

食品中動物用藥殘留量檢驗方法—多重殘留分析(二)(草案)

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48品項動物用藥(品項見表一及表二)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(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. 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)：轉速可達3500 \times g以上，控制溫度可達4 $^{\circ}\text{C}$ 以下者。
 - 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；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 M Ω ·cm以上)；西氟沙星(ciprofloxacin)等動物用藥對照用標準品共48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. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 50%甲醇溶液：量取甲醇 50 mL，加去離子水使成 100 mL。
 - 2.4.2. 含 5% 甲醇之乙腈溶液：量取甲醇 50 mL，加乙腈使成 1000 mL。
 - 2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 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。

2.5.2. 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。

2.6. 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。臨用時，分別取適量標準原液共置於容量瓶中，以50%甲醇溶液稀釋至0.005~1.0 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 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，均質3分鐘，加入無水硫酸鈉10 g，振盪10分鐘，於4°C以3500 × g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3500 × g離心10分鐘，合併上清液，移入分液漏斗中，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50%甲醇溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線製作：

取空白檢體依2.7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50%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^(註)：

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 μL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：電灑離子化正/負離子皆採用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)如表一及表二。

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比^(註)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(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相除而得(≤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. 本檢驗方法之檢出限量如表三。
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46項動物用藥之多重反應偵測模式參數(正離子模式)

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	azaperol	—	330 > 121	30	30	330 > 149	30	25
2	azaperone	—	328 > 165	30	20	328 > 121	30	20
3	carazolol	—	299 > 116	30	20	299 > 222	30	20
4	ciprofloxacin	西氟沙星	332 > 314	30	25	332 > 231	30	45
5	clopidol	氯吡啶	192 > 101	45	25	192 > 87	40	30
6	danofloxacin	大安氟喹啉羧酸	358 > 340	35	30	358 > 283	40	25
7	dicyclanil	—	191 > 150	30	25	191 > 175	30	20
8	difloxacin	二氟喹啉羧酸	400 > 356	35	20	400 > 299	35	30
9	enrofloxacin	恩氟喹啉羧酸	360 > 316	35	20	360 > 245	35	25
10	eprinomectin	—	914 > 330	15	10	914 > 468	15	10
11	floxacin	—	370 > 326	30	20	370 > 269	35	25
12	flumequine	氟滅菌	262 > 244	25	20	262 > 202	25	30

表一、西氟沙星等46項動物用藥之多重反應偵測模式參數(正離子模式)(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)
13	lomefloxacin	—	352 > 265	30	25	352 > 308	30	15
14	marbofloxacin	—	363 > 345	35	20	363 > 72	30	25
15	morantel	摩朗得	221 > 164	35	25	221 > 149	35	35
16	nalidixic acid	那利得酸	233 > 215	20	15	233 > 187	20	25
17	norfloxacin	諾氟喹啉羧酸	320 > 302	30	20	320 > 276	30	15
18	ormetoprim	歐美德普	275 > 259	35	25	275 > 123	35	25
19	oxolinic acid	歐索林酸	262 > 244	25	20	262 > 216	25	35
20	pefloxacin	—	334 > 316	30	20	334 > 233	35	25
21	pipemidic acid	—	304 > 217	30	20	304 > 189	30	30
22	piromidic acid	—	289 > 243	25	30	289 > 271	25	20
23	sarafloxacin	沙拉氟喹啉羧酸	386 > 368	40	20	386 > 342	35	20
24	succinylsulfathiazole	—	356 > 256	35	15	356 > 192	30	25

表一、西氟沙星等46項動物用藥之多重反應偵測模式參數(正離子模式)(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)
25	sulfabenzamide	—	277 > 156	20	15	277 > 92	20	30
26	sulfacetamide	乙醯磺胺	215 > 156	15	10	215 > 92	15	25
27	sulfachlorpyridazine	磺胺氯吡嗪	285 > 156	25	15	285 > 92	20	30
28	sulfadiazine	磺胺嘧啶	251 > 156	25	15	251 > 92	25	25
29	sulfadimethoxine	磺胺二甲氧嘧啶	311 > 156	35	20	311 > 92	30	35
30	sulfadoxine	磺胺鄰二甲氧嘧	311 > 156	25	20	311 > 92	30	30
31	sulfaethoxypyridazine	磺胺乙氧化吡嗪	295 > 156	30	20	295 > 92	30	30
32	sulfaguanidine	磺胺胍	215 > 156	20	15	215 > 92	25	25
33	sulfamerazine	磺胺甲基嘧啶	265 > 156	25	15	265 > 92	25	30
34	sulfameter	磺胺嘧特	281 > 156	25	20	281 > 92	30	30
35	sulfamethazine	磺胺二甲基嘧啶	279 > 156	30	20	279 > 186	30	15
36	sulfamethizole	—	271 > 156	25	25	271 > 92	25	25

表一、西氟沙星等46項動物用藥之多重反應偵測模式參數(正離子模式)(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)
37	sulfamethoxazole	磺胺甲基噁唑	254 > 156	25	15	254 > 92	25	25
38	sulfamethoxypyridazine	磺胺甲氧化吡嗪	281 > 156	25	15	281 > 92	30	30
39	sulfamonomethoxine	磺胺一甲氧嘧啶	281 > 156	25	10	281 > 92	30	30
40	sulfapyridine	磺胺吡啶	250 > 156	25	15	250 > 92	30	30
41	sulfaquinoxaline	磺胺喹啉	301 > 156	25	15	301 > 92	25	30
42	sulfathiazole	磺胺噻唑	256 > 156	25	15	256 > 92	25	25
43	sulfatroxazole	—	268 > 156	25	15	268 > 92	25	30
44	tetramisole	—	205 > 178	35	20	205 > 123	25	30
45	trichlorfon	三氯仿	259 > 109	20	20	257 > 109	20	20
46	trimethoprim	三甲氧苄氨嘧啶	291 > 230	35	25	291 > 123	35	25

表二、衣索巴及 fluazuron 動物用藥之多重反應偵測模式參數(負離子模式)

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	ethopabate	衣索巴	236 > 192	30	25	236 > 132	30	35
2	fluazuron	—	504 > 305	30	15	506 > 307	30	15

表三、西氟沙星等48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	azaperol	-	0.01	0.01	0.01	0.01
2	azaperone	-	0.01	0.01	0.01	0.01
3	carazolol	-	0.001	0.001	0.001	0.001
4	ciprofloxacin	西氟沙星	0.001	0.005	0.001	0.005
5	clopidol	氯吡啶	0.05	0.05	0.01	0.005
6	danofloxacin	大安氟喹啉羧酸	0.001	0.001	0.001	0.001
7	dicyclanil	-	0.005	0.005	0.005	0.005
8	difloxacin	二氟喹啉羧酸	0.001	0.001	0.001	0.001
9	enrofloxacin	恩氟喹啉羧酸	0.001	0.001	0.001	0.001
10	eprinomectin	-	0.005	0.05	0.05	0.005
11	ethopabate	衣索巴	0.01	0.01	0.01	0.01
12	fleroxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
13	fluazuron	-	0.05	0.05	0.05	0.05
14	flumequine	氟滅菌	0.001	0.001	0.001	0.001
15	lomefloxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
16	marbofloxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
17	morantel	摩朗得	0.005	0.005	0.005	0.005
18	nalidixic acid	那利得酸	0.001	0.001	0.001	0.001
19	norfloxacin	諾氟喹啉羧酸	0.001	0.005	0.001	0.005
20	ormetoprim	歐美德普	0.05	0.05	0.05	0.05
21	oxolinic acid	歐索林酸	0.001	0.001	0.001	0.001
22	pefloxacin	-	0.001	0.001	0.001	0.001
23	pipemidic acid	-	0.001	0.001	0.001	0.001
24	piromidic acid	-	0.001	0.001	0.001	0.001
25	sarafloxacin	沙拉氟喹啉羧酸	0.001	0.005	0.001	0.005
26	succinylsulfathiazole	-	0.001	0.005	0.001	0.005
27	sulfabenzamide	-	0.001	0.005	0.001	0.005
28	sulfacetamide	乙醯磺胺	0.005	0.005	0.005	0.005
29	sulfachlorpyridazine	磺胺氯吡嗪	0.005	0.005	0.005	0.005
30	sulfadiazine	磺胺嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
31	sulfadimethoxine	磺胺二甲氧嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
32	sulfadoxine	磺胺鄰二甲氧嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
33	sulfaethoxypyridazine	磺胺乙氧化吡嗪	0.001	0.001	0.001	0.001
34	sulfaguanidine	磺胺胍	0.005	0.005	0.005	0.001
35	sulfamerazine	磺胺甲基嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
36	sulfameter	磺胺嘧特	0.001	0.001	0.001	0.001

表三、西氟沙星等48項動物用藥之檢出限量(續)

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				
37	sulfamethazine	磺胺二甲基嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
38	sulfamethizole	-	0.001	0.001	0.001	0.001
39	sulfamethoxazole	磺胺甲基噁唑	0.001	0.001	0.001	0.001
40	sulfamethoxypyridazine	磺胺甲氧化吡嗪	0.001	0.001	0.001	0.001
41	sulfamonomethoxine	磺胺一甲氧嘧啶	0.001	0.001	0.001	0.001
42	sulfapyridine	磺胺吡啶	0.001	0.001	0.001	0.001
43	sulfaquinoxaline	磺胺喹啉	0.001	0.001	0.001	0.001
44	sulfathiazole	磺胺噻唑	0.001	0.001	0.001	0.001
45	sulfatroxazole	-	0.001	0.005	0.001	0.005
46	tetramisole	-	0.001	0.001	0.005	0.001
47	trichlorfon	三氯仿	0.001	0.01	0.005	0.001
48	trimethoprim	三甲氧苄氨嘧啶	0.005	0.005	0.005	0.005