

食品中動物用藥殘留量檢驗方法—多重殘留分析(二)  
Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods-  
Method for Multiresidue Analysis (2)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽水產品中西氟沙星(ciprofloxacin)等35品項動物用藥(品項見表一)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<sup>+</sup>)。
      - 2.1.1.2. 層析管：ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS T3, 1.8 μm, 內徑 2.1 mm × 10 cm, 或同級品。
    - 2.1.2. 均質機(Homogenizer)。
    - 2.1.3. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
    - 2.1.4. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
    - 2.1.5. 離心機(Centrifuge)：可控制溫度達4°C以下，轉速可達4000 rpm 以上者。
    - 2.1.6. 振盪器(Shaker)。
    - 2.1.7. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
  - 2.2. 試藥：乙腈及甲醇均採用液相層析級；甲酸、二甲基甲醯胺(dimethylformamide)、無水硫酸鈉及正己烷均採用試藥特級；西氟沙星(ciprofloxacin)等動物用藥對照用標準品共35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, Nylon材質。
    - 2.3.3. 容量瓶：100 mL。
  - 2.4. 移動相溶液之調製：
    - 2.4.1. 移動相溶液A：

去離子水與甲酸以99.9：0.1 (v/v)之比例混勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

#### 2.4.2. 移動相溶液B：

甲醇與甲酸以99.9：0.1 (v/v)之比例混勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

#### 2.5. 標準溶液之配製：

取動物用藥對照用標準品各約 10 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至 100 mL，piromidic acid 以二甲基甲醯胺溶解並定容至 100 mL，作為標準原液。使用時，分別取適量標準原液共置於容量瓶中，以 20% 甲醇溶液稀釋至 0.005~1.0 µg/mL，作為標準溶液。

#### 2.6. 檢液之調製：

將檢體細切均質後，取約 5 g，精確稱定，置於離心管中，加入含 5% 甲醇之乙腈溶液 25 mL，以均質機均質 3 分鐘，加入無水硫酸鈉 10 g，振盪 10 分鐘，於 4°C 以 4000 rpm 離心 10 分鐘，取上清液，離心管中沈澱物再加入含 5% 甲醇之乙腈溶液 25 mL，振盪 10 分鐘，於 4°C 以 4000 rpm 離心 10 分鐘，合併上清液移入分液漏斗，加入乙腈飽和之正己烷溶液 30 mL，振盪 3 分鐘進行液液分配，收集乙腈層，以 40°C 減壓濃縮至乾，殘留物以 20% 甲醇溶液溶解並定容至 1 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

#### 2.7. 基質匹配檢量線製作：

取空白檢體依2.6節調製空白檢液，於液液分配處理後所得之乙腈溶液中分別添加不同濃度標準溶液1 mL，將此溶液濃縮至乾，殘留物以20%甲醇溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾後，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析。就各動物用藥之定量離子波峰面積與對應之各動物用藥濃度，分別製作基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件<sup>(註)</sup>：

層析管柱溫度：35°C。

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 → 2.0	96 → 95	4 → 5
2.0 → 3.0	95 → 80	5 → 20
3.0 → 6.0	80 → 75	20 → 25
6.0 → 8.6	75 → 73	25 → 27
8.6 → 14.5	73 → 63	27 → 37
14.5 → 14.7	63 → 0	37 → 100
14.7 → 18.7	0 → 96	100 → 4
18.7 → 20.0	96 → 96	4 → 4

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：10  $\mu$ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：3.3 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：120°C。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：450°C。

進樣錐氣體流速(Cone gas flow rate)：100 L/hr。

溶媒揮散流速(Desolvation flow rate)：800 L/hr。

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。

## 2.8. 鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各10  $\mu$ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.7.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<sup>(註)</sup>鑑別之，並依下列計算式求得檢體中各動物用藥含量(ppm)：

$$\text{檢體中各動物用藥之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由基質匹配檢量線求得檢液中各動物用藥之濃度( $\mu$ g/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相除而得 ( $\leq 100\%$ )，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	$\pm 20$
20 ~ 50	$\pm 25$
10 ~ 20	$\pm 30$
$\leq 10$	$\pm 50$

附註：1. 本檢驗方法之檢出限量如表二。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

表一、西氟沙星等 35 項動物用藥之多重反應偵測模式參數

項次	分析物		定量離子對			定性離子對		
	英文名	中文名	前驅離子( $m/z$ )> 產物離子( $m/z$ )	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	前驅離子( $m/z$ )> 產物離子( $m/z$ )	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
1	ciprofloxacin	西氟沙星	332 > 314	30	25	332 > 231	30	45
2	danofloxacin	大安氟喹啉羧酸	358 > 340	35	30	358 > 283	40	25
3	difloxacin	二氟喹啉羧酸	400 > 356	35	20	400 > 299	35	30
4	enrofloxacin	恩氟喹啉羧酸	360 > 316	35	20	360 > 245	35	25
5	floxacin	—	370 > 326	30	20	370 > 269	35	25
6	flumequine	氟滅菌	262 > 244	25	20	262 > 202	25	30
7	lomefloxacin	—	352 > 265	30	25	352 > 308	30	15
8	marbofloxacin	—	363 > 345	35	20	363 > 72	30	25
9	nalidixic acid	那利得酸	233 > 215	20	15	233 > 187	20	25
10	norfloxacin	諾氟喹啉羧酸	320 > 302	30	20	320 > 276	30	15
11	oxolinic acid	歐索林酸	262 > 244	25	20	262 > 216	25	35
12	pefloxacin	—	334 > 316	30	20	334 > 233	35	25
13	pipemidic acid	—	304 > 217	30	20	304 > 189	30	30
14	piromidic acid	—	289 > 243	25	30	289 > 271	25	20

表一、西氟沙星等 35 項動物用藥之多重反應偵測模式參數(續)

項次	分析物		定量離子對			定性離子對		
	英文名	中文名	前驅離子(m/z)>產物離子(m/z)	進樣錐電壓(V)	碰撞能量(eV)	前驅離子(m/z)>產物離子(m/z)	進樣錐電壓(V)	碰撞能量(eV)
15	sarafloxacin	沙拉氟喹啉羧酸	386 > 368	40	20	386 > 342	35	20
16	succinylsulfathiazole	—	356 > 256	35	15	356 > 192	30	25
17	sulfabenzamide	—	277 > 156	20	15	277 > 92	20	30
18	sulfacetamide	乙醯磺胺	215 > 156	15	10	215 > 92	15	25
19	sulfachlorpyridazine	磺胺氯吡嗪	285 > 156	25	15	285 > 92	20	30
20	sulfadiazine	磺胺嘧啶	251 > 156	25	15	251 > 92	25	25
21	sulfadimethoxine	磺胺二甲氧嘧啶	311 > 156	35	20	311 > 92	30	35
22	sulfadoxine	磺胺鄰二甲氧嘧啶	311 > 156	25	20	311 > 92	30	30
23	sulfaethoxypyridazine	磺胺乙氧化吡嗪	295 > 156	30	20	295 > 92	30	30
24	sulfaguanidine	磺胺胍	215 > 156	20	15	215 > 92	25	25
25	sulfamerazine	磺胺甲基嘧啶	265 > 156	25	15	265 > 92	25	30
26	sulfameter	磺胺嘧特	281 > 156	25	20	281 > 92	30	30
27	sulfamethazine	磺胺二甲基嘧啶	279 > 156	30	20	279 > 186	30	15
28	sulfamethizole	—	271 > 156	25	25	271 > 92	25	25

表一、西氟沙星等 35 項動物用藥之多重反應偵測模式參數(續)

項次	分析物		定量離子對			定性離子對		
	英文名	中文名	前驅離子(m/z)>產物離子(m/z)	進樣錐電壓(V)	碰撞能量(eV)	前驅離子(m/z)>產物離子(m/z)	進樣錐電壓(V)	碰撞能量(eV)
29	sulfamethoxazole	磺胺甲基噁唑	254 > 156	25	15	254 > 92	25	25
30	sulfamethoxypyridazine	磺胺甲氧化吡嗪	281 > 156	25	15	281 > 92	30	30
31	sulfamonomethoxine	磺胺一甲氧嘧啶	281 > 156	25	10	281 > 92	30	30
32	sulfapyridine	磺胺吡啶	250 > 156	25	15	250 > 92	30	30
33	sulfaquinoxaline	磺胺喹啉	301 > 156	25	15	301 > 92	25	30
34	sulfathiazole	磺胺噻唑	256 > 156	25	15	256 > 92	25	25
35	sulfatroxazole	—	268 > 156	25	15	268 > 92	25	30

表二、西氟沙星等 35 項動物用藥之檢出限量

項次	分析物		肌肉組織 (ppm)	肝臟組織 (ppm)	水產品 (ppm)	乳品 (ppm)
	英文名	中文名				
1	ciprofloxacin	西氟沙星	0.001	0.005	0.001	0.005
2	danofloxacin	大安氟喹啉羧酸	0.001	0.001	0.001	0.001
3	difloxacin	二氟喹啉羧酸	0.001	0.001	0.001	0.001
4	enrofloxacin	恩氟喹啉羧酸	0.001	0.001	0.001	0.001
5	fleroxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
6	flumequine	氟滅菌	0.001	0.001	0.001	0.001
7	lomefloxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
8	marbofloxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
9	nalidixic acid	那利得酸	0.001	0.001	0.001	0.001
10	norfloxacin	諾氟喹啉羧酸	0.001	0.005	0.001	0.005
11	oxolinic acid	歐索林酸	0.001	0.001	0.001	0.001
12	pefloxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
13	pipemidic acid	-	0.001	0.001	0.001	0.001
14	piromidic acid	-	0.001	0.001	0.001	0.001
15	sarafloxacin	沙拉氟喹啉羧酸	0.001	0.005	0.001	0.005
16	succinylsulfathiazole	-	0.001	0.005	0.001	0.005
17	sulfabenzamide	-	0.001	0.005	0.001	0.005
18	sulfacetamide	乙醯磺胺	0.005	0.005	0.005	0.005
19	sulfachlorpyridazine	磺胺氯吡嗪	0.005	0.005	0.005	0.005
20	sulfadiazine	磺胺嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
21	sulfadimethoxine	磺胺二甲氧嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
22	sulfadoxine	磺胺鄰二甲氧嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
23	sulfaethoxypyridazine	磺胺乙氧化吡嗪	0.001	0.001	0.001	0.001
24	sulfaguanidine	磺胺胍	0.005	0.005	0.005	0.001
25	sulfamerazine	磺胺甲基嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
26	sulfameter	磺胺嘧特	0.001	0.001	0.001	0.001
27	sulfamethazine	磺胺二甲基嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
28	sulfamethizole	-	0.001	0.001	0.001	0.001
29	sulfamethoxazole	磺胺甲基噁唑	0.001	0.001	0.001	0.001
30	sulfamethoxypyridazine	磺胺甲氧化吡嗪	0.001	0.001	0.001	0.001
31	sulfamonomethoxine	磺胺一甲氧嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
32	sulfapyridine	磺胺吡啶	0.001	0.001	0.001	0.001
33	sulfaquinoxaline	磺胺喹啉	0.001	0.001	0.001	0.001
34	sulfathiazole	磺胺噻唑	0.001	0.001	0.001	0.001
35	sulfatroxazole	-	0.001	0.005	0.001	0.005



## 食用油脂中總極性化合物之檢驗方法

### Method of Test for Total Polar Compounds in Edible Oils and Fats

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食用油脂中總極性化合物之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經矽膠管柱層析(column chromatography)後，乾燥稱重之方法。
  - 2.1 裝置：
    - 2.1.1 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
    - 2.1.2 烘箱：附有自動溫度調節，溫差在 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以內者。
    - 2.1.3 紫外光燈箱。
  - 2.2 試藥：石油醚採用層析級；正己烷、乙醚及醋酸均採用化學試藥級。
  - 2.3 器具及材料：
    - 2.3.1 濾紙。
    - 2.3.2 疏水性濾紙。
    - 2.3.3 濃縮瓶：250 mL。
    - 2.3.4 容量瓶：50 mL。
    - 2.3.5 乾燥器。
    - 2.3.6 玻璃層析管：內徑  $2.1 \times 45$  cm，含 150 mL 杯體及可控制流速之閥門。
    - 2.3.7 脫脂棉花。
    - 2.3.8 矽膠：0.063 ~ 0.2 mm。
    - 2.3.9 海砂：經酸洗及鍛燒，試藥級。
    - 2.3.10 薄層層析板：矽膠，厚度 0.25 mm， $20 \times 20$  cm。
    - 2.3.11 毛細管。
    - 2.3.12 玻璃展開槽。
  - 2.4 沖提液之配製：

石油醚：乙醚以 87:13 (v/v) 之比例混合，臨用時配製。
  - 2.5 展開溶液之配製：

石油醚：乙醚：醋酸以 70:30:2 (v/v/v) 之比例混合，臨用時配製。

## 2.6 矽膠管柱之製備：

矽膠於 160°C 乾燥 4 小時，置於乾燥器冷卻後，取 95 g，加去離子水 5 g，混勻備用。使用時取矽膠 25 g，加沖提液 80 mL 混合潤濕。於玻璃層析管底部塞入脫脂棉花，加入沖提液 6 mL，以玻棒將棉花中空氣擠出。緩慢注入預經潤濕之矽膠，於矽膠上部再小心加入海砂 4 g，並避免攪動矽膠表面。打開玻璃層析管底部閥門，使沖提液流出至液面達矽膠與海砂交界處之上方 1 cm 為止。

## 2.7 檢液之調製：

### 2.7.1 液態檢體：

檢體以濾紙過濾，含水分時則以疏水性濾紙過濾，取約 2.5 g，精確稱定，以沖提液定容至 50 mL，供作檢液。

### 2.7.2 半液態或固態檢體：

檢體先緩慢加熱至接近熔點，並避免過度加熱，混勻，過濾，待冷卻至微溫，取約 2.5 g，精確稱定，加沖提液 20 mL，混勻，放冷後，以沖提液定容至 50 mL，供作檢液。

## 2.8 管柱層析：

取檢液 20 mL，緩慢注入矽膠管柱，避免攪動矽膠表面。打開底部閥門，控制流速為每分鐘 2.1 ~ 2.5 mL，棄流出液，當液面達矽膠與海砂交界處上方時，於矽膠管柱之杯體加入沖提液 150 mL，以預經 103°C 乾燥恆重之濃縮瓶( $W_0$ , g)收集沖提液，再以沖提液 20 mL 清洗矽膠管柱底部外緣，合併沖提液於濃縮瓶中，於 60°C 減壓濃縮後，置於 60°C 烘箱中乾燥至恆重( $W_1$ , g)，濃縮瓶中殘留物為非極性化合物( $W_1 - W_0$ , g)。為確認矽膠管柱之效能<sup>(註)</sup>，續以乙醚 150 mL 沖提，以另一濃縮瓶收集乙醚，於 60°C 減壓濃縮後，置於 60°C 烘箱中乾燥，濃縮瓶中殘留物為極性化合物。

註：初次採用本檢驗方法或更換層析用矽膠廠牌時，為確認矽膠管柱之效能，各以正己烷 1 mL 溶解濃縮瓶中極性化合物及非極性化合物殘留物，分別點於薄層層析板上，風乾後展開，展開高度達 8 ~ 15 cm 後，取出風乾，於紫外燈 254 nm 下照射觀察。非極性化合物與極性化合物應完全區隔，其斑點分別位於薄層層析板之遠端及近端。

## 2.10 含量測定：

檢液中非極性化合物經矽膠管柱分離後稱重，並以下列計算式求得檢體中總極

性化合物之含量(%)：

$$\text{檢體中總極性化合物之含量(\%)} = \frac{M \times 2/5 - m}{M \times 2/5} \times 100$$

M：取樣分析檢體之重量(g)

m：檢體中非極性化合物之重量( $W_1 - W_0$ ，g)

附註：檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

## 食品中防腐劑之檢驗方法-丙酸之檢驗

### Method of Test for Preservatives in Foods –

#### Test of Propionic Acid

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中丙酸之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取或水蒸氣蒸餾後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。
  - 2.1. 裝置：
    - 2.1.1. 高效液相層析儀：
      - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)。
      - 2.1.1.2. 層析管：Agilent C18，5  $\mu\text{m}$ ，內徑 4.6 mm  $\times$  25 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 離心機(Centrifuge)：轉速可達 4000 rpm 以上者。
    - 2.1.3. 超音波震盪器(Ultrasonicator)。
    - 2.1.4. 水蒸氣蒸餾裝置：冷卻管之末端接管使達於容量瓶之底部。
  - 2.2. 試藥：磷酸及磷酸氫二銨均採用試藥特級；丙酸對照用標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 離心管：50 mL，PP 材質。
    - 2.3.2. 容量瓶：50 mL、100 mL、250 mL 及 1000 mL。
    - 2.3.3. 蒸餾瓶：1000 mL。
    - 2.3.4. 濾膜：孔徑 0.45  $\mu\text{m}$ ，Nylon 材質。
  - 2.4. 1M 磷酸溶液之調製：

量取磷酸 53.5 mL，加去離子水使成 1000 mL。
  - 2.5. 移動相溶液之調製：

稱取磷酸氫二銨 1.5 g，以去離子水溶解，再加去離子水使成 1000 mL，以 1M 磷酸溶液調整 pH 值至約 3.0，以濾膜過濾，濾液供作移動相溶液。

## 2.6. 標準溶液之配製：

取丙酸約 1 g，精確稱定，以去離子水溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，於 4°C 貯存備用。使用時，精確量取標準原液 5.0 mL，以去離子水定容至 50 mL。再分別精確量取 0.25、0.5、1.0、3.0、5.0 mL，加入 1M 磷酸溶液 0.2 mL，以去離子水稀釋至 0.025 ~ 0.5 mg/mL，供作標準溶液。

## 2.7. 檢液之調製：

### 2.7.1. 直接萃取法：

將檢體細切後，取約 5 g，精確稱定，置於離心管中，加入 1M 磷酸溶液 0.5 mL 及去離子水 40 mL，經超音波震盪 10 分鐘後，以 1M 磷酸溶液調整 pH 值至約 3.0。移入 50 mL 容量瓶，以去離子水定容，於 4000 rpm 離心 10 分鐘，取上清液經濾膜過濾後，供作檢液。

### 2.7.2. 水蒸氣蒸餾法<sup>(註)</sup>：

將檢體細切後，取約 25 g，精確稱定，置於蒸餾瓶中，加去離子水 150 mL 及磷酸 20 mL，以每分鐘約 10 mL 之餾出速度，進行水蒸氣蒸餾。以內含有去離子水 10 ml 之 250 mL 容量瓶收集餾出液約 240 mL 時，停止蒸餾，以 1M 磷酸溶液調整 pH 值至約 3.0，加去離子水定容。經濾膜過濾後，供作檢液。

註：本法適用於脂肪含量較高之檢體或採直接萃取法而無法去除干擾物質影響之檢體。

## 2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 25  $\mu$ L，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收圖譜比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中丙酸之含量(g/kg)：

$$\text{檢體中丙酸之含量(g/kg)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中丙酸之濃度(mg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件：

光二極體陣列檢出器：波長 214 nm。

層析管：Agilent C18，5  $\mu$ m，內徑 4.6 mm  $\times$  25 cm。

移動相溶液：依 2.5 節所調製之溶液。

移動相流速：1.2 mL/min。

附註：

1. 本檢驗方法之檢出限量為 0.3 g/kg。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。