

Technique for detecting organophosphate pesticides residues in aquaria

Follow this and additional works at: <https://www.jfda-online.com/journal>

Recommended Citation

Sun, F.; Wong, S.-S.; and Li, G.-C. (1998) "Technique for detecting organophosphate pesticides residues in aquaria," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 6 : Iss. 3 , Article 1.
Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2895>

This Original Article is brought to you for free and open access by Journal of Food and Drug Analysis. It has been accepted for inclusion in Journal of Food and Drug Analysis by an authorized editor of Journal of Food and Drug Analysis.



魚池中有機磷農藥殘留偵測技術探討

孫 斐* 翁愷慎 李國欽

臺灣省農業藥物毒物試驗所

摘 要

養殖池疑受有機磷農藥污染時水及魚體內多種藥劑同時檢出的分析方法及對藥劑在水及魚體中分佈的了解有助於污染的偵測。本研究除進行水樣/魚體中殘留藥劑抽出方法的篩選以利養殖池中多種有機磷藥劑殘留的分析外，並探討藥劑在水及魚體中分佈的情形。比較李(1984)及 Okumura & Nishikawa (1995)的水樣中藥劑抽出方法，由八種有機磷劑測試結果知後者較適用，因具各回收重覆的偏差係數(coefficient of variation)變化小及試驗流程省時之優點。在魚體殘留量分析上，篩選改進後之藥劑抽出及樣品淨化方法具使用安全溶劑並可同時檢測供試藥劑種類最多之特性，但僅適用於極性低之藥劑。以鯉魚(*Cyprinus carpio*)分別暴露在陶斯松 40.8%EC、一品松 45%EC 及撲滅松 50%EC 三種藥劑 48 小時，探討藥劑在水及魚體內的分佈。試驗結果知，在有生物存在時，三種藥劑會迅速累積於魚體內，使得水中殘留量降低，在養殖池疑似有機磷農藥污染時，僅檢測水中的藥劑殘留量，會得到假象。

關鍵詞：有機磷農藥，殘留量，魚，水(water)。

前 言

農藥往往因噴灑漂散、漂流或直接施用而污染水域或養殖池，即使不會造成生物急性中毒死亡亦往往對水生物造成不利影響。Drummond 等(1986)認為，根據化學物質作用機制的不同，利用魚體行為和型態的改變做為污染診斷指標是可行的，並可預測未知外來物質(xenobiotics)的作用機制⁽¹⁾。Rice 等⁽²⁾、Litte 等⁽³⁾雖然亦認為以魚體行為和型態的改變是比死亡更為敏感的污染診斷指標，但在供試的五種藥劑中僅有四種藥劑魚體在死亡前有不正常的反應⁽²⁾。事實上，不同藥劑對魚體所造成的相同不正常反應會使得在外來物質的鑑定上有困難，對污染源的追蹤上助益有限，利用儀器鑑定及分析化學物質的殘留量，則提供受污染或危害區更為直接的佐證。在國內，有

機磷殺蟲劑因農業上使用、環境衛生用藥或漁業養殖疾病預防的直接噴灑於水體，造成在水生環境中殘留，雖然導致養殖池受損的案例時有所聞、在國寶魚櫻花鉤吻鮭(*Oncorhynchus masou formosanus*)的復育阻力上亦被指為禍首之一⁽⁴⁾，但水樣中農藥殘留分析結果一直未提供有力的證據。本研究的目的是在以鯉魚(*Cyprinus carpio*)為測試生物，建立水域或養殖池可能出現之有機磷農藥殘留在魚體及水體中多種藥劑同時檢出的方法，以利水質污染時同時進行水樣及魚體中有機磷劑農藥殘留量的監測，並比較不同魚體前處理對有機磷劑農藥回收的影響，另以陶斯松(chlorpyrifos) 40.8% 乳劑(EC)、一品松(EPN) 45% EC 及撲滅松(fenitrothion) 50% EC 三種藥劑，進行生物檢定，配合儀器分析方法探討三種藥劑在水體中和魚體內殘留量的關係，以瞭解不同種

類樣品在污染區所扮演的角色。

材料與方法

一、材料

(一)試劑

21種供試標準劑如后：carbophenothion (97%, R.D.H); chlorpyrifos (99%, R.D.H); cyanofenphos (100%, Sumitomo); diazinon (98%, R.D.H); dimethoate (99%, R.D.H); EPN (99%, R.D.H); ethion (99%, R.D.H); ethoprophos (99%, Rhone Poulenc); ethyl-parathion (99%, R.D.H); fenitrothion (97%, R.D.H); fensulfothion (98%, R.D.H); fonofos (95%, R.D.H); methidathion (99%, R.D.H); methyl-parathion (98%, R.D.H); phenthoate (92%, Sumitomo); phorate (98%, R.D.H); phosmet (99%, R.D.H); pirimiphos-methyl (98%, R.D.H); prothiofos (98%, R.D.H); tokuoxon (91%, R.D.H); triazophos (70%, R.D.H)。

生物檢定法三種藥劑：陶斯松 (chlorpyrifos) 40.8% EC，惠光公司；一品松 (EPN) 45% EC，日產化學工業股份有限公司；撲滅松 (fenitrothion) 50% EC，日產化學工業股份有限公司。各藥劑分別配製成適當濃度之貯存液，置於冷藏室備用。

(二)供試生物

試驗用鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 取自烏山頭淡水魚養殖示範中心之魚苗 (約3公分)，經室內馴化飼育後，供生物檢定用，魚苗年齡約為3個月，體長約 5 ± 2 公分。

二、方法

(一)有機磷農藥的儀器分析條件

參考 U. S. EPA Method 1618 (1989) ⁽⁸⁾ Column: DBTM-1701 (30 m x 0.53mm I.D., 1.0 μ m); Carrier gas: nitrogen at 7ml/min; Oven: 100 °C for 0.5 min, 100-250 °C at 3 °C/min, 250 °C for 20 min; Injector: 250 °C, 1 μ l; Detector: FPD with

526 nm phosphorus filter, 250 °C。

(二)水樣中有機磷農藥的抽出方法

1. 方法一：參考李(1984)之水中農藥殘留分析方法 ⁽⁵⁾，取水樣 100 ml，以 4 N HCl 調整 pH 至 4.5，加入 12.5 克之氯化鈉後，以 50 ml 氰甲烷萃取 1 分鐘、再以 100 ml 二氯甲烷萃取 2 分鐘，收取溶劑層以無水硫酸鈉脫水，濃縮至乾，以丙酮定量至 1 ml 後以儀器分析。

2. 方法二：參考 Okumura and Nishikawa (1995) ⁽⁶⁾，取水樣 250 ml，加入 12.5 克氯化鈉，以 50 ml 二氯甲烷萃取 1 分鐘、再以 25 ml 二氯甲烷萃取 1 分鐘、收取溶劑層以無水硫酸鈉脫水，濃縮至乾，以丙酮定量至 1 ml 供儀器分析。

(三)魚體中殘留有機磷農藥抽出方法及淨化步驟

將魚體去頭尾及鱗片後肉剝碎，取剝碎後之魚肉 10 克入打碎瓶備用

1. 方法一：參考臺灣省農業藥物毒物試驗所殘毒管制系建立之魚體中農藥殘留分析方法 (未發表)，打碎瓶中加入 100 ml 之氰甲烷，以均質機打碎 1 分鐘，過濾後以氰甲烷定量至 300 ml，移入分液漏斗中，以 50 ml 正己烷萃取兩次，收集正己烷層後以無水硫酸鈉脫水，濃縮至乾，加 5 ml 正己烷，以經 30 ml 苯預洗之淨化管淨化之，以 120 ml 二氯甲烷及苯之混合液 (1:1) 分三次沖提管柱，淨化管由 8 克矽藻土 (10% 去活化) 組成，上下各有 2 克無水硫酸鈉。收集溶離液濃縮至乾後以丙酮定量至 1 ml 供儀器分析。

2. 方法二：參考 Okumura & Nishikawa (1995) 方法 ⁽⁶⁾，魚肉以 30 ml 之丙酮均質化，在 1600 g 離心 10 分鐘後，取上層液加入 5% 氯化鈉 200 ml，以二氯甲烷萃取兩次每次 50 ml，脫水並濃縮至乾後加入 2 ml 含偶氮苯的正己烷溶液 (500 mg/l) 以 5 克矽藻土 (40% 去活化) 淨化，以 50 ml 的丙酮和正己烷 (1:9) 混合液沖提，收集之正己烷層及丙酮/正己烷混合層分別以氮氣濃縮，前者剩 0.5 ml 後直接進儀器分析，後者吹乾再利用聚醯胺樹脂將殘留吸附並以甲醇及水之混合液 (1:1) 120 ml 將物質溶離出，再經二氯甲烷萃取 (30 ml, 兩次) 後脫

水濃縮定量供儀器分析。

3. 方法三：藥劑自魚體中抽出步驟同方法一，但樣品淨化時所用洗滌液參考 Marquis 等 (1994) 方法⁽⁷⁾，以二氯甲烷及正己烷混合液進行，但原混合比例為 1:5，另進行 1:1、1:2、1:3 及 1:4 之測試。

(四) 急毒性測試

參考孫(1996)⁽⁹⁾，在內徑 23 公分、高 30 公分的玻璃缸中，每 10 公升水中接入魚苗 10 尾，試驗期間不予餵食。以每日更新 80% 測試液之方式進行，同時將沉澱物吸除。每一處理濃度包含完全不含藥劑之對照組及溶劑對照組，各處理重複三次，以完全隨機方式編號。測試之環境為光週期 12 小時，溫度攝氏 25 度，持續通

Table 1. Comparison of different pre-treatment method on the recoveries of organophosphate pesticides in 250 ml water

pesticide	spike level (μg)	recovery(%) ^a			
		method 1		method 2	
std M1					
diazinon	3.75	88.4	(5.8) ^b	81.8	(5.6)
chlorpyrifos	3.75	95.3	(4.5)	85.1	(7.1)
fenitrothion	3.75	104.0	(8.4)	95.3	(5.9)
tokuoxon	11.25	112.0	(8.7)	101.8	(3.9)
prothiofos	3.75	99.5	(4.0)	90.8	(2.8)
ethion	3.75	104.5	(4.3)	98.2	(1.3)
carbophenothion	3.75	107.1	(6.7)	99.3	(2.6)
EPN	7.5	109.8	(5.7)	98.1	(3.1)
Mean		102.6	6.0	93.8	4.0
std M2					
diazinon	2.5	79.3	(4.3)	91.7	(5.9)
chlorpyrifos	2.5	83.7	(2.1)	92.6	(5.1)
fenitrothion	2.5	89.4	(4.2)	105.8	(5.6)
tokuoxon	7.5	107.3	(1.4)	122.8	(6.0)
prothiofos	2.5	90.4	(2.7)	96.1	(7.0)
ethion	2.5	96.0	(1.2)	103.6	(11.2)
carbophenothion	2.5	98.8	(2.1)	108.6	(6.7)
EPN	5.0	102.2	(3.1)	111.7	(4.2)
Mean		93.4	2.6	104.1	6.5
std M3					
diazinon	1.25	88.4	(7.8)	87.1	(6.2)
chlorpyrifos	1.25	82.6	(8.8)	84.9	(5.5)
fenitrothion	1.25	102.5	(9.8)	98.8	(4.0)
tokuoxon	7.5	126.7	(11)	119.5	(3.8)
prothiofos	1.25	102.3	(12)	91.9	(3.8)
ethion	1.25	112.0	(13)	108.3	(3.3)
carbophenothion	1.25	114.2	(14)	105.1	(3.5)
EPN	2.5	114.3	(15)	99.4	(3.9)
Mean		105.4	11	99.4	4.3

^a Average of three determinations.

^b Number in parenthesis is the coefficient of variation (CV, %).

氣之狀態。試驗觀察期為96小時，以試驗濃度及各處理供試魚苗之死亡情形以統計方式估算半數致死濃度及其相關介量。

(五)魚體與水體中農藥殘留相關性試驗

1. 藥劑處理濃度：即各藥劑導致鯉魚96小時內50%死亡之濃度。

2. 測試液的配製：各藥劑自貯存液稀釋成適當濃度之工作液（working solution），取工作液1 ml，加入10 l之玻璃缸中。

3. 試驗設計：試驗分四組同時進行，每組三重覆，共進行三次：

(1) 藥劑在冷藏室消退試驗組：取測試液配製時之工作液1 ml，置於密閉容器存於冰箱冷藏室；

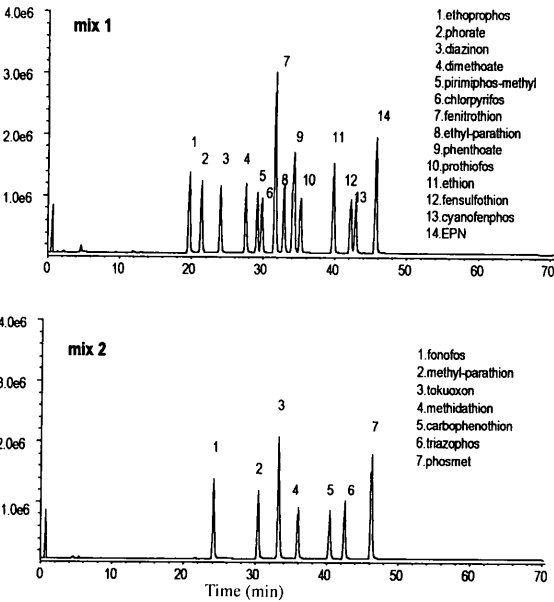
(2) 藥劑對照組：不加魚之測試液；

(3) 生物處理組：加魚之測試液，每處理組各放一尾魚，魚體重量25 ± 5 克；

(4) 生物空白組：不加藥，僅加魚；

試驗開始後每隔3、24及48小時各取一重覆分別進行水及魚體內藥劑殘留量之分析。

結果與討論



Column : DBTM-1701 (30 m x 0.53mm I.D., 1.0 μm)
Carrier gas : nitrogen, 7ml/min
Oven : 100 °C for 0.5 min, 100-250 °C at 3 °C/min, 250 °C for 20 min
Injector : 250 °C, 1 μl
Detector : FPD with 526 nm phosphorus filter, 250 °C

Figure 1. Chromatograms of 21 organophosphate pesticides standard solution of Mix 1 and Mix 2.

Table 2. Comparison of different pre-treatment method on the recoveries of organophosphate pesticides in 10 g fish

pesticides	spike level (μg)	recovery (%)						water solubility (mg/l)
		method 1	method 2	ratio of CH ₂ Cl ₂ : n-hexane in method 3				
				1:1	1:2	1:3	1:5	
chlorpyrifos	3.75	97.2	12.7	115.2	99.8	111.1	104.8	2
diazinon	3.75	77.5	83.9	93.1	70.7	34.7	89.2	40
dimethoate	3.75	0.0	— ^a	0.0	0.0	0.0	0.0	25000
EPN	7.5	90.1	21.7	98.0	94.6	103.1	88.7	× ^b
ethion	3.75	97.3	18.1	107.9	99.3	108.7	100.8	×
ethoprophos	3.75	0.0	—	94.9	0.0	0.0	110.2	700
ethyl parathion	3.75	97.6	—	106.9	98.5	107.6	101.8	24
fenitrothion	3.75	77.7	52.1	118.4	0.0	0.0	113.6	30
fensulfothion	3.75	7.3	—	21.3	0.0	0.0	9.3	1540
phorate	3.75	72.6	—	78.7	70.2	82.6	91.6	50
peak number		8/10	5/5	9/10	6/10	6/10	9/10	
/chemical number								

^a : No test.

Table 3. Recoveries of 21 organophosphorate pesticides in 250 ml water

pesticides	high spike level			middle spike level			low spike level			detection limit (ppb)
	spiked level recovery (%) ^a			spiked level recovery (%)			spiked level recovery (%)			
	(μg)			(μg)			(μg)			
Mix 1										
ethoprophos	3.75	87.9	(2.1) ^b	2.5	95.2	(5.2)	1.25	97.7	(3.9)	1
phorate	3.75	73.1	(5.0)	2.5	74.6	(4.0)	1.25	67.9	(4.4)	2
diazinon	3.75	97.1	(6.6)	2.5	98.5	(1.7)	1.25	96.6	(5.5)	1
dimethoate	3.75	102.3	(3.8)	2.5	97.6	(4.6)	1.25	100.6	(2.4)	1
pirimiphos-methyl	3.75	100.7	(4.8)	2.5	104.6	(3.0)	1.25	97.6	(2.9)	1
chlorpyrifos	3.75	101.7	(3.7)	2.5	89.6	(5.0)	1.25	93.1	(1.9)	1
fenitrothion	3.75	96.7	(3.5)	2.5	102.2	(5.2)	1.25	96.7	(0.7)	1
ethyl-parathion	3.75	98.3	(1.1)	2.5	99.2	(0.9)	1.25	97.9	(0.5)	1
phenthoate	7.5	100.6	(0.4)	5.0	102.8	(3.6)	2.5	99.7	(4.4)	1
prothiofos	3.75	102.2	(5.0)	2.5	98.7	(0.8)	1.25	97.4	(1.7)	2
ethion	3.75	99.3	(1.5)	2.5	108.4	(1.1)	1.25	100.7	(0.4)	1
fensulfothion	3.75	102.4	(1.8)	2.5	98.5	(4.8)	1.25	103.4	(5.3)	1
cyanofenphos	3.75	102.4	(3.5)	5.0	98.1	(4.6)	1.25	96.6	(6.0)	1
EPN	7.5	99.8	(1.6)	5.0	101.6	(1.3)	2.5	93.6	(9.3)	1
Mix 2										
fonofos	3.75	73.0	(7.5)	2.5	70.6	(2.7)	1.25	73.6	(4.4)	0.3
methyl-parathion	3.75	96.0	(3.4)	2.5	94.6	(5.1)	1.25	93.0	(4.3)	0.2
tokuoxon	11.25	100.7	(1.7)	7.5	97.9	(3.5)	3.75	97.2	(4.9)	0.4
methidathion	3.75	101.4	(1.5)	2.5	98.5	(3.6)	1.25	98.8	(4.9)	0.3
carbophenothion	3.75	89.6	(3.8)	2.5	89.1	(2.2)	1.25	95.0	(5.0)	0.2
triazophos	3.75	101.4	(4.1)	2.5	98.0	(0.4)	1.25	114.9	(4.1)	0.2
phosmet	11.25	86.1	(4.2)	7.5	94.2	(4.2)	3.75	97.1	(1.8)	1

^a Average of three determinations.^b Number in parenthesis is the coefficient of variation (CV, %).

一、水體中殘留有機磷農藥抽出方法的比較

據李等(1996)指出，在實驗中回收率可接受之範圍在 60%—120% 之間，而回收重覆 (reproducible) 在 ± 10% 之間為可靠的⁽¹⁰⁾。比較水樣前處理時，兩種不同的藥劑抽出方法對 8 種有機磷劑回收率的影響，由 Table 1 知，藥劑以三種濃度混合後，各抽出法所得到的平均回收率均在 93%—105% 之間，換言之，兩種抽出法均可獲得良好的回收效果，各回收重覆的偏差係數 (coefficient of variation, CV, %)，除了方法一的藥劑抽出法在以低濃度之標準劑進行回收時，供試藥劑回收率平均偏差係數在 11%，餘均 < 7.0%，可能因方法一的樣品量較

少、試驗流程是同時考慮進行氨基甲酸鹽類藥劑的殘留量分析，故較方法二為長，在低濃度下，操作誤差較顯著。

二、魚體中殘留有機磷農藥抽出及淨化方法的比較

由試驗結果知 (Table 2)，魚肉中添加 chlorpyrifos、diazinon、EPN、ethion 及 fenitrothion 5 種藥劑後，以參考 Okumura & Nishikawa(1995)⁽⁶⁾之方法 (方法二) 進行前處理，5 種藥劑之回收率依次為：12.7%、83.9%、21.7%、18.1% 及 52.1%，顯示 Okumura & Nishikawa(1995)之方法僅適用於藥劑之定性而不適用於定量。魚肉中添加 chlor-

pyrifos等10種已知濃度之有機磷劑，以方法一之前處理方式進行回收測試，10種藥劑中除了dimethoate及ethoprophos兩種藥劑無法偵測得到（回收率為0）、fensulfothion的回收率在7.3%外，其餘7種藥劑的回收率均在70%以上，推測與dimethoate、ethoprophos及fensulfothion三種藥劑在水中的溶解度有關，三種藥劑在水中的溶解度依次為25,000、700及1,540 mg/l，屬水溶性高之藥劑。參考Marquis等之方法⁽⁷⁾修正淨化步驟後（方法三），由Table 2知，在淨化步驟中，當洗滌液二氯甲烷及正己烷的混合比例為1:2、1:3時，11種供試藥劑僅6種藥劑在預期的圖譜中出現，此可能與洗滌液的極性有關；在洗滌液比例為1:1及1:5

時，10種供試藥劑中均只有9種藥劑在預期的圖譜中出現，無法測得dimethoate，fensulfothion雖然在預期的圖譜中出現，但回收率很低分別為21.3%及9.3%。比較方法一及方法二的差異，主要在淨化步驟中所用淨化管洗滌液的種類，前者為正己烷及苯，後者為二氯甲烷及正己烷的混合液，受苯之極性較小的影響，水溶性高之藥劑（水中溶解度>700 mg/l）不易測得，改以二氯甲烷及正己烷的混合液（1:1或1:5的混合方法）為洗滌液後，ethoprophos的回收率達94%以上，並提高fensulfothion的回收率，其中又以1:1的混合方式fensulfothion的回收率可提早至21.3%。此外，就操作時對人體安全性而言，苯對人體具潛在之危險性

Table 4. Recoveries of 21 organophosphorate pesticides in 10 g fish

pesticides	high spike level		middle spike level		low spike level		detection limit (ng/g)
	spiked level	recovery (%) ^a	spiked level	recovery (%)	spiked level	recovery (%)	
	(μg)		(μg)		(μg)		
Mix 1							
ethoprophos	3.75	82.9 (3.0) ^b	2.5	75.4 (6.6)	1.25	79.6 (5.9)	9
phorate	3.75	78.8 (10)	2.5	83.2 (3.4)	1.25	87.3 (2.4)	5
diazinon	3.75	96.5 (4.4)	2.5	89.9 (2.8)	1.25	95.6 (3.4)	4
dimethoate	3.75	—	2.5	—	1.25	—	—
pirimiphos-methyl	3.75	95.4 (8.3)	2.5	82.2 (1.9)	1.25	95.2 (5.0)	8
chlorpyrifos	3.75	96.3 (5.2)	2.5	90.1 (2.8)	1.25	99.3 (2.2)	7
fenitrothion	3.75	83.4 (2.1)	2.5	86.4 (2.8)	1.25	103.6 (6.9)	4
ethyl-parathion	3.75	85.1 (0.3)	2.5	102.9 (10)	1.25	103.2 (4.2)	5
phenthoate	7.5	99.7 (8.1)	5.0	92.8 (4.1)	2.5	103.1 (5.6)	9
prothiofos	3.75	88.6 (8.5)	2.5	91.3 (9.3)	1.25	85.4 (6.2)	10
ethion	3.75	104.7 (3.8)	2.5	100.6 (3.9)	1.25	106.2 (3.5)	3
fensulfothion	3.75	—	2.5	—	1.25	—	—
cyanofenphos	3.75	123.5 (4.7)	5.0	124.9 (3.3)	1.25	136.9 (3.0)	4
EPN	7.5	121.2 (4.7)	5.0	123.7 (4.0)	2.5	134.1 (5.6)	3
Mix 2							
fonofos	3.75	97.2 (6.1)	2.5	95.2 (3.9)	1.25	92.6 (5.3)	10
methyl-parathion	3.75	115.1 (2.9)	2.5	106.8 (6.9)	1.25	101.2 (2.3)	24
tokuoxon	11.25	110.3 (2.7)	7.5	103.5 (1.8)	3.75	94.8 (2.8)	15
methidathion	3.75	115.7 (2.6)	2.5	107.9 (1.7)	1.25	98.6 (2.4)	11
carbophenothion	3.75	110.7 (3.0)	2.5	103.5 (1.9)	1.25	94.2 (2.8)	11
triazophos	3.75	116.4 (3.4)	2.5	111.0 (2.4)	1.25	102.7 (0.6)	38
phosmet	11.25	114.3 (2.7)	7.5	105.2 (1.9)	3.75	96.3 (1.8)	20

^a Average of three determinations.

^b Number in parenthesis is the coefficient of variation (CV, %).

(11)，以適當的溶劑取代苯是有必要的。

三、有機磷農藥殘留在水及魚體中同時檢出的回收率

為達同時進行多種有機磷農藥殘留偵測的目的，分析21種有機磷農藥標準劑單劑在設定儀器條件上的滯留時間，根據單劑在儀器上的滯留時間將21種藥劑分為兩組進行混合，依圖譜上出現的先後次序，第一組藥劑包括：ethoprophos、phorate、diazinon、dimethoate、pirimiphos-methyl、chlorpyrifos、fenitrothion、ethyl-parathion、phenthoate、prothiofos、ethion、fensulfothion、cyanofenphos及EPN等14種，第二組包括：fonofos、methyl-parathion、tokuoxon、methidathion、carbophenothion、triazophos及phosmet等7

Table 5. Acute toxicity of three pesticides to *Cyprinus carpio* (96hrs)

pesticides	LC50 (mg/l)	95% confidence limits
chloryprifos 40.8% EC	0.1	0.084 - 0.13
EPN 45% EC	0.032	0.016 - 0.042
fenitrothion 50% EC	0.39	0.2 - 0.44

Table 6. Resiudes of chloryprifos, EPN and fenitrothion in water and fish, under different treatment conditions

exposure	mean of residue (mg)						
time (hrs)			biological treatment		biological blank		
	stock	chemical blank	water		fish	water	fish
treatment with 1 mg of chlorpyrifos 40.8% EC in 10 l water							
3	1.1	0.77 ± 0.01 ^a	0.17	± 0.06	0.80 ± 0.053	0	0
24	1.1	0.79 ± 0.04	0.05	± 0.06	0.76 ± 0.077	0	0
48	1.1	0.78 ± 0.06	0.01	± 0.00	0.59 ± 0.029	0	0
treatment with 0.32 mg of EPN 45% EC in 10 l water							
3	0.19	0.20 ± 0.011	0.072	± 0.019	0.23 ± 0.040	0	0
24	0.22	0.21 ± 0.017	0.012	± 0.0036	0.19 ± 0.016	0	0
48	0.26	0.23 ± 0.024	0.0054	± 0.00049	0.23 ± 0.047	0	0
treatment with 3.87 mg of fenitrothion 50% EC in 10 l water							
3	3.2	3.2 ± 0.14	1.5	± 0.13	2.0 ± 0.065	0	0
24	3.4	3.3 ± 0.06	1.0	± 0.20	1.9 ± 0.20	0	0
48	3.4	3.2 ± 0.17	0.59	± 0.25	2.0 ± 0.20	0	0

^a: mean of three duplicate.

種，避免儀器分析時層析圖譜的互相干擾，各組藥劑在層析圖譜上相關位置見Figure 1。在設定的儀器條件下，儀器對第一組混合劑中phenthoate及EPN敏感度相對較其他12種藥劑為低，是以其他藥劑的兩倍濃度進行混合；儀器對第二組混合劑中tokuoxon（prophthiofos代謝產物）及phosmet的敏感度亦相對較其他7種藥劑為低，是以其他藥劑的三倍濃度進行混合。

多種有機磷農藥殘留在水體中的回收率試驗時，根據前述水體中殘留有機磷農藥抽出方法的比較結果，以方法二，即參考Okumura and Nishikawa (1995)的方法進行藥劑抽出，偵測21種藥劑、在三種添加劑量組合（高、中、低添加劑量）下，在水中的回收率，結果見Table 3：在高添加劑量組合下（即以混合劑一為例，ethoprophos在250 ml水中的添加量為3.75 µg），21種藥劑同時檢出的回收率在73.0%－102.4%之間、CV值在0.4－7.5%之間；在中等添加劑量組合下（即ethoprophos在250 ml水中的添加量為2.5 µg），21種藥劑同時檢出的回收率在70.6%－108.4%之間、CV值在0.4－5.2%之間；在低添加劑量組合下（ethoprophos在250 ml水中的添加量為1.25 µg），21種藥劑同時檢出的回收率在73.6%－

114.9% 之間、CV 值在 0.4 – 9.3% 之間。

根據魚體中殘留有機磷農藥抽出及淨化方法的比較結果，以方法三中樣品淨化時所用洗滌液混合比例為 1:1 的前處理方式，偵測上述除 dimethoate 及 fensulfothion 以外之 19 種藥劑，在三種添加劑量組合（高、中、低添加劑量）下，魚體中的回收率見 Table 4。在高添加劑量下（即以混合劑一為例，ethoprophos 在 10 g 魚肉中的添加量為 3.75 μg ），19 種藥劑同時檢出的回收率在 78.8% – 123.5% 之間、CV 值在 0.3 – 10% 之間；在中等添加劑量下（ethoprophos 在 10 g 魚肉中的添加量為 2.5 μg ），19 種藥劑同時檢出的回收率在 75.4% – 124.9% 之間、CV 值在 1.7 – 10% 之間；在低添加劑量下（ethoprophos 在 10 g 魚肉中的添加量為 1.25 μg ），19 種藥劑同時檢出的回收率在 79.6% – 136.9% 之間、CV 值在 0.6 – 6.9% 之間。三種添加劑量組合中，均以混合劑一中 cyanofenphos 及 EPN 的回收率平均值 > 120%，尤其是在低濃度下 cyanofenphos 及 EPN 的回收率分別在 $136.9 \pm 4.1\%$ 及 $134.1 \pm 7.6\%$ ，對實際殘留量有高估的現象，其原因有待進一步探討。

以低濃度組合之混合標準劑 1 ml 加入 250 ml 水及 10 g 魚肉中進行回收後，估計各藥劑在儀器上的偵測界限（detection limit）：在設定儀器條件下，21 種藥劑在水中的偵測界限約在 0.2 – 2.0 ppb 之間、在魚體內的偵測界限（dimethoate 及 fensulfothion 不計）在 3 – 38 ng/g 之間（見 Table 3 及 Table 4）。

四、三種藥劑在水及魚體內殘留量之分佈

偵測陶斯松（chlorpyrifos）40.8%EC、一品松（EPN）45%EC 及撲滅松（fenitrothion）50%EC 三種商品化藥劑對鯉魚的 96 小時急毒性，分別為 0.1、0.032 及 0.39 mg/l（見 Table 5）。

根據急毒性試驗結果，探討魚體分別暴露在三種藥劑中，48 小時內藥劑在水及魚體內分佈的情形，由 Table 6 知，在試驗過程中生物空白組（biological blank, 即不含藥劑僅含魚體的處理組）均無藥劑存在。在 10 公升的水中，陶斯松 40.8%EC 主成份的總添加劑量名義上（nominal concentration）為 1 mg 之處理組，貯存液（stock）中所測得的陶斯松實際含量為 1.1 mg，在試驗開始後 24 及 48 小時所測的含

量亦維持在 1.1 mg，顯示藥劑在低溫貯存下 48 小時內主成份含量並無明顯變化，但在藥劑對照組（chemical blank, 即水中僅含藥劑不放魚之處理組）試驗開始後 3 小時取水樣分析，估計水中陶斯松的總含量為 0.77 ± 0.01 mg 較名義上的添加量略低，但 24 及 48 小時分析結果亦顯示，陶斯松單獨存在於水中 48 小時內主成份含量變化不大，試驗開始後 48 小時水中含量仍達 0.78 ± 0.06 mg。在生物處理組（biological treatment, 即水中有藥及魚存在的處理組），水中陶斯松主成份的含量在試驗開始後 3 小時為 0.17 ± 0.06 mg、48 小時時為 0.01 mg，以名義上水中添加之陶斯松總量為比較標準，比較在貯存液、藥劑對照組及生物處理組三種處理下水中陶斯松的含量變化（Figure 2），顯示在有魚隻存在的環境下，48 小時內水中陶斯松的含量迅速降低，至試驗開始後 48 小時，水中陶斯松的總含量低於添加量的 5%；但在魚體內陶斯松的總含量在試驗開始後 3 小時即達 0.80 ± 0.053 mg、至試驗開始後 48 小時魚體內之總含量為 0.59 ± 0.029 mg。比較生物處理組陶斯松在水及魚體內的殘留量分佈情形，由 Figure 3 知，在水中陶斯松添加量為 1 mg 的環境下，試驗開始後 3 小時至 48 小時，陶斯松均主要分佈在魚體內，但在試驗期間內無論水或魚體內陶斯松的含量均逐漸降低，顯示魚體暴露於含陶斯松（0.1 mg/l）的環境下，魚體內陶斯松的含量迅速達到平衡（3 小時內），在試驗開始後 48 小時已有部份陶斯松自魚體或水中消失。Chlorpyrifos 為一種親脂性的化合物，易於水生物體內累積^(12,13)，Serrano 等(1995)亦指出陶斯松於短時間內會在軟體動物（*Mytilus galloprovincialis* 和 *Venus gallina*）體內迅速累積⁽¹⁴⁾，據 Rice 等(1997)的研究指出，chlorpyrifos 在殘存的 *Oryzias latipess* 體內 48 小時累積濃度可達水中濃度的 727 至 1,143 倍⁽²⁾。

一品松 45%EC 試驗結果顯示，各處理組主成份的總添加劑量名義上為 0.32 mg（Table 6），試驗期間內貯存液中所測得藥劑實際含量在 0.19 – 0.26 mg 之間，藥劑對照組及生物處理組水中一品松主成份的總含量與陶斯松處理組試驗結果類似，在試驗開始後 3、24 及 48 小時內，藥劑對照組主成份含量變化不大、生物處理組主成份含量逐漸降低。以水中名義上添加之一品松總量為比較標準，比較在貯存液、藥劑對照組及生物處理組三種處理下水中一品松

的含量變化 (Figure 4)，亦顯示在有魚隻存在下水中一品松的含量迅速降低，而一品松單獨存在於水中時，48小時內水中藥劑含量並無明顯的變化。比較魚體暴露在一品松含量為0.032 mg/l的環境中48小時內一品松在魚體及水中的分佈情形 (Figure 5)，與陶斯松試驗結果類似，一品松迅速在魚體內累積，在48小時供試期間內一品松亦主要殘留於魚體內，但比

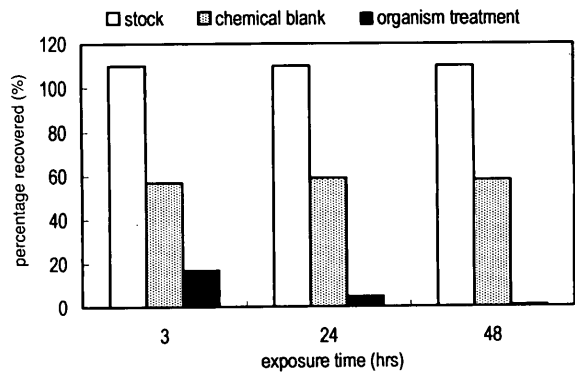


Figure 2. Residues of chlorpyrifos 40.8% EC in different condition.

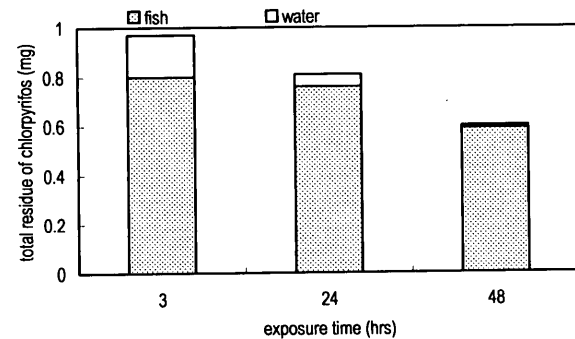


Figure 3. Distribution of chlorpyrifos 40.8% EC between fish and water.

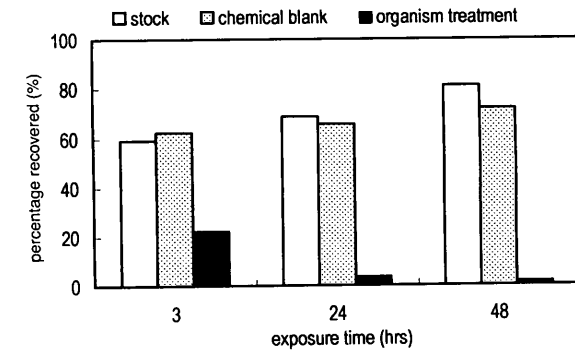


Figure 4. Residues of EPN 45% EC in different condition.

較試驗開始後3小時及48小時水及魚體內一品松的總殘留量，因一品松殘留量分析結果變異較大，在試驗開始後48小時內一品松的消退並不明顯。

在撲滅松 50% EC 主成份的總添加劑量名義上為 3.87 mg 之處理組，試驗期間內貯存液中所測得藥劑含量在 3.2 -3.4 mg 之間，藥劑對照組及生物處理組水中撲滅松主成份的總含量

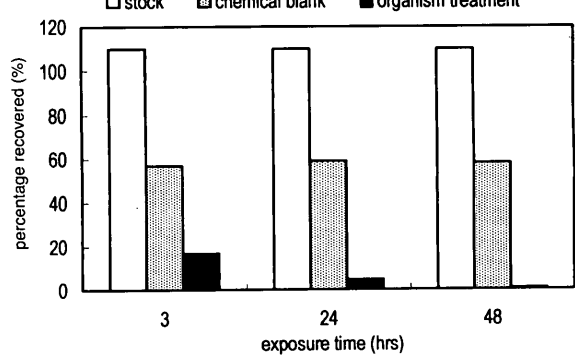


Figure 5. Distribution of EPN 45% EC between fish and water.

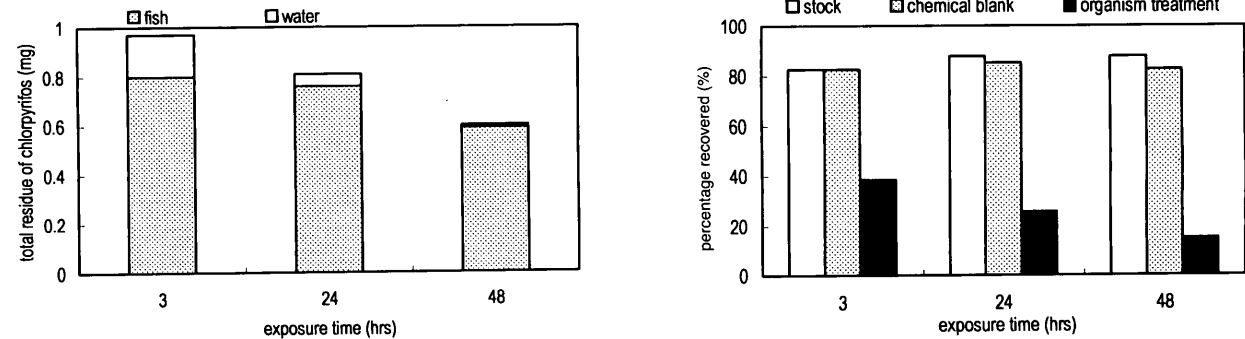


Figure 6. Residues of fenitrothion 50% EC in different condition.

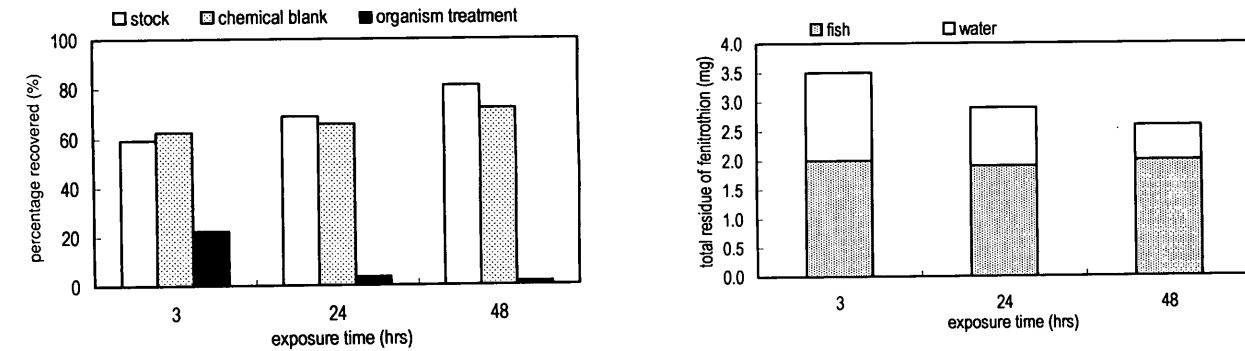


Figure 7. Distribution of fenitrothion 50% EC between fish and water.

與前述兩藥劑處理組試驗結果類似，在試驗開始後3、24及48小時內，藥劑對照組主成份含量變化不大、生物處理組主成份含量逐漸降低 (Table 6)。以水中名義上添加之撲滅松總量為比較標準，比較在貯存液、藥劑對照組及生物處理組三種處理下水中撲滅松的含量變化 (Figure 6)，亦顯示撲滅松單獨存在於水中時，48小時內水中藥劑含量並無明顯的變化，與前述藥劑相同，在有魚隻存在下，水中撲滅松的含量雖然亦有降低的現象，但消退情形不若前述兩種藥劑迅速，至試驗開始後48小時時生物處理組水中撲滅松的總殘留量仍有名義上添加量之10%以上。比較48小時內撲滅松在魚體及水中的分佈情形 (Figure 7)，在試驗開始後3小時內，撲滅松在魚體的累積即已達平衡與前述兩種試驗結果相似，但撲滅松的殘留量平均分佈在水及魚體內，試驗開始後48小時，撲滅松的總含量雖略微降低，但魚體內的殘留含量並無顯著的減少。

綜合上述試驗結果知，受魚體表面覆蓋的角質層及體內油脂含量的影響，使得魚體內殘留農藥的抽出方法，與一般果蔬及水中藥劑殘留分析方法不同。陶斯松40.8%EC、一品松45%EC及撲滅松50%EC三種商品化藥劑對鯉魚的48小時生物檢定試驗，除證實魚體暴露在上述三種藥劑中後會將藥劑迅速累積在體內外，由藥劑在水及魚體內的分佈情形知藥劑在水中的宿命 (fate) 與生物的存在與否有密切關係，生物變因造成藥劑的不穩定性，也易造成水污染區水樣分析結果的假象，並顯示疑污染水域或養殖池中生物體內殘留量的偵測極為重要。

誌謝

本研究承行政院農業委員會86科技-1.6-糧-12(2)計劃經費之協助得以順利完成，謹此誌謝。

參考文獻

1. Drummond, R. A., Russom, C. L., Gieger, D. L. and DeFoe, D. L. 1986. Behavioral and morphological changes in fathead minnow (*Pimephales promelas*) as diagnostic endpoints for screening chemicals according to mode of action. In "Aquatic Toxicology and Environmental Fate: Ninth Volume. STP 921". pp. 415-435. Poston, T. M. and Prudy, R. ed. American Society for Testing and Material, Philadelphia, PA, U. S. A.
2. Rice, P. J., Drewes, C. D., Klubertanz, T. M., Bradbury, S. P. and Coats, J. R. 1997. Acute toxicity and behavioral effects of chlorpyrifos, perethrin, phenol, strychnine, and 2,4-dinitrophenol to 30-day-old Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Environ. Toxicol. Chem. 16: 696-704.
3. Litte, E. E., Archeski, R. D., Flerov, B. A. and Kozlovkaya, V. I. 1990. Behavioural indicators of sublethal toxicity in rainbow trout. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 19: 380-385.
4. Unknow. 1997. Proceedings of The Central Taiwan Conference on Natural Conservation. Shei-Pa National Park of Construction and Planning Administration, Ministry of Interior, R. O. C.
5. Li, G. C. and Lee, Y. H. 1984. A simple method for predicting the potential of pesticides to pollute underground water. Plant Prot. Bull. 26: 413-421.
6. Okumura, T. and Nishikawa, Y. 1995. Determination of organophosphorus pesticides in environmental samples by capillary gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatograph. 709: 319-331.
7. Marquis, P. J., Hanson, R. L., Larsen, M. L. and Devita, W. M. 1994. Analytical methods for a national study of chemical residues in fish. II. Pesticides and polychlorinated biphenyls. Chemosphere 29: 509-521.
8. U. S. EPA. 1989. Method 1618: organo-halide pesticides, and phenoxy-acid herbicides by Wide-Bore capillary column gas chromatography with selective detectors. Office of Water. (available from EPA Office of Waste Water, Regulations and Standards; TX: 202-260-2272).
9. Sun, F. 1996. Testing methods for estimating the toxicity of chemicals to aquatic organisms. TACTRI. RCD. Tech. Bull.
10. Li, H. P., Lay, Y. Y., Wong, S. S. and Li, G. C.

1996. The establishment of standard residue analysis methods on agricultural products. Department of Health, Executive Yuan, ROC. DOH 85-FS001.
11. Snyder, R. 1996. Benzene toxicity, carcinogenesis, and epidemiology. [Research Triangle Park, NC] : National Institutes of Health, National Institute of Environmental Health Sciences. p.1121-1446. Washington, DC: Supt. of Docs., U.S. GPO, distributor.
12. Goodman, L.R., Hansen, D. J., Cripe, G. N., Middaugh, D. P. and Moore, J. C. 1985. A new early life-stage toxicity test using the California grunion (*Leuresthes tenuis*) and results with chlorpyrifos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 10:12-21.
13. Jarvinen, A. W., Nordling, B. R. and Henry, M. D. 1983. Chronic toxicity of Dursban (chlorpyrifos) to fathead minnows (*Pimephales promelas*) and the resultant acetylcholinesterase inhibition. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 7: 423-434.
14. Serrano, R., Hernandez, F., Pena, J. B., Dosda, V. and Canales, J. 1995. Toxicity and bioconcentration of selected organophosphorus pesticides in *Mytilus galloprovincialis* and *Venus gallina*. *Arch. Environ. Toxicol.* 29:284-290.

Technique for Detecting Organophosphate Pesticides Residues in Aquaria

FEEI SUN*, SUE-SUN WONG AND GWO-CHEN LI

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substance Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

For detecting residue of organophosphorus pesticides (OPs) in polluted aquaria, a suitable multiresidue analyses method is necessary. The fate of pesticides in pond water must be understand, as well. In this study, one major purpose was to screen suitable pre-treatment methods of water/fish sampling for multiresidue analyses of OPs in aquaria. The second purpose was to study the distribution of pesticides from water to fish. To analyze water samples, the pretreatment method of Li (1984) and Okumura & Nishikawa (1995) were compared. From the results with 8 OPs, the latter is beneficial for analyzing multiresidues of OPs in aquaria for recoveries with fewer coefficients of variation and less time cost. To analyze fish samples, a method that used a safe solvent and one that detected the pesticides mostly at same time was developed. This method is suitable for OPs that have low polarity. *Cyprinus carpio* was exposed to three commercial OPs, including chlorpyrifos 40.8% EC, EPN 45% EC and fenitrothion 50 % EC, to evaluate the distribution of pesticides in fish tissue from water. The pesticide was applied as a single dose of their LC50-96hrs to *Cyprinus carpio* for 48hrs. Data of pesticides residue in fish muscle showed that these pesticides can be bioconcentrated to fish body within a short time. The necessity of analyzing residues in fish to determine if an aquarium is polluted by OPs or not is discussed in this paper.

Key words: organophosphorus pesticides, residues, fish, water.