

食品中動物用藥殘留檢驗方法一

氯黴素、甲磺氯黴素及氟甲磺氯黴素之檢驗

Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods-
Test of Chloramphenicol, Thiamphenicol and Florfenicol

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於農畜禽水產品中氯黴素(chloramphenicol)、甲磺氯黴素(thiamphenicol)及氟甲磺氯黴素(flорfenicol)之檢驗。
2. 檢驗方法：液相層析串聯質譜法 (liquid chromatography/tandem mass spectrometry, LC/MS/MS)。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化負離子(negative ion electrospray ionization, ESI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Symmetry® C18, 3.5 μm , 內徑 2.1 x 50 mm, 或同級品。
 - 2.1.2. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.1.3. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.4. 離心機(Centrifuge)：轉速可達3500 rpm以上者。
 - 2.1.5. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。
 - 2.1.6. 振盪器(Shaker)。
 - 2.2. 試藥：正己烷及乙酸乙酯採用殘留量級；甲醇及甲酸採用液相層析級；氯化鈉採用試藥特級；氯黴素、甲磺氯黴素及氟甲磺氯黴素對照用標準品。
 - 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：100 mL。
 - 2.4. 移動相溶液之配製：
 - 2.4.1. 溶液A：去離子水以濾膜過濾，取濾液。
 - 2.4.2. 溶液B：甲醇以濾膜過濾，取濾液。

2.5. 標準溶液之配製：

稱取氯黴素、甲磺氯黴素及氟甲磺氯黴素對照用標準品各約10 mg，精確稱定，共置於100 mL容量瓶中，以甲醇溶解並定容，作為混合標準溶液。臨用時以去離子水稀釋成濃度為0.003~0.1 µg/mL，供作標準溶液。

2.6. 檢液之調製：

檢體細切均質後，取約10 g，精確稱定，置於離心管中。加入乙酸乙酯15mL，振盪3分鐘後，以3500 rpm離心5分鐘，取上層液至另一離心管，重複此萃取步驟三次。合併上層液，於45°C水浴中以氮氣濃縮至乾，殘留物以甲醇2 mL及4%氯化鈉溶液25 mL溶解。加入正己烷20 mL，旋渦混合30秒，振盪10分鐘後，以3500 rpm離心5分鐘，棄上層液，下層液加入正己烷20 mL，重複此步驟三次。加入乙酸乙酯15 mL，振盪10分鐘，再以3500 rpm離心5分鐘，上層液移至另一離心管內，下層液加入乙酸乙酯15 mL，重複此步驟三次。合併上層液，於45°C水浴氮氣濃縮至乾，殘留物以去離子水溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾，取濾液供作檢液。

2.7. 檢量線之製作：

精確量取各標準溶液1 mL 添加於空白檢體中，依2.6.節調製檢液，並參照下列條件進行液相層析串聯質譜分析，就檢液波峰面積與對應之標準溶液濃度，分別製作檢量線。

液相層析串聯質譜測定條件^(註)：

移動相溶液：溶液A與B以下列比例(v/v)混合，進行梯度分析。

時間 (min)	A (%)	B (%)
0.00 → 5.00	80 → 40	20 → 60
5.01 → 8.00	40	60
8.01 → 12.00	40 → 80	60 → 20

移動相流速：0.3 mL/min。

取樣分析量：20 μ L。

毛細管電壓 (Capillary voltage)：2.8 kV。

離子源溫度 (Ion source temperature)：100°C。

溶媒揮散溫度 (Desolvation temperature)：400°C。

偵測模式：多重反應偵測 (multiple reaction monitoring, MRM)。

離子對、進樣錐電壓 (cone voltage)與碰撞能量 (Collision energy)如下表：

分析物	離子對	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
	前驅離子(m/z)>產物離子(m/z)		
氯黴素	321 > 152	25	18
	321 > 194		12
	321 > 257		10
甲磺氯黴素	354 > 185	30	23
	354 > 227		14
	354 > 290		14
氟甲磺氯黴素	356 > 185	25	22
	356 > 219		12
	356 > 336		11

定量離子對：氯黴素為 m/z 321 > m/z 152，甲磺氯黴素為 m/z 354 > m/z 185，氟甲磺氯黴素為 m/z 356 > m/z 336。

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20 μ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中，參照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選擇反應偵測模式之相對離子強度比鑑別之^(註)，並依下列計算公式，求出檢體中氯黴素、甲磺氯黴素或氟甲磺氯黴素之含量(ppm)：

$$\text{檢體中氯黴素、甲磺氯黴素或氟甲磺氯黴素含量 (ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中氯黴素、甲磺氯黴素或氟甲磺氯黴素之濃度(μ 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與定量離子之波峰面積比相除而得 ($\leq 100\%$)，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

附註：

1. 本檢驗方法之檢出限量氯黴素、甲磺氯黴素及氟甲磺氯黴素均為0.0003 ppm。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。