

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－Avermectin類抗生素之檢驗
Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods -
Test of Avermectins

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽水產品中阿巴汀(abamectin)等6品項抗生素(品項見表一)之多重殘留分析。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/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：電灑離子化正離子(positive ion electrospray ionization, ESI⁺)。
 - 2.1.1.2. 層析管：XSELECT HSS T3，2.5 μ m，內徑 2.1 mm $\times$ 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 離心機(Centrifuge)。
 - 2.1.3. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.4. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.1.5. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。
 - 2.1.6. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.1.7. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2. 試藥：甲酸、甲醇及乙腈均採用液相層析級；正己烷及氨水(30%)採用試藥特級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}$ C可達18 M Ω ·cm以上)；阿巴汀、多滅蟲(doramectin)、emamectin、eprinomectin、愛滅蟲(ivermectin)及moxidectin對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：15 mL及50 mL，PP材質。
 - 2.3.2. 固相萃取匣(Solid phase extraction cartridge)：Sep-Pak C8，6 mL，500 mg，或同級品。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 μ m，PVDF材質。
 - 2.4. 5%乙腈溶液之調製：

取乙腈5 mL，加去離子水使成100 mL。
 - 2.5. 移動相溶液之調製：
 - 2.5.1. 移動相溶液A：

取甲酸1 mL，加去離子水使成1000 mL，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：乙腈。

2.6. 標準溶液之配製：

取阿巴汀、多滅蟲、emamectin、eprinomectin、愛滅蟲及 moxidectin 對照用標準品各約 10 mg，精確稱定，分別以乙腈溶解並定容至 10 mL，作為標準原液，於-20℃貯存。臨用時分別取適量標準原液混合，以乙腈溶液稀釋至 0.01~5 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 萃取：

2.7.1.1. 肌肉及內臟：

將檢體細切均質後，取肌肉檢體約5 g或內臟檢體約2 g，精確稱定，置於離心管中，加入乙腈25 mL，旋渦混合1分鐘，振盪10分鐘，以3200 × g離心10分鐘，取上清液。加入正己烷20 mL，旋渦混合1分鐘，以3200 × g離心5分鐘，取下層液，加入正己烷20 mL，重複此步驟一次。下層液於40℃水浴中以氮氣濃縮至乾，加入去離子水10 mL及氨水100 µL，旋渦混合後，供淨化用。

2.7.1.2. 乳汁：

將檢體混勻後，精確量取10 mL，置於離心管中，加入乙腈25 mL，旋渦混合1分鐘，振盪10分鐘，以3200 × g離心10分鐘，取上清液，加入正己烷10 mL，旋渦混合 1 分鐘，以3200 × g離心5分鐘，取下層液，於40℃水浴中以氮氣濃縮至約8 mL，加入去離子水10 mL及氨水100 µL，旋渦混合後，供淨化用。

2.7.2. 淨化：

取2.7.1.節供淨化用溶液，注入預先以乙腈5 mL及去離子水5 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液，以5%乙腈溶液10 mL流洗，棄流出液，再以乙腈5 mL沖提，收集沖提液，以去離子水定容至10 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線之製作：

取空白檢體依2.7.節萃取及淨化後，分別添加不同濃度標準溶液1 mL，以去離子水定容至10 mL，經濾膜過濾後，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析。就各抗生素之定量離子波峰面積，與對應之各抗生素添加濃度，分別製作基質匹配檢量線。液相層析串聯質譜測定條件^(註)：

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 → 1.5	100 → 100	0 → 0
1.5 → 3.0	100 → 30	0 → 70
3.0 → 5.0	30 → 5	70 → 95
5.0 → 12.0	5 → 5	95 → 95
12.0 → 12.1	5 → 100	95 → 0
12.1 → 17.0	100 → 100	0 → 0

移動相流速：0.4 mL/min。

注入量：10 µL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：5.5 kV。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：550℃。

氣簾氣體(Curtain gas)：20 psi。

霧化氣體(Ion source gas 1)：50 psi。

加熱氣體(Ion source gas 2)：50 psi。

偵測模式：多重反應偵測 (multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、去集簇電壓(declustering potential)與碰撞能量(collision energy)如表一。

註：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。

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各10 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.8.節條件進行分析。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比^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各抗生素之含量(ppm)：

$$\text{檢體中各抗生素之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由基質匹配檢量線求得檢液中各抗生素之濃度(µg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積比而得(≤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表二。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

表一、阿巴汀等6品項抗生素之多重反應偵測模式參數

分析物		離子對	去集簇 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)
英文名	中文名	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)		
Abamectin	阿巴汀	895 > 751*	51	57
		895 > 449	51	61
Doramectin	多滅蟲	921 > 777*	51	59
		921 > 449	51	61
Emamectin	—	886 > 158*	51	45
		886 > 302	51	39
Eprinomectin	—	936 > 490*	51	65
		936 > 352	51	69
Ivermectin	愛滅蟲	897 > 753*	51	57
		897 > 329	51	65
Moxidectin	—	640 > 528*	51	15
		640 > 478	51	17

* 定量離子對

表二、阿巴汀等6品項抗生素之定量極限

分析物		定量極限(ppm)		
英文名	中文名	肌肉	內臟	乳汁
Abamectin	阿巴汀	0.01	0.01	0.005
Doramectin	多滅蟲	0.002	0.01	0.005
Emamectin	—	0.005	0.005	0.005
Eprinomectin	—	0.01	0.1	0.005
Ivermectin	愛滅蟲	0.005	0.01	0.005
Moxidectin	—	0.01	0.03	0.01