

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－抗生素及其代謝物多重殘留分析(二)

Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods－
Multiresidue Analysis of Antibiotics and its Metabolite (2)

1.適用範圍：本檢驗方法適用於乳汁中紅黴素(erythromycin)等16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：ACQUITY UPLC HSS T3，1.8 μm ，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. 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；去離子水(比電阻
於 25°C 可達 18 M Ω ·cm 以上)；紅黴素等對照用標準品
共 16 品項。

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：10 mL。

2.4. 試劑之調製：

2.4.1. 50%乙腈溶液：

取乙腈 50 mL，加去離子水使成 100 mL。

2.4.2. 50%甲醇溶液：

取甲醇 50 mL，加去離子水使成 100 mL。

2.5. 移動相溶液之配製：

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：

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

2.6. 標準溶液之配製：

取純黴素M1、林可黴素、clindamycin及orbifloxacin抗生素對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以50%乙腈溶液溶解；其餘抗生素對照用標準品各取約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，以50%甲醇溶液稀釋至0.01～0.4 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

將檢體混勻後，精確量取2 mL，置於離心管中，加入乙腈15 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，於40℃水浴中以氮氣吹乾，殘留物以50%甲醇溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線之製作：

取空白檢體依2.7節萃取及氮氣吹乾後，分別添加不同濃度標準溶液1 mL溶解，經濾膜過濾後，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析。就各抗生素之波峰面積，與對應之各抗生素濃度，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 → 1.0	100 → 90	0 → 10
1.0 → 5.0	90 → 60	10 → 40
5.0 → 8.0	60 → 5	40 → 95
8.0 → 10.0	5 → 0	95 → 100
10.0 → 12.0	0 → 0	100 → 100
12.0 → 12.1	0 → 100	100 → 0
12.1 → 15.0	100 → 100	0 → 0

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：10 µL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：1.82 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：150℃。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：600℃。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)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^(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、紅黴素等 16 品項抗生素之多重反應偵測模式參數

分析物		離子對	進樣錐	碰撞
英文名	中文名	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	電壓 (V)	能量 (eV)
clarithromycin	—	748.7 > 158.0*	28	32
		748.7 > 115.9	28	44
erythromycin	紅黴素	734.6 > 158.1*	26	32
		734.6 > 576.5	26	18
josamycin	—	828.7 > 109.0*	46	44
		828.7 > 174.1	46	34
kitasamycin	北里黴素	772.6 > 109.0*	46	44
		772.6 > 174.1	46	32
neospiramycin I	—	699.6 > 174.1*	34	30
		699.6 > 142.1	34	22
oleandomycin	歐黴素	688.6 > 158.0*	24	28
		688.6 > 544.5	24	16
spiramycin I	史黴素 I	843.7 > 174.0*	48	38
		843.7 > 142.0	48	34
tilmicosin	—	869.8 > 174.1*	70	46
		869.8 > 132.0	70	50
tylosin	泰黴素	916.8 > 174.0*	50	40
		916.8 > 100.9	50	50
virginiamycin M1	純黴素 M1	526.4 > 355.2*	24	18
		526.4 > 337.1	24	22
cefoperazone	—	646.4 > 143.1*	18	40
		646.4 > 530.2	18	18

* 定量離子對

表一、紅黴素等 16 品項抗生素之多重反應偵測模式參數(續)

分析物		離子對	進樣錐	碰撞
英文名	中文名	前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	電壓 (V)	能量 (eV)
mecillinam	—	326.3 > 167.1*	32	22
		326.3 > 139.1	32	30
clindamycin	—	425.3 > 126.1*	30	28
		425.3 > 377.2	30	20
lincomycin	林可黴素	407.3 > 126.1*	32	30
		407.3 > 359.3	32	18
orbifloxacin	—	396.3 > 295.1*	32	24
		396.3 > 226.1	32	42
novobiocin	諾伯黴素	613.4 > 189.1*	22	28
		613.4 > 133.0	22	60

* 定量離子對

表二、紅黴素等16品項抗生素定量極限如下表：

分析物		定量極限(ppm)
英文名	中文名	乳汁
clarithromycin	—	0.005
erythromycin	紅黴素	0.005
josamycin	—	0.005
kitasamycin	北里黴素	0.01
neospiramycin I	—	0.02
oleandomycin	歐黴素	0.01
spiramycin I	史黴素 I	0.02
tilmicosin	—	0.02
tylosin	泰黴素	0.02
virginiamycin M1	純黴素 M1	0.01
cefoperazone	—	0.01
mecillinam	—	0.01
clindamycin	—	0.02
lincomycin	林可黴素	0.02
orbifloxacin	—	0.01
novobiocin	諾伯黴素	0.01