

食品中動物用藥殘留檢驗方法—氯黴素之檢驗 (二)
Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods- Test of
Chloramphenicol (2)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於農畜禽水產品及其製品中氯黴素 (chloramphenicol) 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：Hypersil C18，3 μm ，內徑 2.1 $\times$ 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 振盪器 (Shaker)。
 - 2.1.5 離心機 (Centrifuge)：轉速可達 8,000 rpm 以上者。
 - 2.1.6 氮氣蒸發裝置 (Nitrogen evaporator)。
 - 2.2 試藥：正己烷、乙酸乙酯採用殘留量級；甲醇、乙腈採用液相層析級；甲酸採用分析級；氯化鈉採用試藥級；氯黴素對照用標準品。
 - 2.3 器具及材料：
 - 2.3.1 塑膠離心管：50 mL。
 - 2.3.2 濾膜：孔徑 0.45 μm ，PVDF 材質。
 - 2.3.3 容量瓶：100 mL。
 - 2.3.4 分子量分割過濾裝置 (Molecular weight cutoff filter)：50 mL，Centricon YM-100 或同級品。
 - 2.4 移動相溶液之調製：
 - A 液：0.1% 甲酸溶液以濾膜過濾，取濾液。
 - B 液：甲醇以濾膜過濾，取濾液。
 - 2.5 標準溶液之配製：

稱取氯黴素對照用標準品約 100 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，臨用時再以去離子水稀釋至濃度 0.1~50 ng/mL，供作標準溶液。

2.6 檢液之調製：

2.6.1 萃取：

2.6.1.1 肌肉及內臟：

檢體細切，以均質機均質後，取檢體約 10 g，精確稱定，置於 50 mL 離心管中。加入乙酸乙酯 15 mL，振盪 3 分鐘後，以 3,500 rpm 離心 5 分鐘，取上層液置於 50 mL 離心管，重複此步驟三次，合併上層液。於 45°C 水浴並以氮氣蒸發濃縮至乾，加入甲醇 2 mL 及 4% 氯化鈉溶液 25 mL。再加入正己烷 20 mL，旋渦混合 30 秒後靜置使其分層（若有乳化物出現則以 2,000 rpm 離心 3 分鐘），棄上層液，重複此步驟三次。加入乙酸乙酯 15 mL，振盪 3 分鐘，再以 3,500 rpm 離心 5 分鐘，移取上層液至 50 mL 離心管內，重複此步驟三次。合併上層液，於 45°C 水浴氮氣蒸發濃縮至乾，以去離子水定容至 1 mL，供作檢液。

2.6.1.2 蜂蜜：

取檢體約 10 g，精確稱定，置於 50 mL 離心管中，加入去離子水 10 mL 溶解並振盪 3 分鐘。加入乙酸乙酯 15 mL，振盪 3 分鐘後，以 3,500 rpm 離心 5 分鐘，取上層液置於 50 mL 離心管，重複此步驟三次，合併上層液。以下步驟依 2.6.1.1 操作。

2.6.1.3 乳品：

精確量取檢體 5 mL 置於分子量分割過濾裝置中，以 8,000 rpm 離心 3 小時，取其濾液，加入乙酸乙酯 15 mL，振盪 3 分鐘後，以 3,500 rpm 離心 5 分鐘，取上層液置於 50 mL 離心管，重複此步驟三次，合併上層液。以下步驟依 2.6.1.1 操作。

2.7 檢量線之製作^(註)：

精確量取各標準溶液添加於空白檢體中，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品添加濃度製作檢量線。

液相層析串聯質譜分析條件：

移動相溶液：A 液與 B 液以下列比例 (v/v) 混合作為移動相溶液，進行梯度分析。

時間 (min)	A (%)	B (%)
0.00	85	15
3.00	25	75
4.00	25	75
4.01	85	15
7.00	85	15

移動相流速：0.2 mL/min。

電灑游離電壓 (Spray voltage)：3.0 kV。

毛細管溫度 (Capillary temperature)：350°C。

噴灑樣品氮氣壓力 (N₂ sheath gas)：35 psi。

剝除溶劑氮氣壓力 (N₂ auxiliary gas)：5 arbitrary units。

偵測離子與碰撞能量 (Collision energy) 如下表：

偵測離子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
321→152	18
321→257	14
321→194	12

偵測模式：選擇反應偵測模式

(selected reaction monitoring, SRM)。

偵測離子：氯黴素母離子 (precursor ion) m/z 321，子離子 (product ion) m/z 257、194 與 152，以子離子 m/z 152 為定量離子。

註：檢體會產生複雜之基質效應，而影響分析結果，且基質不同，造成干擾程度不一，因此進行定量檢測時，每一種樣品必須分別製作檢量線。

2.8 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 25 µL，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經電灑法撞擊後，子離子 m/z 257 與 m/z 194 分別與 m/z 152 相對離子強度比鑑別之^(註)，並依下列計算式，求出檢體中氯黴素之含量 (ppb)：

$$\text{檢體中氯黴素含量 (ppb)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中氯黴素之濃度 (ng/mL)

V：檢體最後定容之體積 (mL)

M：取樣分析檢體之重量 (g) 或容量 (mL)

註：相對離子強度容許範圍參照歐盟 2002/657/EC 之規範。

相對離子強度 (%)	容許範圍 (%)
> 50	± 20
20 ~ 50	± 25
10 ~ 20	± 30
≤ 10	± 50

- 附註：1. 本檢驗方法檢出限量為 0.3 ppb。
2. 食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。