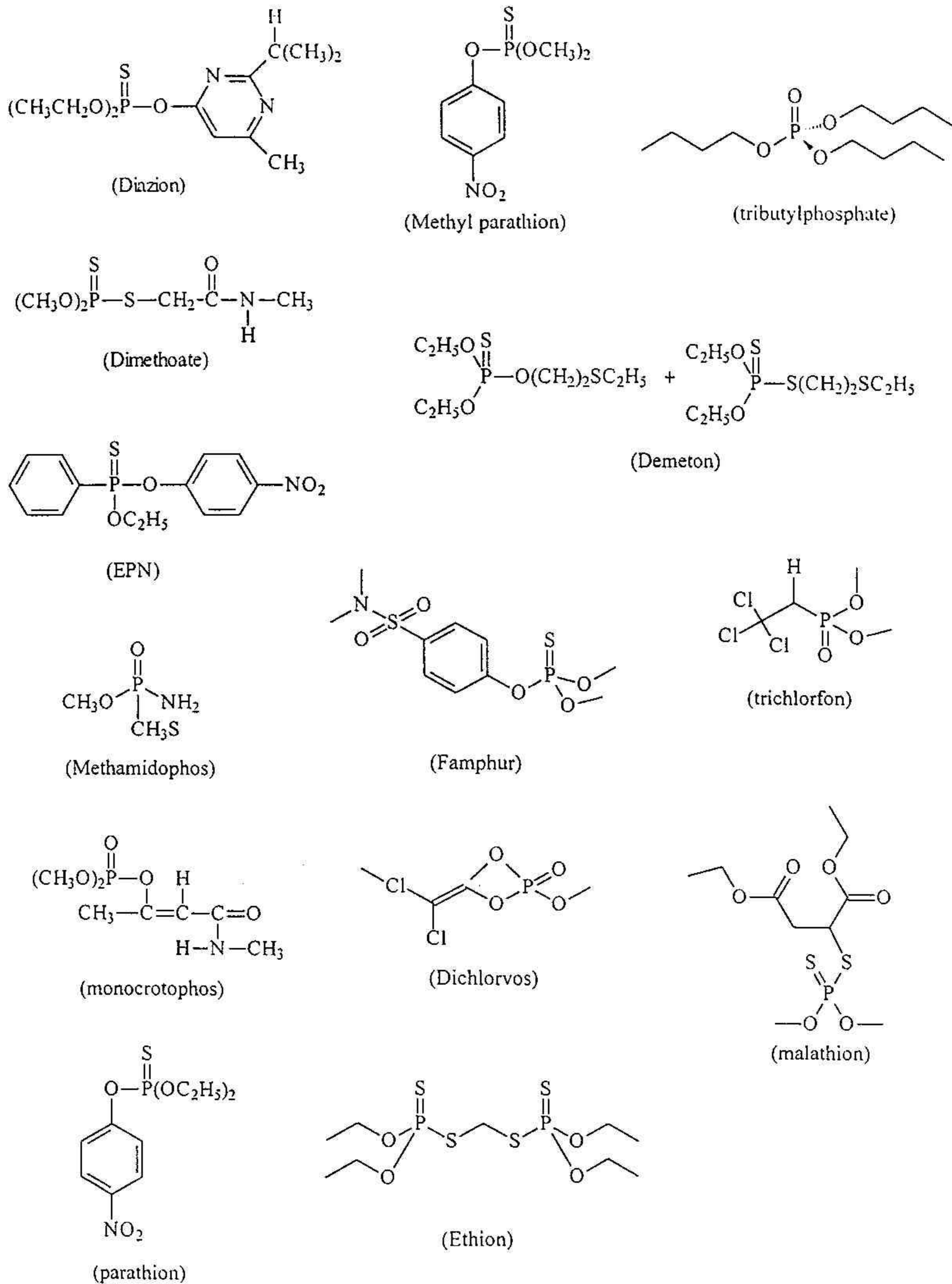


圖 1 12 種有機磷農藥待測物及 2 種內標準品之化學結構圖

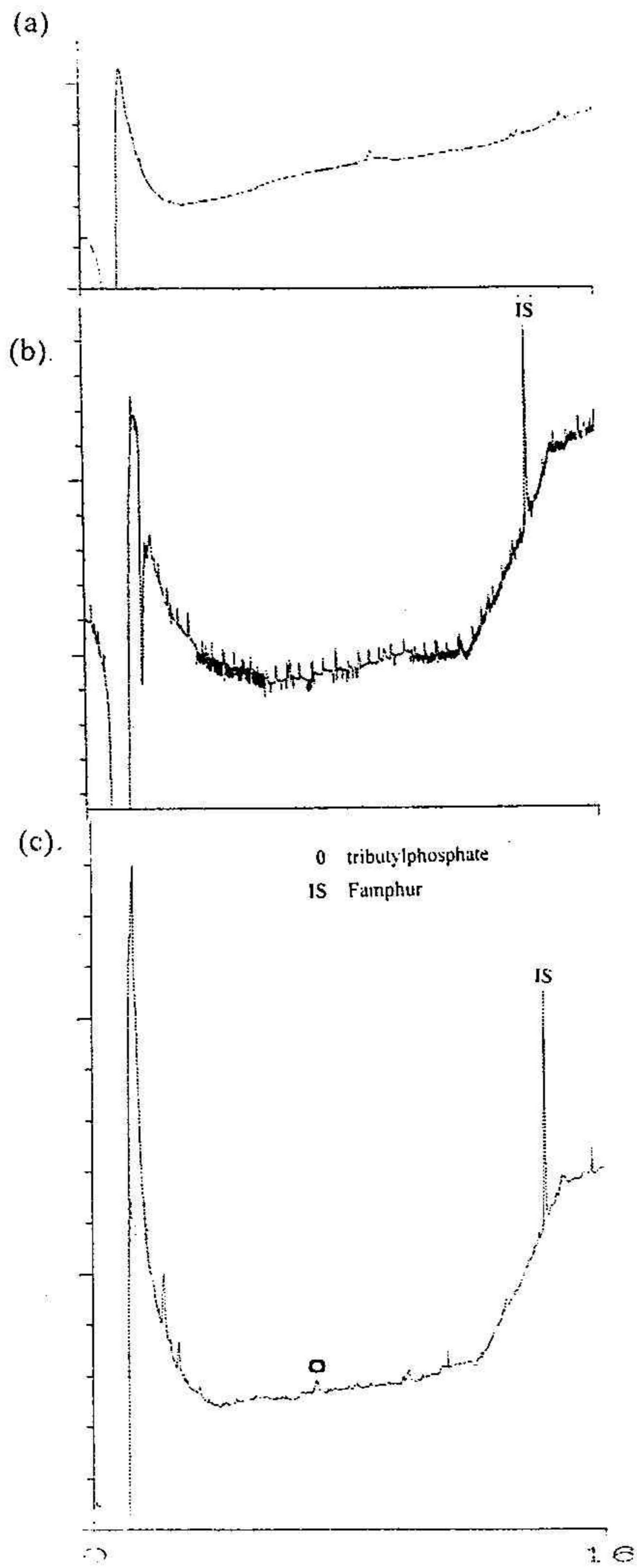


圖 2 GC-NPD 層析圖：(a)系統空白，(b)未填充矽酸鎂之甘草，
(c)填充 2 g 矽酸鎂之空白甘草

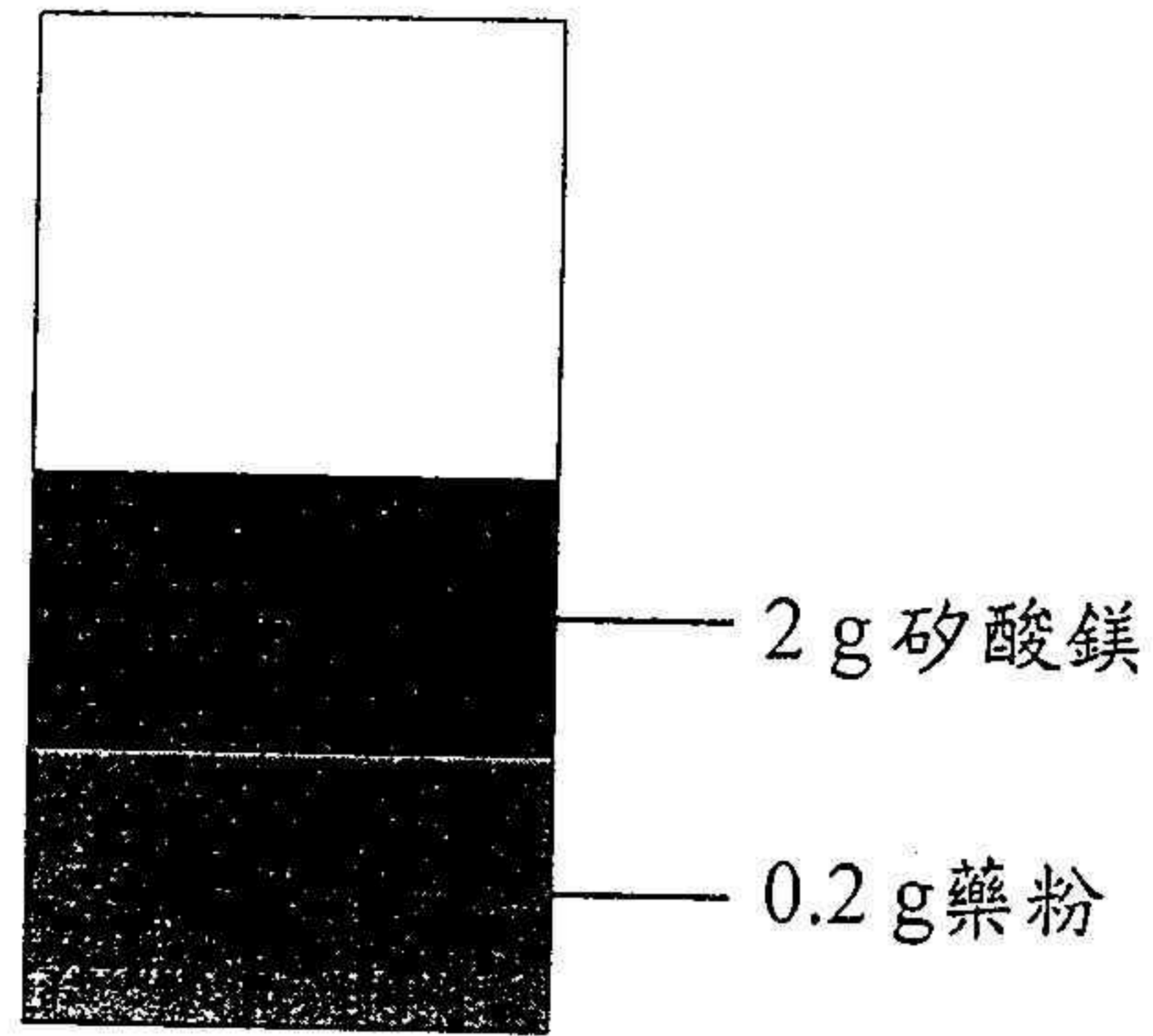


圖 3 萃取槽填充方式示意圖

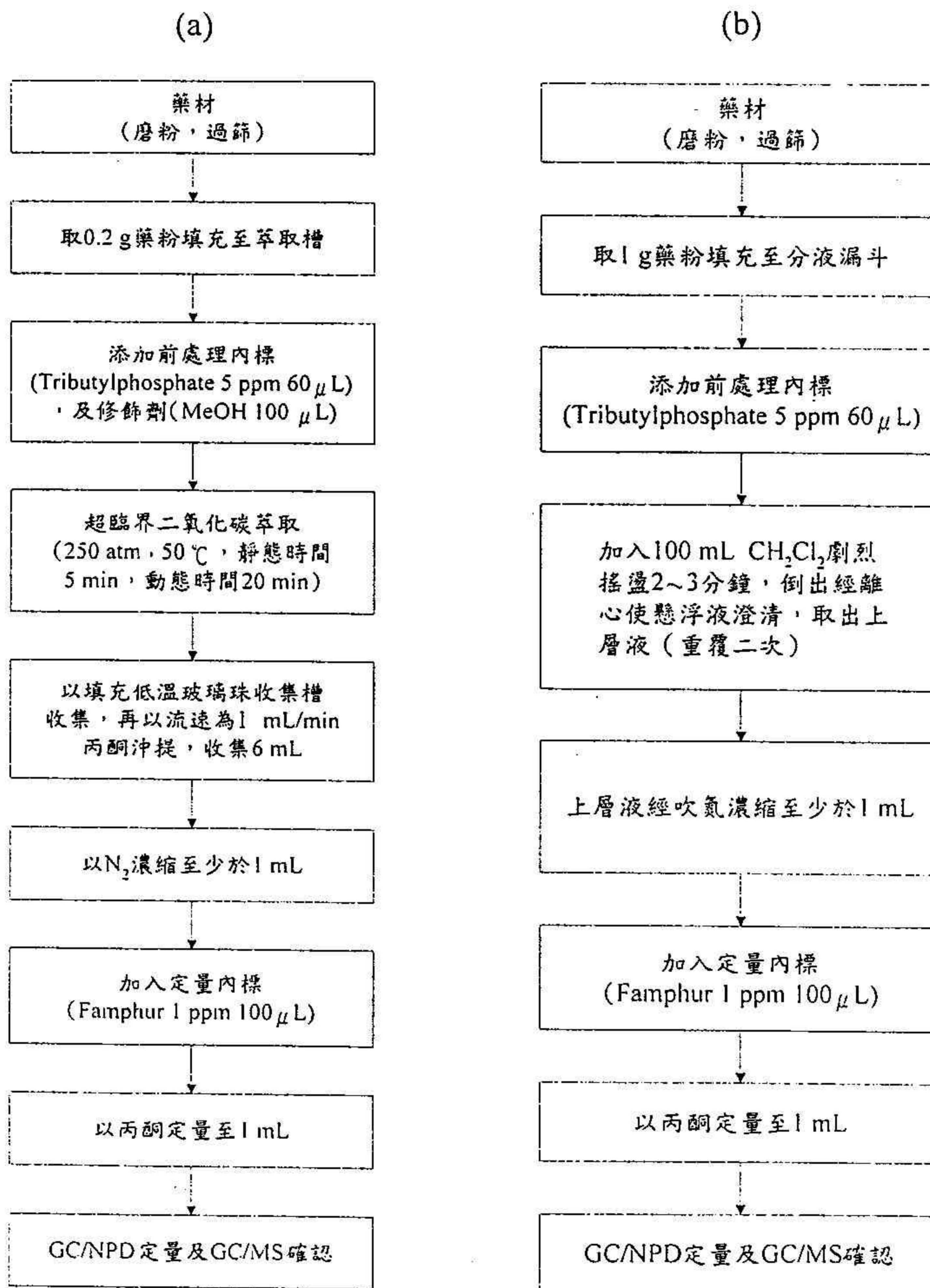


圖 4 分析流程圖：(a)SFE，(b)LLE

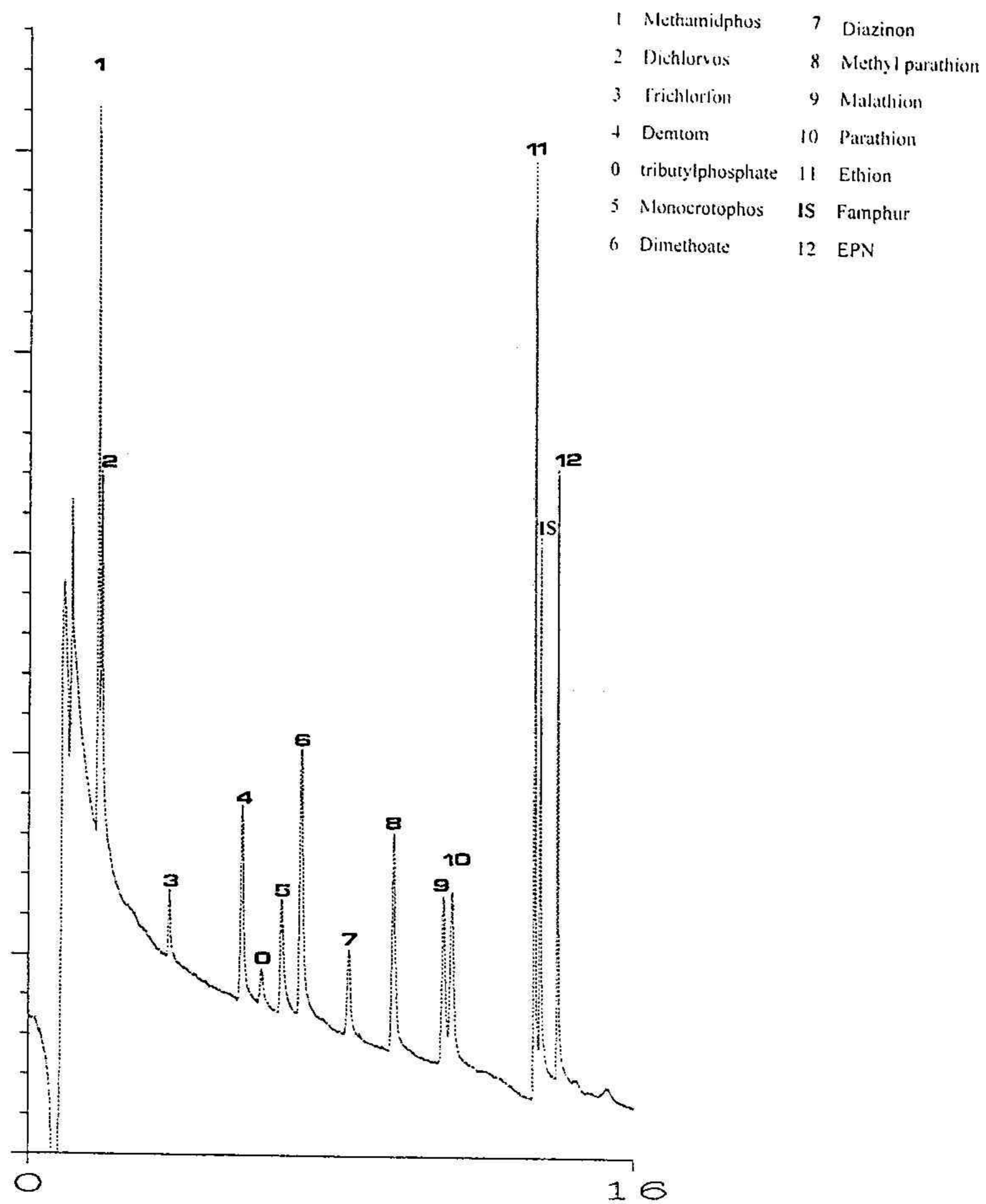


圖 5 GC-NPD 層析圖：12 種有機磷農藥標準品(含內標準品 Tributylphosphate 300 ppb、Famphur 100 ppb)，濃度為 75 ppb

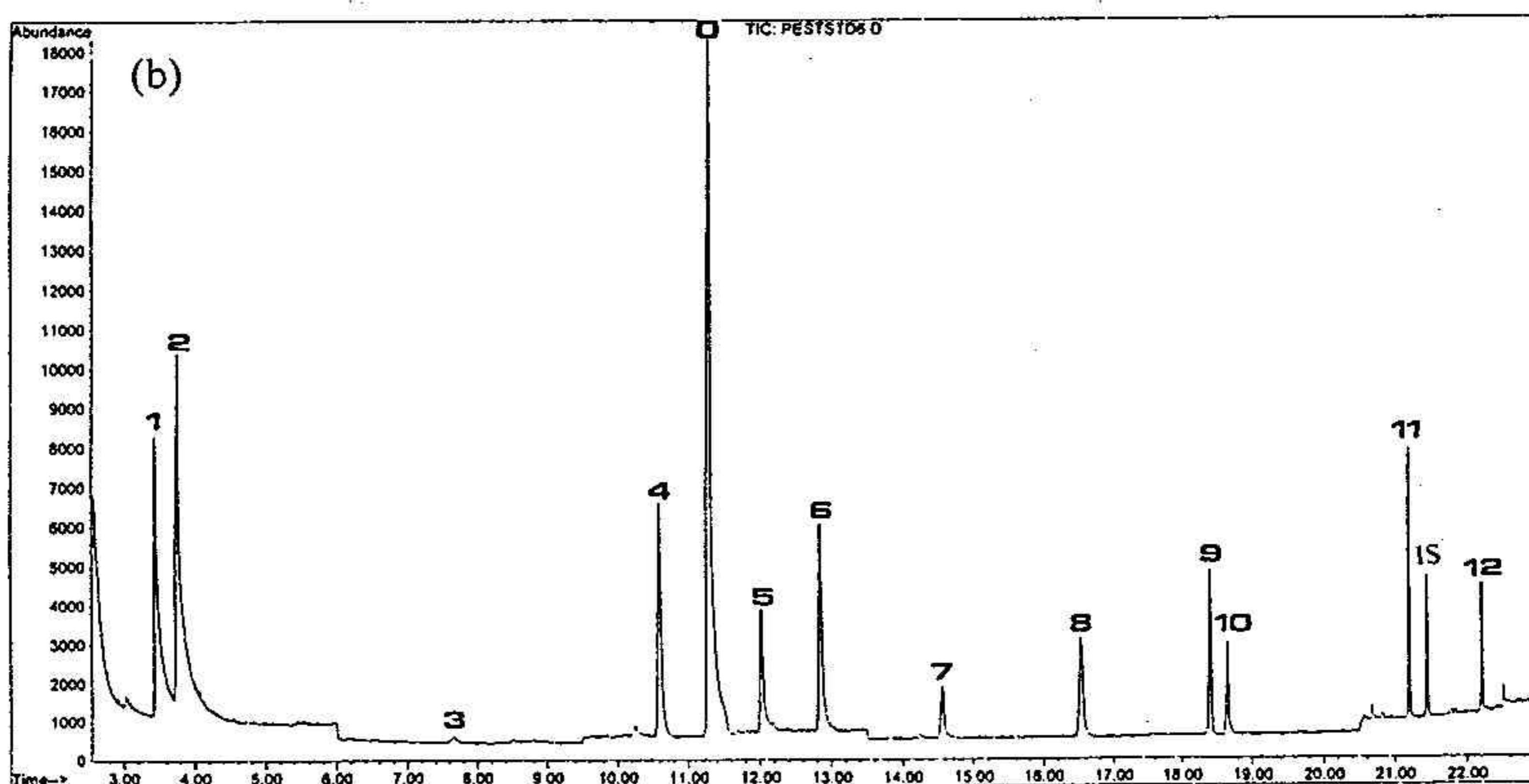
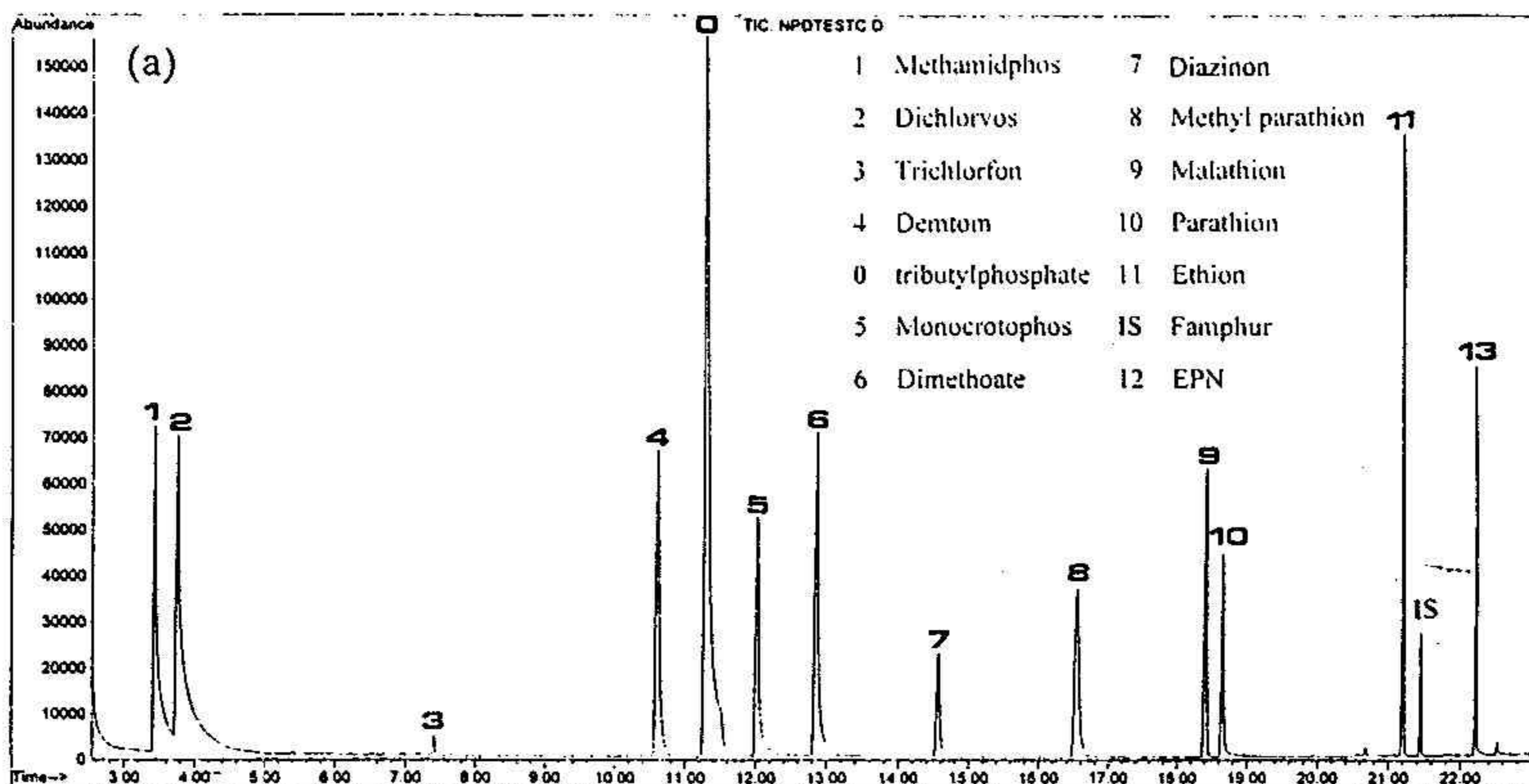


圖 6 GC-MS 選擇離子層析圖：12 種有機磷農藥標準品(含內標準品 Tributylphosphate 300 ppb , Famphur 100 ppb) 濃度分別為(a)1000 ppb ,(b)150ppb

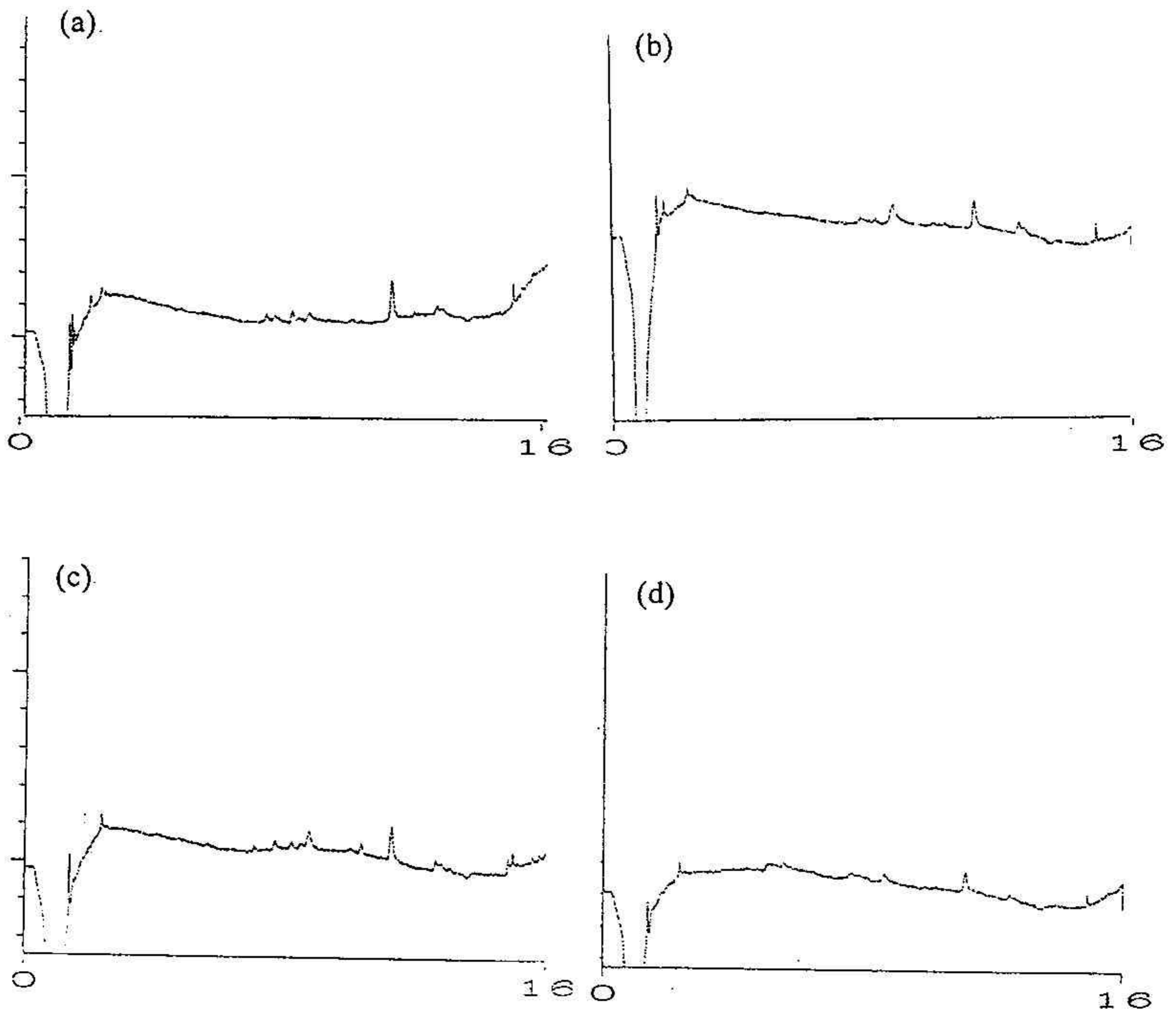


圖 7 GC-NPD 層析圖：(a)未填充吸附劑，(b)填充 2g 矽膠吸附劑，(c)填充 2 g C_{18} 吸附劑，(d)填充 2g 矽酸鎂吸附劑

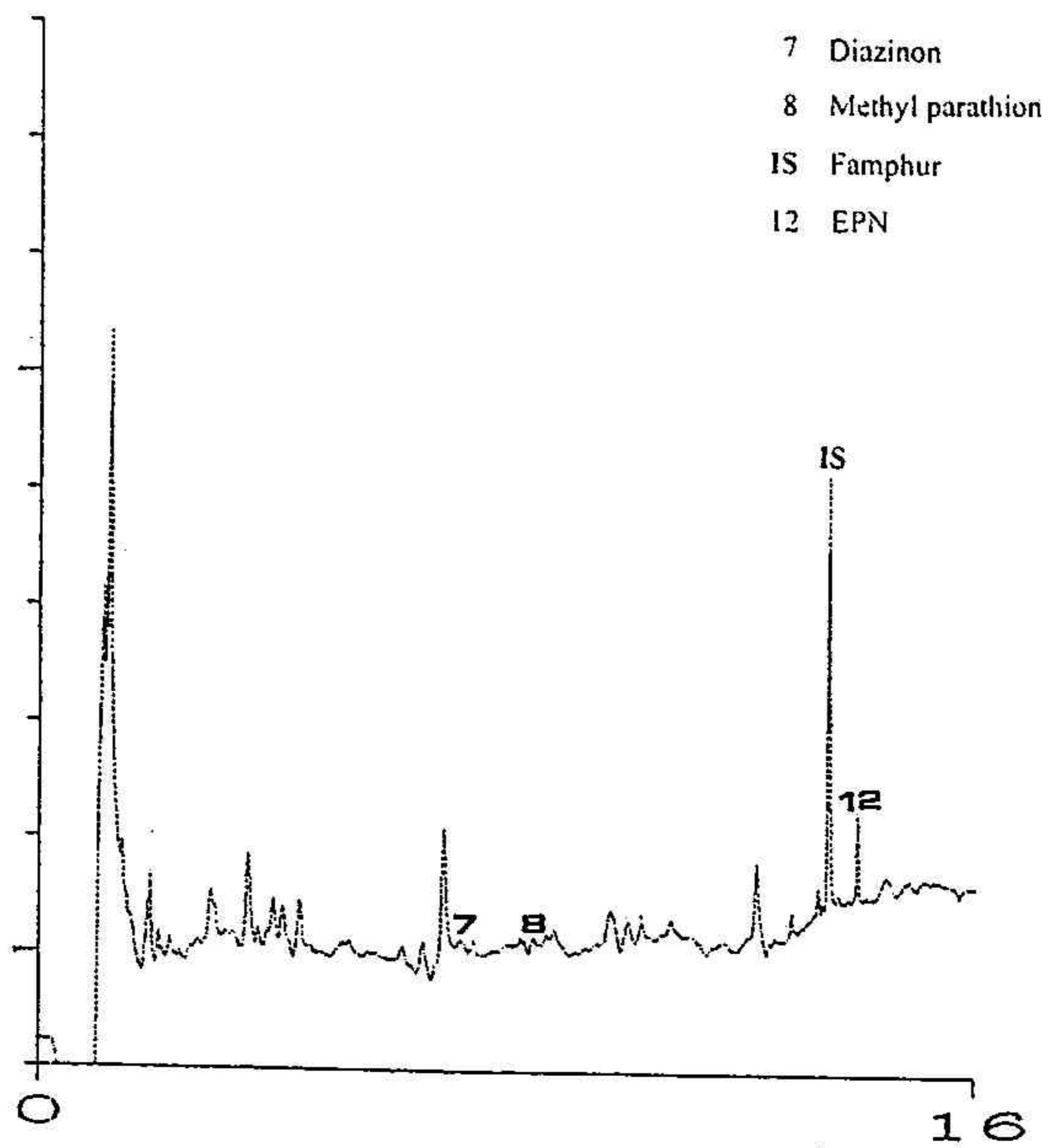


圖 8 獨活之 GC-NPD 層析圖

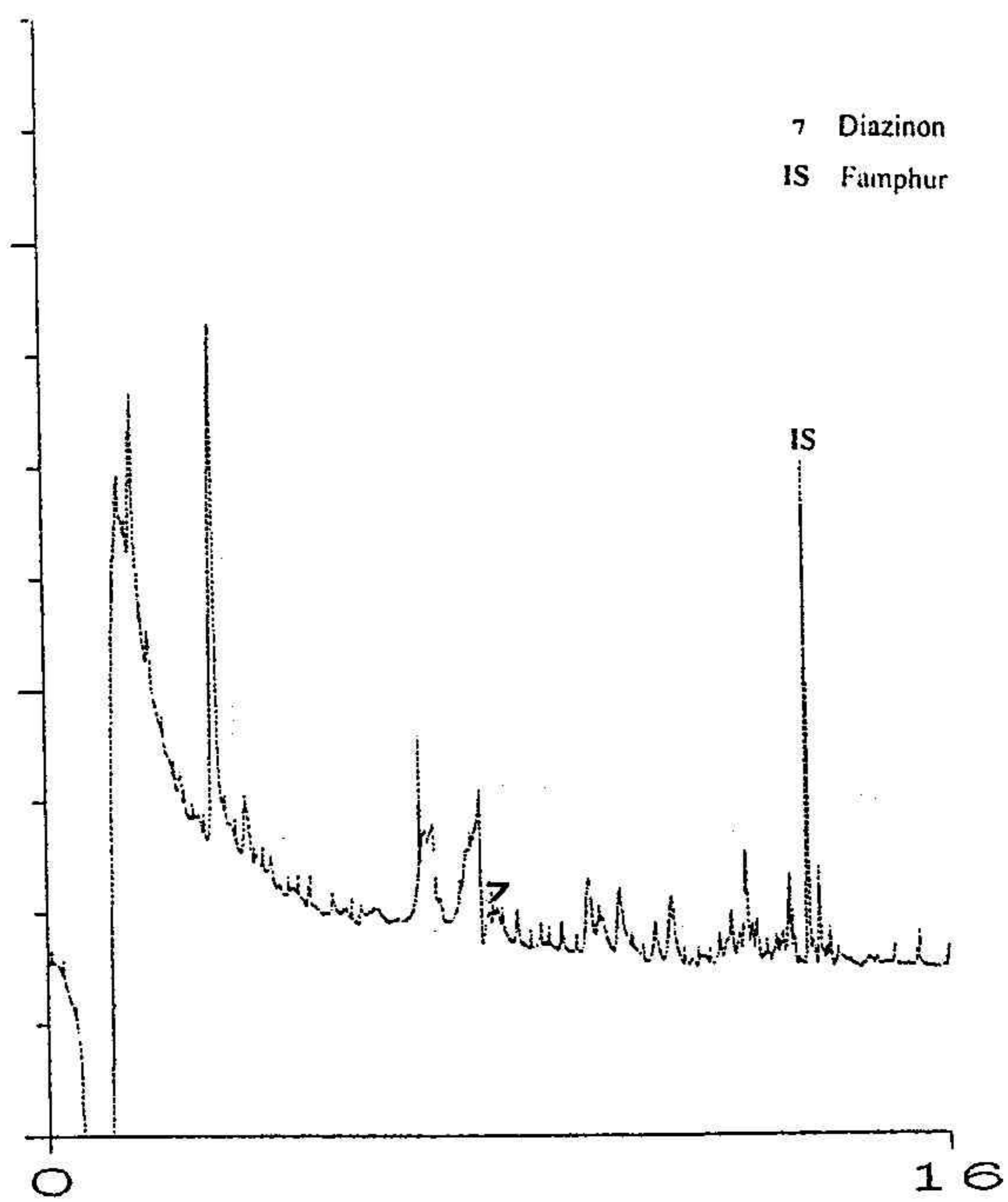


圖 9 檀香之 GC-NPD 層析圖

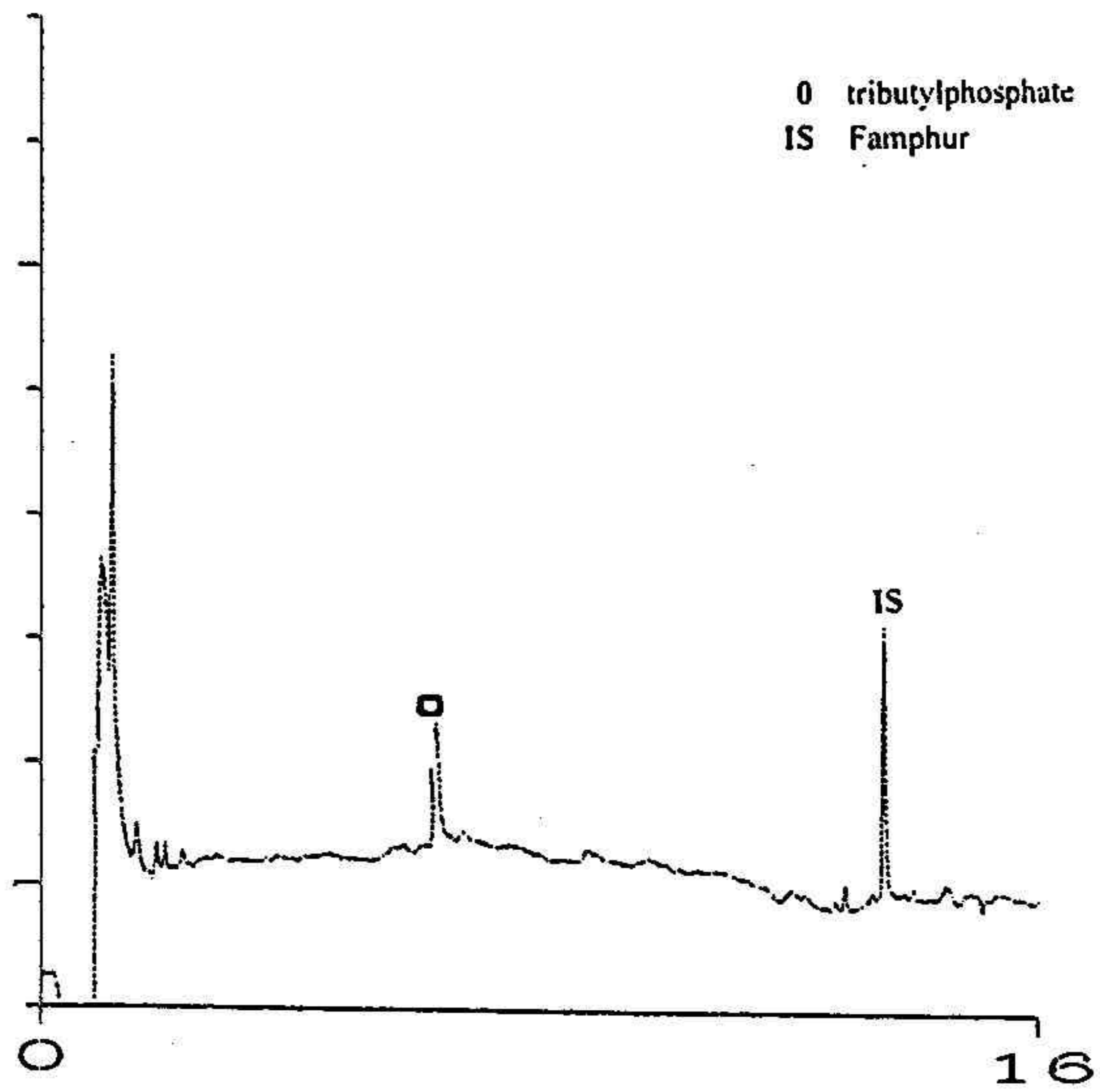


圖 10 密蒙花之 GC-NPD 層析圖

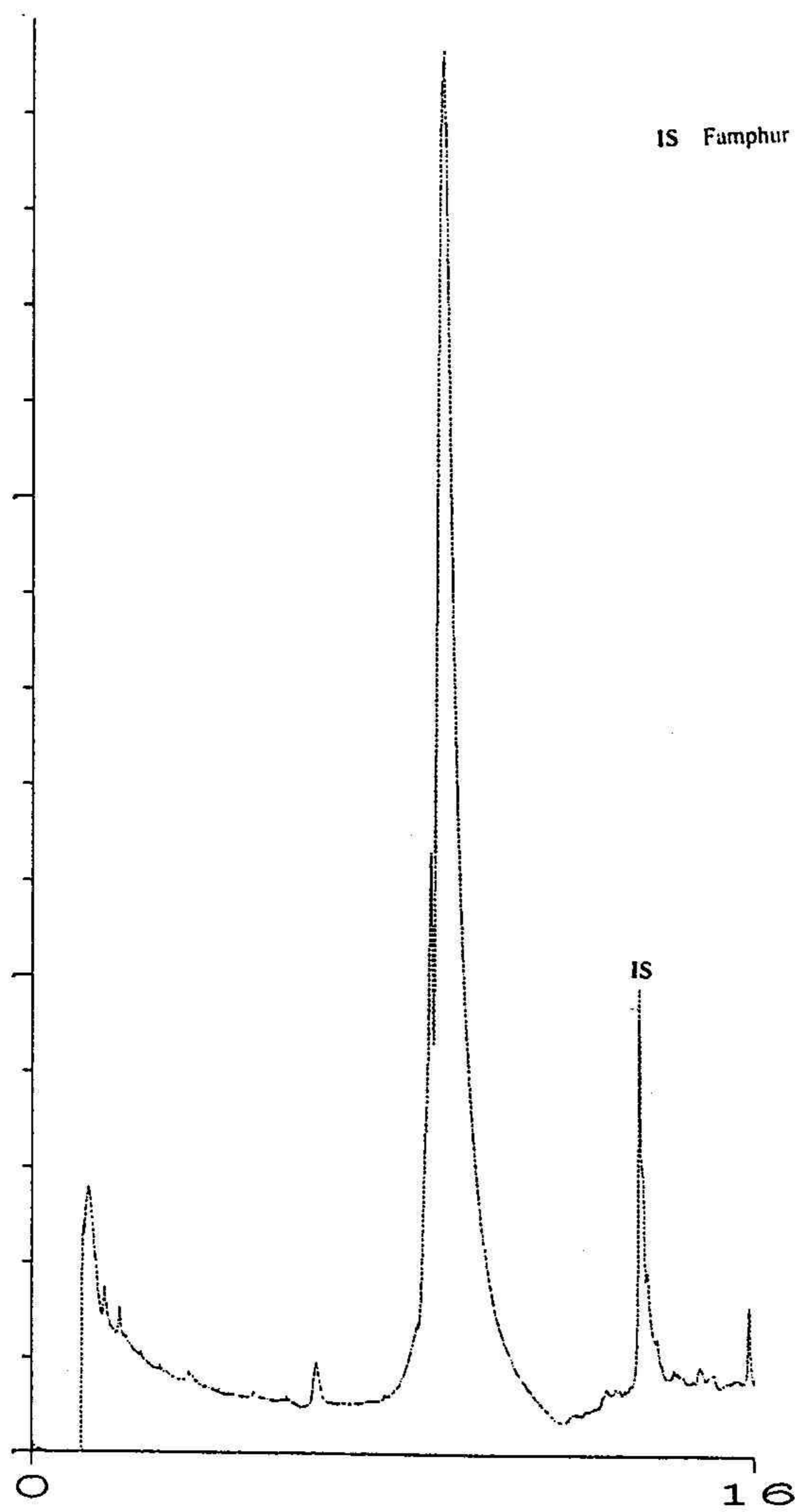


圖 11 密蒙花(LLE)之 GC-NPD 層析圖

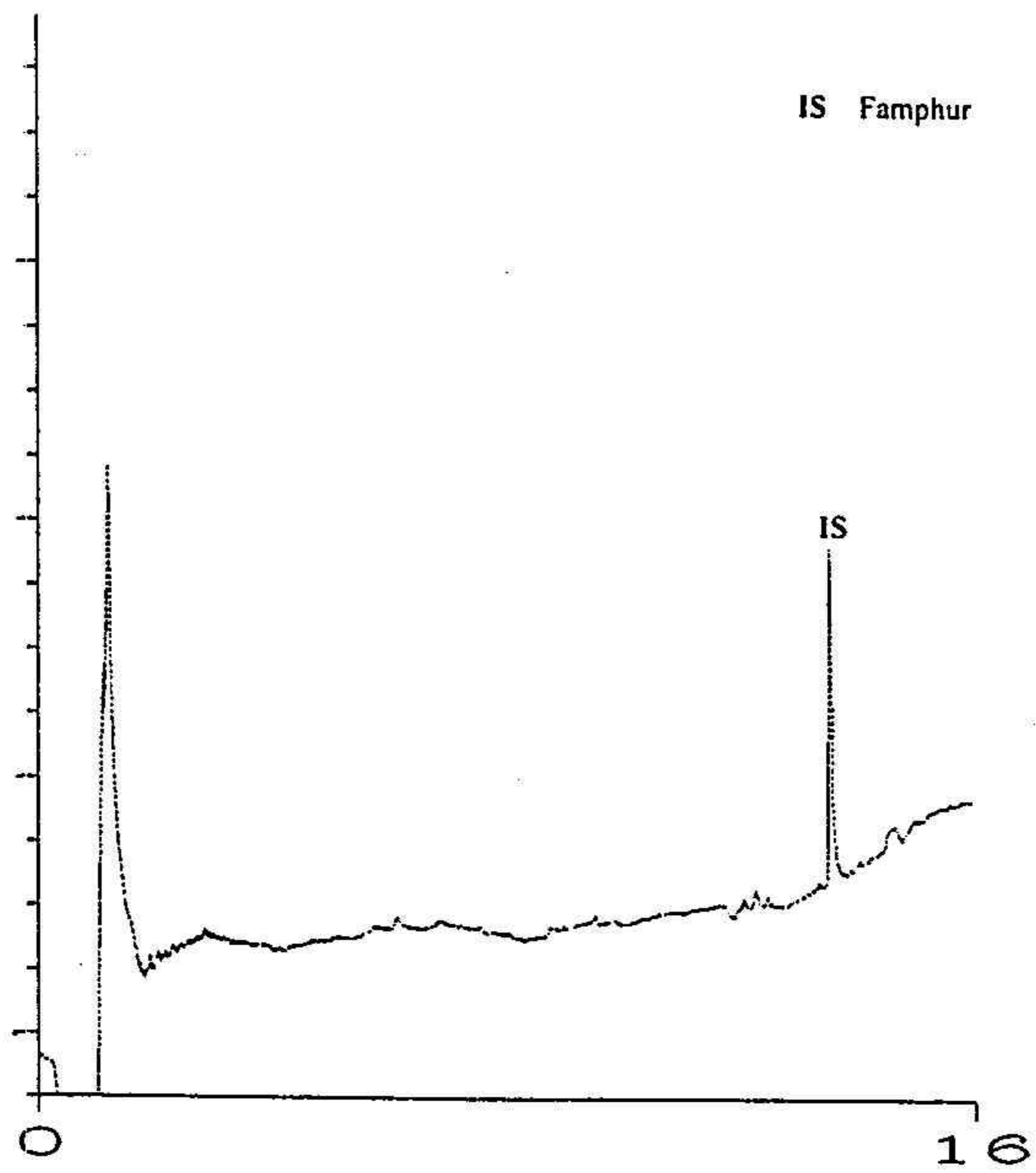


圖 12 滋腎明目湯之 GC-NPD 層析圖

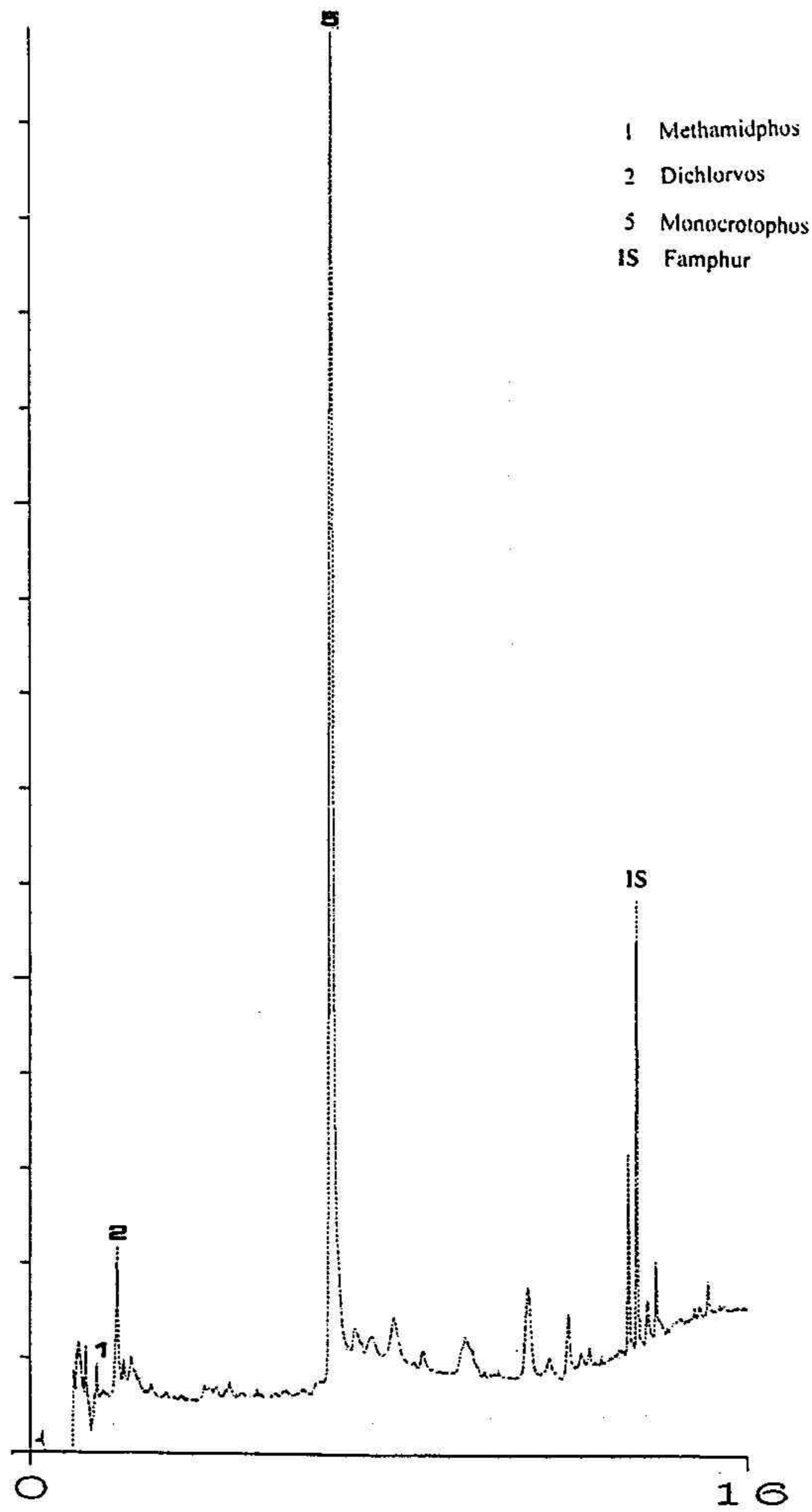


圖 13a 當歸之 GC-NPD 層析圖

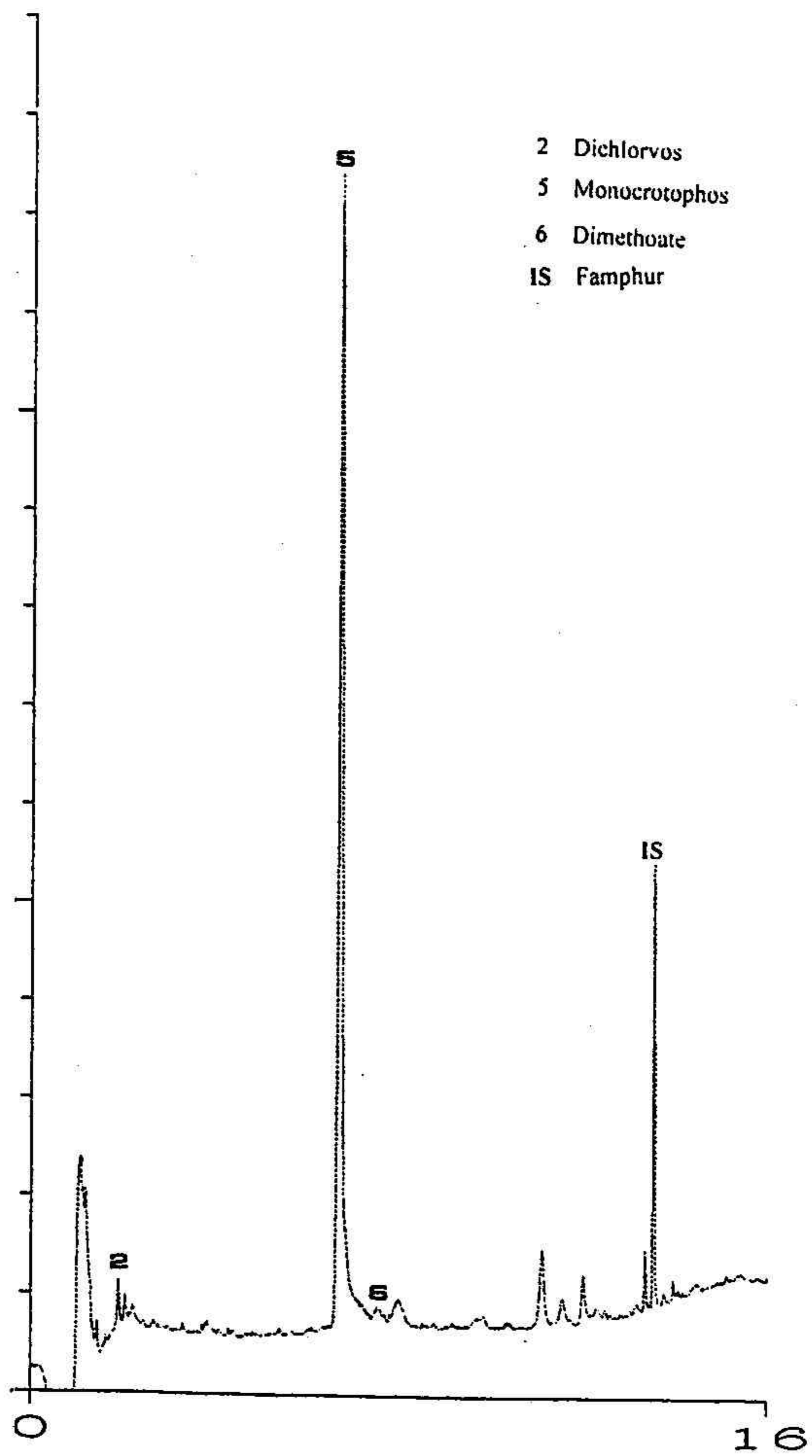


圖 13b 當歸(重覆)之 GC-NPD 層析圖

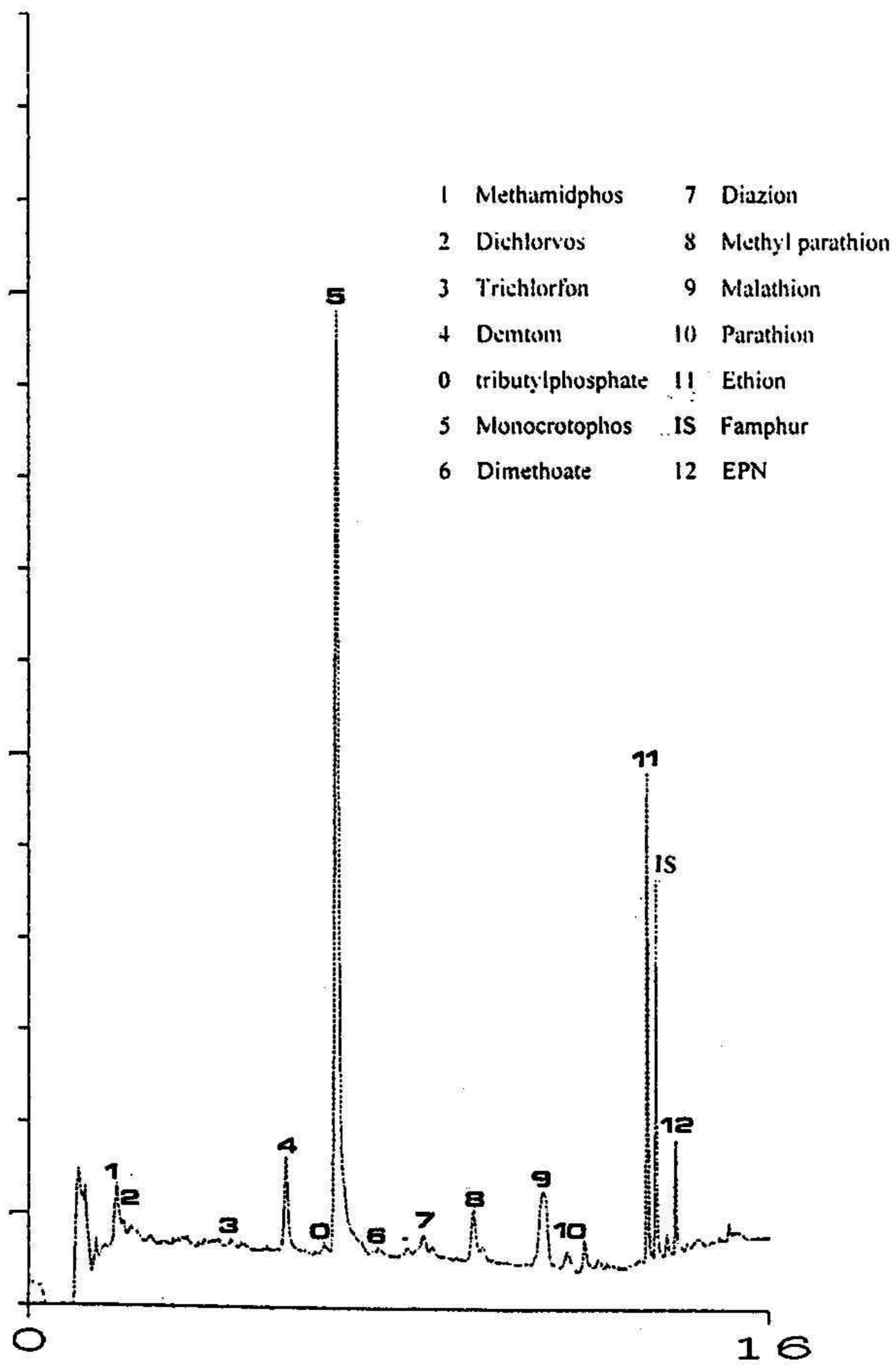


圖 14a 當歸(添加)之 GC-NPD 層析圖

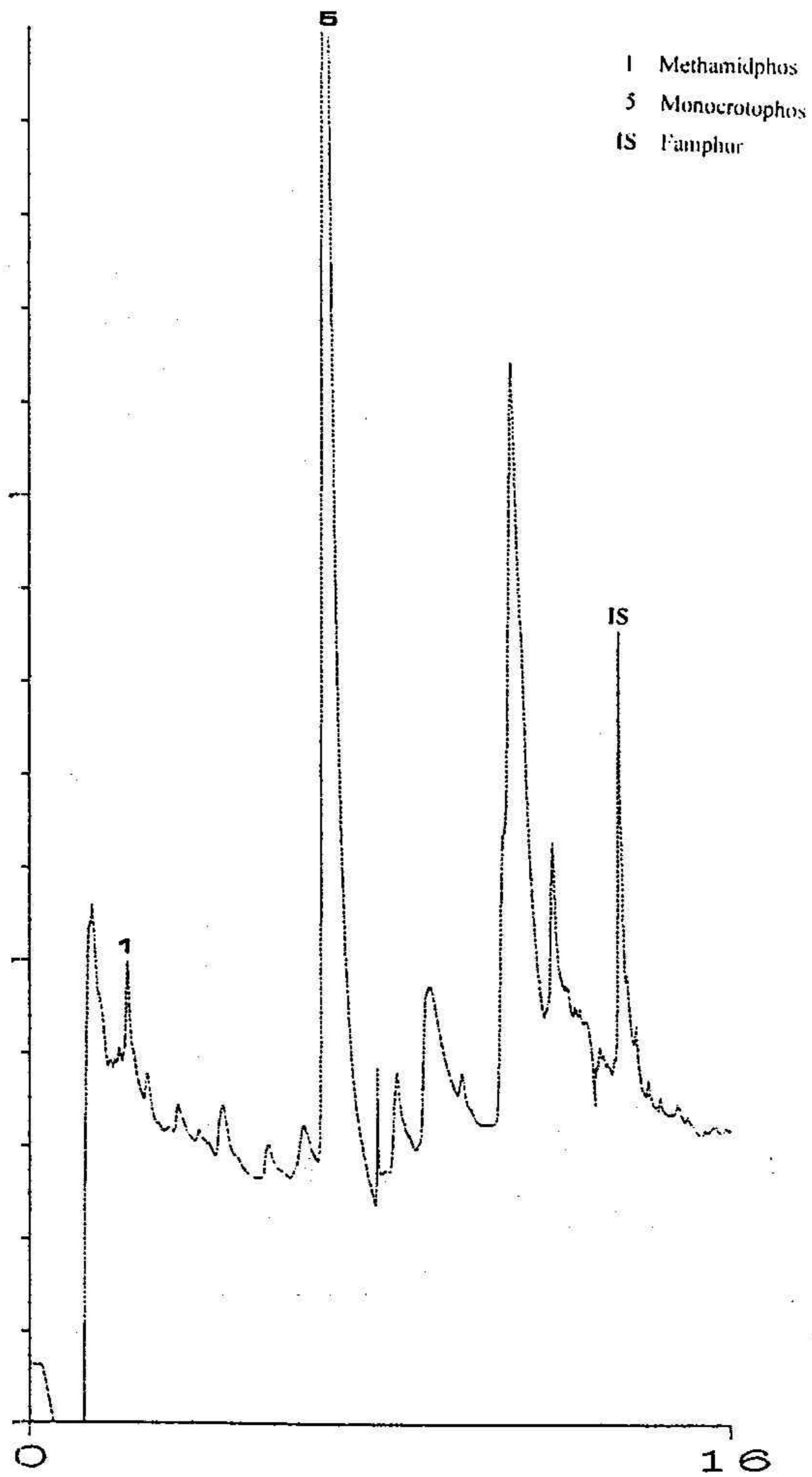


圖 14b 當歸(LLE)之 GC-NPD 層析圖

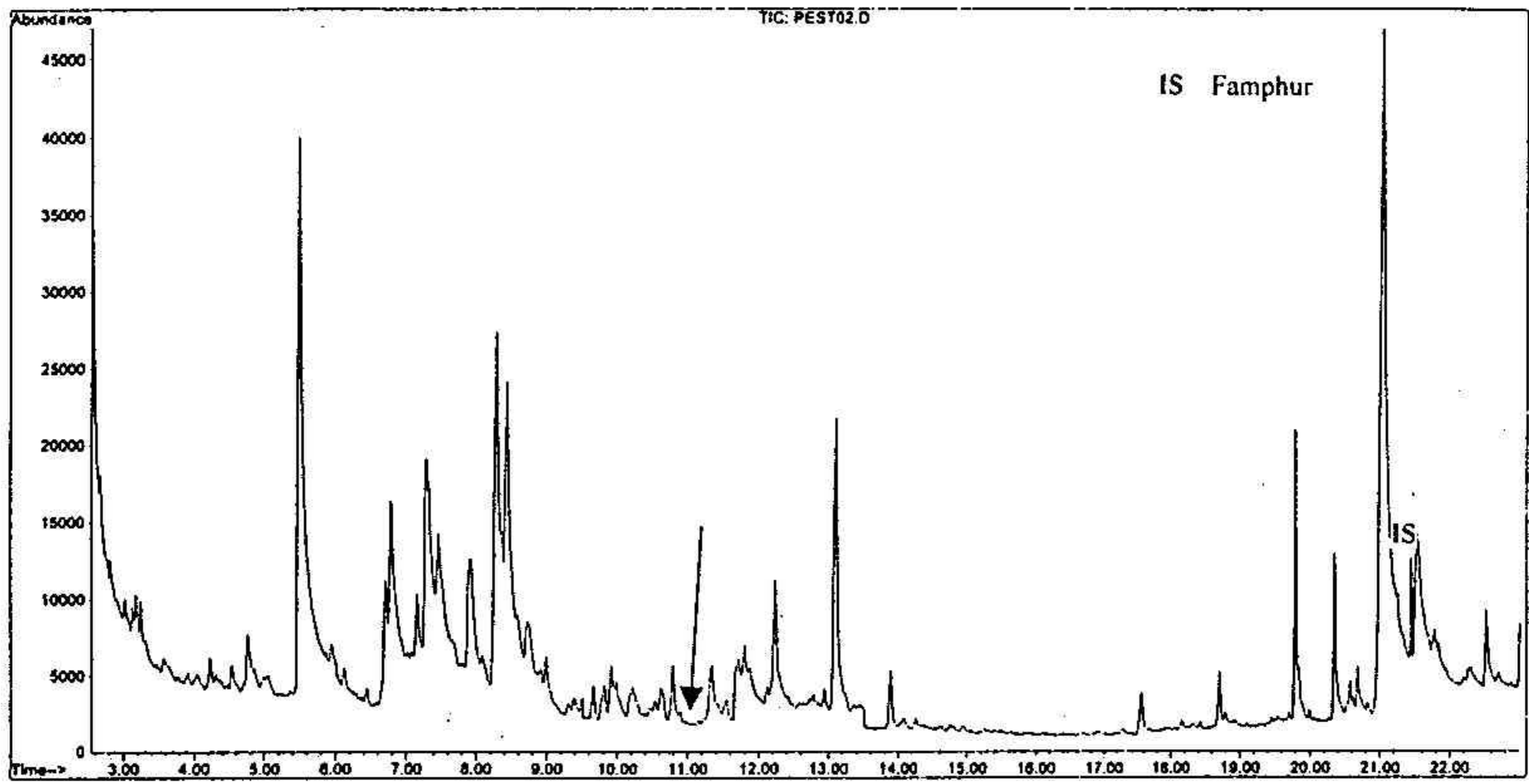


圖 15 當歸之 GC/MS-SIM 層析圖

