

食品中Mequindox及其代謝物之鑑別

Method of Test for Identification of Mequindox and its Metabolites in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於鮑魚中mequindox (MEQ)及其代謝物等5項藥物(品項見附表)之鑑別。
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(electrospray ionization, ESI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：ACQUITY UPLC，BEH C18，1.7 μm ，內徑2.1 mm \times 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.1.3. 高速分散裝置(High speed dispersing device)：SPEX SamplePrep 2010 GenoGrinder[®]，1000 rpm以上，或同級品。
 - 2.1.4. 離心機(Centrifuge)：可達4000 $\times g$ 以上者。
 - 2.1.5. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。
 - 2.1.6. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2. 試藥：偏磷酸(metaphosphoric acid)採試藥級；甲酸及乙腈均採用液相層析級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；MEQ等5項對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。
 - 2.3.2. 濾膜：孔徑0.22 μm ，PVDF材質。
 - 2.3.3. 容量瓶：1 mL及10 mL。
 - 2.3.4. 固相萃取匣(Solid phase extraction cartridge)：Bond Elute C18，500 mg，6 mL，或同級品。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 0.3%偏磷酸溶液：

稱取偏磷酸1.5 g，以去離子水溶解使成500 mL。
 - 2.4.2. 萃取溶液：

取0.3%偏磷酸溶液、甲醇及乙腈以5：3：2 (v/v/v)之比例混勻，臨用時調製。
 - 2.4.3. 10% 甲醇溶液：

取甲醇10 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，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

2.5.2. 移動相溶液B：

取甲酸1 mL，加乙腈使成1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

2.6. 標準溶液之配製：

取MEQ等5項對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷凍避光貯存。臨用時取適量各標準原液混合，以10% 甲醇溶液稀釋至BDMEQ、1-DMEQ、4-DMEQ及MEQ均為0.4 µg/mL，MQCA為2 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 萃取：

檢體切細均質後，取約2 g，精確稱定，置於離心管中，加入萃取溶液10 mL，以高速分散裝置於1000 rpm振盪萃取10分鐘，再以4000 ×g 離心2分鐘，收集上清液，殘渣再加入萃取溶液10 mL，重複上述步驟萃取1次，合併上清液，供作淨化。

2.7.2. 淨化：

取2.7.1.節供淨化用之溶液，注入預先以甲醇5 mL及去離子水5 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液，以去離子水6 mL清洗，棄流出液，再以真空抽乾1分鐘。以甲醇8 mL沖提，收集沖提液，於40°C水浴中以氮氣吹至微乾，殘留物以10% 甲醇溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.8. 比對溶液之調製：

取空白檢體，分別加入標準溶液10 µL，依2.7.節調製檢液，供作比對溶液。

2.9. 鑑別試驗：

精確量取檢液及比對溶液各5 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就檢液與比對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1)鑑別之。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註2)：

層析管：ACQUITY UPLC，BEH C18，1.7 µm，內徑2.1 mm × 10 cm。

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 → 2.5	85 → 75	15 → 25
2.5 → 3.5	75 → 5	25 → 95
3.5 → 7.0	5 → 85	95 → 15
7.0 → 15	85 → 85	15 → 15

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：5 μ L。

離子化模式：ESI正離子。

霧化氣體流速(Nebulizing gas flow)：3 L/min。

加熱氣體流速(Heating gas flow)：10 L/min。

介面溫度(Interface temperature)：300°C。

介面電壓(Interface voltage)：4 kV。

脫溶劑管溫度(Desolvent line temperature)：200°C。

加熱氣體溫度(Heat block temperature)：400°C。

乾燥氣體流速(Drying gas flow)：10 L/min。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對Q1/Q3聚焦電壓(Q1/Q3 Pre Bias)及碰撞電壓(collision voltage)如附表。

註：1. 相對離子強度由二偵測離子對之波峰面積相除而得($\leq 100\%$)，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

2. 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。

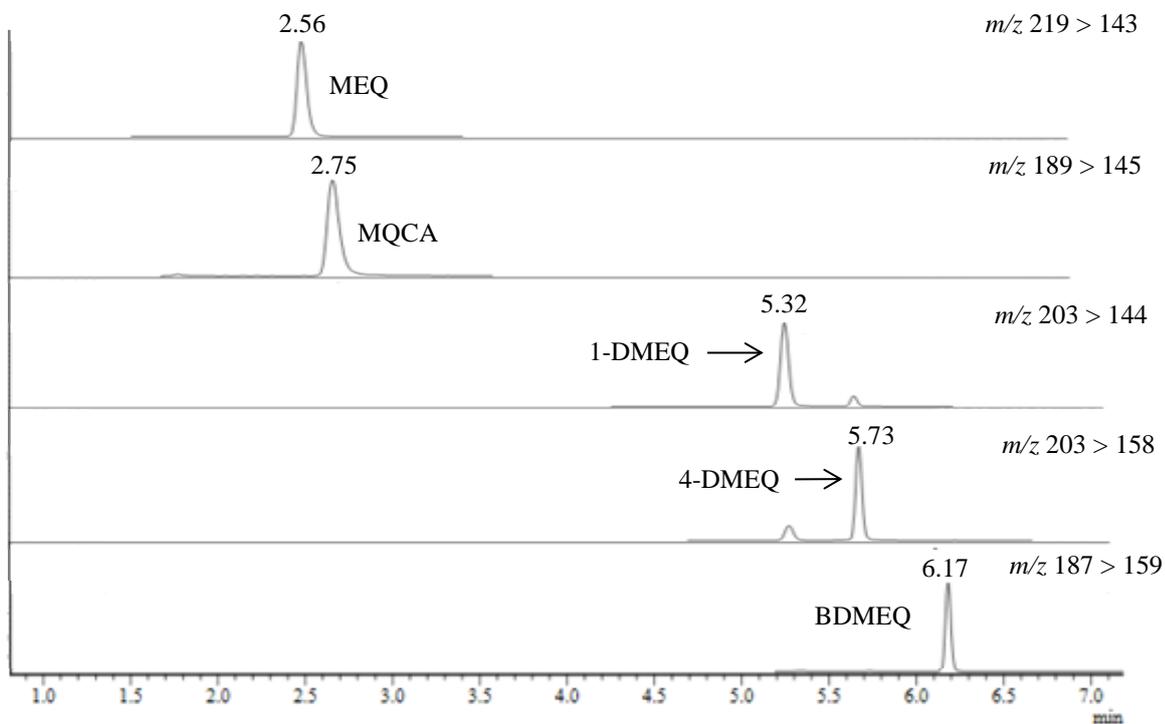
附註：1. 本檢驗方法之偵測極限如附表。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. Li, Y., Liu, K., Beier, R. C., Cao, X., Shen, J. and Zhang, S. 2014. Simultaneous determination of mequindox, quinocetone, and their major metabolites in chicken and pork by UPLC–MS/MS. *Food Chem.* 160: 171-179.
2. Liu, H., Ren, C., Han, D., Huang, H., Zou, R., Zhang, H., Xu, Y., Gong, X., Zhang, X. and Li, Y. 2018. UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of three major metabolites of mequindox in holothurian. *J. Anal. Methods Chem.* 2018: 1-7.

參考層析圖譜



圖、以 LC-MS/MS 分析 MEQ 等 5 項標準品之 MRM 圖譜

附表、Mequindox等5項分析物之多重反應偵測模式參數

序號	分析物	離子對	Q1/Q3 聚焦 電壓 (V)	碰撞 電壓 (V)	偵測極限 (ppm)
		前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)			
1	1,4-Bisdesoxy mequindox (BDMEQ)	187 > 159	12/30	20	0.002
		187 > 145	12/29	25	
2	1-Desoxy mequindox (1-DMEQ)	203 > 144	12/27	20	0.002
		203 > 161	14/30	16	
3	4-Desoxy mequindox (4-DMEQ)	203 > 158	13/10	21	0.002
		203 > 186	13/19	16	
4	Mequindox (MEQ)	219 > 143	10/26	22	0.002
		219 > 102	10/30	16	
5	Methyl-3-quinoxaline-2-carboxylic acid (MQCA)	189 > 145	12/27	14	0.01
		189 > 143	22/27	16	