

食品中動物用藥殘留量檢驗方法—四環黴素類 抗生素之檢驗修正總說明

為加強食品中動物用藥殘留之管理，並依據食品安全衛生管理法第三十八條規定：「各級主管機關執行食品、食品添加物、食品器具、食品容器或包裝及食品用洗潔劑之檢驗，其檢驗方法，經食品檢驗方法諮議會諮議，由中央主管機關定之」，爰修正「食品中動物用藥殘留量檢驗方法—四環黴素類抗生素之檢驗」，其修正要點如下：

- 一、「適用範圍」擴增脂肪基質。
- 二、「試藥」增列「二甲基亞砷」及刪除「氫氧化鈉」。
- 三、「器具及材料」增列「陶瓷均質石」，修正「容量瓶」及刪除「濾紙」。
- 四、「試劑之調製」增列「20%甲醇溶液」及「含0.1%甲酸之20%甲醇溶液」，另刪除「20%乙腈溶液」。
- 五、「標準溶液之配製」修正配製溶劑，其餘依檢驗方法格式進行文字修正。
- 六、「檢液之調製」修正「萃取」及「淨化」步驟。
- 七、「基質匹配檢量線之製作」增列適用基質(肌肉、內臟、脂肪、乳汁及蜂蜜檢體)，修正配製溶劑、流程及基質匹配檢量線濃度範圍，另修正「液相層析串聯質譜測定條件」中移動相梯度條件及進樣錐氣體流速。
- 八、增列「檢量線之製作(適用於蛋類基質)」。
- 九、「鑑別試驗及含量測定」增列「基質匹配檢量線溶液」及「檢量線溶液」，另刪除「標準溶液」。
- 十、「附註」增列脂肪之定量極限。
- 十一、增列「參考層析圖譜」。
- 十二、「附表」中部分品項增列定性離子對及修正進樣錐電壓及碰撞能量。
- 十三、增修訂部分文字。

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－四環黴素類 抗生素之檢驗修正對照表

修正規定	現行規定	說明
<p>1.適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽水產品之肌肉、內臟、<u>脂肪、蛋類、乳汁及蜂蜜中四環黴素(tetracycline)</u>等7項抗生素(品項見附表)之檢驗。</p> <p>2.檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。</p> <p>2.1. 裝置：</p> <p>2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：</p> <p>2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。</p> <p>2.1.1.2. 層析管：ACQUITY CSH C18, 1.7 μm, 內徑2.1 mm × 10 cm, 或同級品。</p> <p>2.1.2. 離心機(Centrifuge)：可達12000 ×g以上, 溫度控制可達4°C以下者。</p> <p>2.1.3. 振盪器(Shaker)。</p> <p>2.1.4. 均質機(Homogenizer)。</p> <p>2.1.5. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。</p> <p>2.1.6. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。</p> <p>2.1.7. 旋渦混合器(Vortex mixer)。</p> <p>2.2. 試藥：甲酸、甲醇、乙腈及正己烷均採用液相層析級；三氯醋酸(trichloroacetic acid)、磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄)、檸檬酸、鹽酸、<u>氫氧化鈉</u>及<u>乙二胺四乙酸二鈉</u>(disodium ethylenediaminetetraacetate dihydrate, EDTA-Na₂·2H₂O)及<u>二甲基亞砜(dimethylsulfoxide, DMSO)</u>均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)；鹽酸四環黴素(tetracycline hydrochloride)、鹽酸氯四環黴素</p>	<p>1.適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽水產品之肌肉、內臟、<u>乳汁、蛋類及蜂蜜中四環黴素(tetracycline)</u>等7項抗生素(品項見附表)之檢驗。</p> <p>2.檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。</p> <p>2.1. 裝置：</p> <p>2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：</p> <p>2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。</p> <p>2.1.1.2. 層析管：ACQUITY CSH C18, 1.7 μm, 內徑2.1 mm × 10 cm, 或同級品。</p> <p>2.1.2. 離心機(Centrifuge)：可達12000 ×g以上, 溫度控制可達4°C以下者。</p> <p>2.1.3. 振盪器(Shaker)。</p> <p>2.1.4. 均質機(Homogenizer)。</p> <p>2.1.5. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。</p> <p>2.1.6. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。</p> <p>2.1.7. 旋渦混合器(Vortex mixer)。</p> <p>2.2. 試藥：甲酸、甲醇、乙腈及正己烷均採用液相層析級；三氯醋酸(trichloroacetic acid)、磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄)、檸檬酸、鹽酸、<u>氫氧化鈉</u>及<u>乙二胺四乙酸二鈉</u>(disodium ethylenediaminetetraacetate dihydrate, EDTA-Na₂·2H₂O)均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)；鹽酸四環黴素、鹽酸氯四環黴素、鹽酸羥四環黴素、脫氧羥四環黴素、4-epimer-tetracycline、4-epimer-oxytetracycline 及 4-epimer-</p>	<p>一、「適用範圍」擴增脂肪基質。</p> <p>二、「試藥」增列「二甲基亞砜」及刪除「氫氧化鈉」。</p> <p>三、「器具及材料」增列「陶瓷均質石」, 修正「容量瓶」及刪除「濾紙」。</p> <p>四、「試劑之調製」增列「20% 甲醇溶液」及「含 0.1% 甲酸之 20% 甲醇溶液」, 另刪除「20% 乙腈溶液」。</p> <p>五、「標準溶液之配製」修正配製溶劑, 其餘依檢驗方法格式進行文字修正。</p> <p>六、「檢液之調製」修正「萃取」及「淨化」步驟。</p> <p>七、「基質匹配</p>

<p>(chlortetracycline hydrochloride)、鹽酸羥四環黴素 (oxytetracycline hydrochloride)、脫氧羥四環黴素 (doxycycline)、4-epimer-tetracycline、4-epimer-oxytetracycline 及 4-epimer-chlortetracycline 對照用標準品。</p> <p>2.3. 器具及材料：</p> <p>2.3.1. 容量瓶：<u>2 mL及20 mL</u>。</p> <p>2.3.2. 離心管：50 mL，PP材質。</p> <p>2.3.3. 固相萃取匣 (Solid phase extraction cartridge)：Oasis HLB，6 mL，500 mg，或同級品。</p> <p>2.3.4. 濾膜：孔徑0.22 μm，Nylon材質。</p> <p>2.3.5. <u>陶瓷均質石 (Ceramic homogenizer)：Bond Elut QuEChERS P/N 5982-9313，或同級品。</u></p> <p>2.4. 試劑之調製：</p> <p>2.4.1. 0.1 M檸檬酸溶液：稱取檸檬酸19 g，以去離子水溶解使成1000 mL。</p> <p>2.4.2. 0.2 M磷酸氫二鈉溶液：稱取磷酸氫二鈉28.4 g，以去離子水溶解使成1000 mL。</p> <p>2.4.3. MacIlvaine緩衝溶液：取0.1 M檸檬酸溶液615 mL及0.2 M磷酸氫二鈉溶液385 mL，混合後，以0.1 M檸檬酸溶液或0.2 M磷酸氫二鈉溶液調整pH至4.0。</p> <p>2.4.4. 萃取液：稱取乙二胺四醋酸二鈉3.72 g，以MacIlvaine緩衝溶液溶解使成1000 mL。</p> <p>2.4.5. <u>20%甲醇溶液：取甲醇與去離子水以 2：8 (v/v)比例混勻。</u></p> <p>2.4.6. <u>含0.1%甲酸之20%甲醇溶液：取甲酸0.1 mL，加入20%甲醇溶液使成100 mL。</u></p> <p>2.4.7. 5% 甲醇溶液：取甲醇與去離子水以 5：95 (v/v)比例混勻。</p>	<p>chlortetracycline對照用標準品。</p> <p>2.3. 器具及材料：</p> <p>2.3.1. 容量瓶：<u>1 mL及10 mL</u>。</p> <p>2.3.2. 離心管：50 mL，PP材質。</p> <p>2.3.3. 固相萃取匣 (Solid phase extraction cartridge)：Oasis HLB，6 mL，500 mg，或同級品。</p> <p>2.3.4. <u>濾紙：Whatman No.2，或同級品。</u></p> <p>2.3.5. 濾膜：孔徑0.22 μm，Nylon材質。</p> <p>2.4. 試劑之調製：</p> <p>2.4.1. 0.1 M檸檬酸溶液：稱取檸檬酸19 g，以去離子水溶解使成1000 mL。</p> <p>2.4.2. 0.2 M磷酸氫二鈉溶液：稱取磷酸氫二鈉28.4 g，以去離子水溶解使成1000 mL。</p> <p>2.4.3. MacIlvaine緩衝溶液：取0.1 M檸檬酸溶液615 mL及0.2 M磷酸氫二鈉溶液385 mL，混合後，以0.1 M檸檬酸溶液或0.2 M磷酸氫二鈉溶液調整pH至4.0。</p> <p>2.4.4. 萃取液：稱取乙二胺四<u>乙酸二鈉</u>3.72 g，以MacIlvaine緩衝溶液溶解使成1000 mL。</p> <p>2.4.5. <u>20%乙腈溶液：取乙腈與去離子水以 2：8 (v/v)比例混勻。</u></p> <p>2.4.6. 5% 甲醇溶液：取甲醇與去離子水以 5：95 (v/v)比例混勻。</p> <p>2.4.7. 2.5%三氯醋酸溶液：稱取三氯醋酸 25 g，以去離子水溶解使成 1000 mL。</p> <p>2.5. 移動相溶液之調製：</p> <p>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。</p> <p>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</p>	<p>檢量線之製作」增列適用基質 (肌肉、內臟、脂肪、乳汁及蜂蜜檢體)，修正配製溶劑、流程及基質匹配檢量線濃度範圍，另修正「液相層析串聯質譜測定條件」中移動相梯度條件及進樣錐氣體流速。</p> <p>八、增列「檢量線之製作 (適用於蛋類基質)」。</p> <p>九、「鑑別試驗及含量測定」增列「基質匹配檢量線溶液」及「檢量線溶液」，另刪除「標準溶液」。</p> <p>十、「附註」增列脂肪之定量極限。</p> <p>十一、增列「參考層析圖譜」。</p> <p>十二、「附表」中部分品項增列定性</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<p>2.4.8. 2.5%三氯醋酸溶液： 稱取三氯醋酸 25 g，以去離子水溶解使成 1000 mL。</p> <p>2.5. 移動相溶液之調製：</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p>2.6. 標準溶液之配製： 取相當於含四環黴素、氯四環黴素及羥四環黴素各約10 mg之對照用標準品，精確稱定；取脫氧羥四環黴素、4-epimer-tetracycline、4-epimer-oxytetracycline 及 4-epimer-chlortetracycline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10 mL，作為標準原液，冷凍貯存。臨用時取適量各標準原液混合，以甲醇稀釋至1 µg/mL，供作標準溶液。</p> <p>2.7. 檢液之調製：</p> <p>2.7.1. 萃取：</p> <p>2.7.1.1. 肌肉： 將肌肉、內臟及脂肪檢體切細均質後，取約2 g，精確稱定；蛋類檢體去除外殼後，將蛋白與蛋黃混勻後，取約2 g，精確稱定；乳汁檢體混勻後，精確量取2 mL；蜂蜜檢體混勻後，取約2 g，精確稱定，置於離心管中。加入陶瓷均質石1顆及2.5%三氯醋酸溶液5 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，於4°C以3200 ×g離心5分鐘，取上清液。殘渣加入萃取液10 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，於4°C以3200 ×g離心5分鐘，取上清液，殘渣再加入萃取液10 mL，重複上述步驟萃取2次。合併上清液，於4°C以12000 ×g離心5分鐘，取上清液供淨化用。</p> <p>2.7.2. 淨化： 取2.7.1.節供淨化用溶液，注入預</p>	<p>液B。</p> <p>2.6. 標準溶液之配製： 取相當於含四環黴素、氯四環黴素、羥四環黴素，以及脫氧羥四環黴素、4-epimer-tetracycline、4-epimer-oxytetracycline、4-epimer-chlortetracycline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10 mL，作為標準原液，冷凍貯存。臨用時取適量各標準原液混合，以20%乙腈溶液稀釋至0.025~2.5 µg/mL，供作標準溶液。</p> <p>2.7. 檢液之調製：</p> <p>2.7.1. 萃取：</p> <p>2.7.1.1. 肌肉： 將檢體細切均質後，取約5 g，精確稱定，置於離心管中。加入萃取液15 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，以3200 ×g離心10分鐘，取上清液。殘留物再加入萃取液15 mL，重複萃取一次，合併上清液。加入正己烷15 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，以3200 ×g離心5分鐘，取下層液，重複此步驟二次，下層液經濾紙過濾，供淨化用。</p> <p>2.7.1.2. 乳汁： 將檢體混勻後，精確量取5 mL，置於離心管中，加入萃取液20 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，以3200 ×g離心10分鐘，取上清液供淨化用。</p> <p>2.7.1.3. 內臟： 將檢體細切均質後，取約2 g，精確稱定，置於離心管中。加入2.5%三氯醋酸溶液10 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，以3200 ×g離心5分鐘，取上清液。殘留物加入萃取液15 mL，重複萃取一次，合併上清液。加入正己烷10 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，以3200 ×g離心5分鐘，取下層液，重複此步驟二次，下層液供淨化用。</p> <p>2.7.1.4. 蜂蜜： 將檢體混勻後，取約5 g，精確稱定，</p>	<p>離子對 及修正 進樣錐 電壓及 碰撞能 量。</p> <p>十三、增修訂 部分文 字。</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

先以甲醇6 mL及去離子水6 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液。依次以去離子水6 mL及5%甲醇溶液6 mL清洗固相萃取匣，棄流出液。以甲醇6 mL沖提，收集沖提液，加入DMSO 50 μ L，於40°C水浴中以氮氣吹至微乾，肌肉、蛋類、脂肪、乳汁及蜂蜜基質之殘留物以含0.1%甲酸之20%甲醇溶液溶解並定容至2 mL；內臟基質之殘留物以含0.1%甲酸之20%甲醇溶液溶解並定容至20 mL。取1 mL，以10000 \times g離心3分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線之製作(適用於肌肉、內臟、脂肪、乳汁及蜂蜜檢體)：

取空白檢體，依2.7節萃取、淨化及氮氣吹至微乾後，肌肉、脂肪、乳汁及蜂蜜基質之殘留物以含0.1%甲酸之20%甲醇溶液溶解並定容至1 mL；內臟基質之殘留物以含0.1%甲酸之20%甲醇溶液溶解並定容至10 mL，供作空白檢液。取空白檢液500 μ L，分別加入標準溶液5~200 μ L及含0.1%甲酸之20%甲醇溶液，使體積為1000 μ L，混合均勻，以10000 \times g離心3分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作基質匹配檢量線溶液，並依下列條件進行分析。就各四環黴素類抗生素之波峰面積，與對應之各四環黴素類抗生素添加濃度，分別製作0.005~0.2 μ g/mL之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜測定條件^(註)：

層析管：ACQUITY CSH C18，1.7 μ m，內徑2.1 mm \times 10 cm。

層析管溫度：40°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 \rightarrow 1	95 \rightarrow 95	5 \rightarrow 5
1 \rightarrow 6	95 \rightarrow 85	5 \rightarrow 15
6 \rightarrow 9	85 \rightarrow 70	15 \rightarrow 30
9 \rightarrow 9.5	70 \rightarrow 2	30 \rightarrow 98

置於離心管中，加入萃取液25 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，以3200 \times g離心10分鐘，取上清液供淨化用。

2.7.1.5. 蛋類：

檢體去除外殼，將蛋白與蛋黃混勻後，取約5 g，精確稱定，置於離心管中。加入2.5%三氯醋酸溶液10 mL，旋渦混合1分鐘，振盪5分鐘，於4°C以3200 \times g離心5分鐘，取上清液。殘留物加入萃取液15 mL，重複萃取一次，合併上清液。於4°C以12000 \times g離心5分鐘，取上清液供淨化用。

2.7.2. 淨化：

2.7.2.1. 肌肉及乳汁：

取2.7.1.1.或2.7.1.2.節供淨化用溶液，注入預先以甲醇6 mL及去離子水6 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液。以5%甲醇溶液6 mL清洗固相萃取匣，棄流出液。以甲醇6 mL沖提，收集沖提液，於40°C水浴中以氮氣吹乾，殘留物以20%乙腈溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.7.2.2. 內臟、蜂蜜及蛋類：

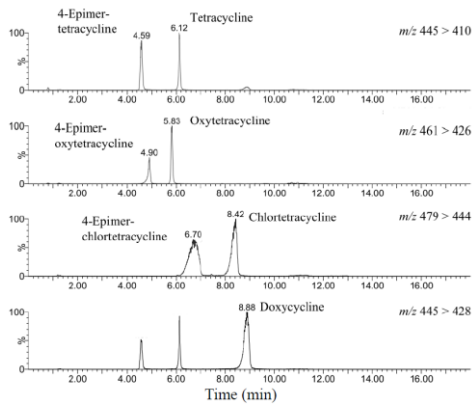
取2.7.1.3.、2.7.1.4.或2.7.1.5.節供淨化用溶液，注入預先以甲醇6 mL及去離子水6 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液。依次以去離子水6 mL及5%甲醇溶液6 mL清洗固相萃取匣，棄流出液。以甲醇6 mL沖提，收集沖提液，於40°C水浴中以氮氣吹乾，殘留物以20%乙腈溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線之製作：

取空白檢體，依2.7節萃取淨化及氮氣吹乾後，殘留物分別添加不同濃度標準溶液1 mL，混合溶解，經濾膜過濾，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，與對應之各抗生素添加濃度，分別製作0.025~2.5 μ g/mL之

<p>9.5 → 14.5 2 → 2 98 → 98 14.5 → 15 2 → 95 98 → 5 15 → 18 95 → 95 5 → 5</p> <p>移動相流速：0.2 mL/min。 注入量：5 μL。 毛細管電壓(Capillary voltage)：2.5 kV。 離子化模式：ESI正離子。 離子源溫度 (Ion source temperature)：150°C。 溶媒揮散溫度 (Desolvation temperature)：500°C。 進樣錐氣體流速 (Cone gas flow rate)：150 L/hr。 溶媒揮散氣體流速(Desolvation gas flow)：1000 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)如附表。 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。</p> <p>2.9. 檢量線之製作(適用於蛋類基質)： 取空白檢體，分別加入標準溶液10~400 μL，依2.7.節調製檢液，供作檢量線溶液，並依2.8.節條件進行分析。就各四環黴素類抗生素之波峰面積，與對應之各四環黴素類抗生素添加濃度，分別製作0.005~0.2 μg/mL之檢量線。</p> <p>2.10. 鑑別試驗及含量測定： 精確量取檢液及基質匹配檢量線溶液或檢量線溶液各5 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。就檢液與基質匹配檢量線溶液或檢量線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四環黴素類抗生素之含量(ppm)： 檢體中各四環黴素類抗生素之含</p>	<p>基質匹配檢量線。 液相層析串聯質譜測定條件^(註)： 層析管：ACQUITY CSH C18，1.7 μm，內徑2.1 mm × 10 cm。 層析管溫度：40°C。 移動相溶液：A液與B液以下列條件進行梯度分析</p> <table border="1" data-bbox="724 481 1216 817"> <thead> <tr> <th>時間(min)</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0 → 1</td><td>95 → 95</td><td>5 → 5</td></tr> <tr><td>1 → 2</td><td>95 → 85</td><td>5 → 15</td></tr> <tr><td>2 → 3</td><td>85 → 80</td><td>15 → 20</td></tr> <tr><td>3 → 6</td><td>80 → 70</td><td>20 → 30</td></tr> <tr><td>6 → 7</td><td>70 → 10</td><td>30 → 90</td></tr> <tr><td>7 → 11</td><td>10 → 2</td><td>90 → 98</td></tr> <tr><td>11 → 12</td><td>2 → 2</td><td>98 → 98</td></tr> <tr><td>12 → 18</td><td>2 → 95</td><td>98 → 5</td></tr> </tbody> </table> <p>移動相流速：0.2 mL/min。 注入量：5 μL。 毛細管電壓(Capillary voltage)：2.5 kV。 離子化模式：ESI正離子。 離子源溫度 (Ion source temperature)：150°C。 溶媒揮散溫度 (Desolvation temperature)：500°C。 進樣錐氣體流速 (Cone gas flow rate)：0 L/hr。 溶媒揮散氣體流速(Desolvation gas flow)：1000 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)如附表。 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。</p> <p>2.9. 鑑別試驗及含量測定： 精確量取檢液及標準溶液各5 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)： 檢體中各抗生素之含量(ppm) =</p>	時間(min)	A (%)	B (%)	0 → 1	95 → 95	5 → 5	1 → 2	95 → 85	5 → 15	2 → 3	85 → 80	15 → 20	3 → 6	80 → 70	20 → 30	6 → 7	70 → 10	30 → 90	7 → 11	10 → 2	90 → 98	11 → 12	2 → 2	98 → 98	12 → 18	2 → 95	98 → 5	
時間(min)	A (%)	B (%)																											
0 → 1	95 → 95	5 → 5																											
1 → 2	95 → 85	5 → 15																											
2 → 3	85 → 80	15 → 20																											
3 → 6	80 → 70	20 → 30																											
6 → 7	70 → 10	30 → 90																											
7 → 11	10 → 2	90 → 98																											
11 → 12	2 → 2	98 → 98																											
12 → 18	2 → 95	98 → 5																											

<p>量(ppm) = $\frac{C \times V}{M}$</p> <p>C：由基質匹配檢量線或檢量線求得檢液中各四環黴素類抗生素之濃度(μg/mL)</p> <p>V：檢體最後定容之體積(mL)</p> <p>M：取樣分析檢體之重量(g)或體積(mL)</p> <p>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：</p> <table border="1" data-bbox="220 645 703 853"> <thead> <tr> <th>相對離子強度(%)</th> <th>容許範圍(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>> 50</td> <td>±20</td> </tr> <tr> <td>> 20~50</td> <td>±25</td> </tr> <tr> <td>> 10~20</td> <td>±30</td> </tr> <tr> <td>≤10</td> <td>±50</td> </tr> </tbody> </table> <p>附註：1. 本檢驗方法之定量極限，四環黴素等7項抗生素於肌肉、脂肪、蛋類、乳汁及蜂蜜中均為0.005 ppm，於內臟中均為0.05 ppm。</p> <p>2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。</p> <p>參考文獻：</p> <p>1. Cetinkaya, F., Yibar, A., Soyutemiz, G. E., Okutan, B., Ozcan, A. and Karaca, M. Y. 2012. Determination of tetracycline residues in chicken meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Addit. Contam. Part B 5: 45-49.</p> <p>2. Giannetti, L., Longo, F., Buiarelli, F., Russo, M. V. and Neri, B. 2010. Tetracycline residues in royal jelly and honey by liquid chromatography tandem mass spectrometry: validation study according to Commission Decision 2002/657/EC. Anal. Bioanal. Chem. 398: 1017-1023.</p> <p>參考層析圖譜</p>	相對離子強度(%)	容許範圍(%)	> 50	±20	> 20~50	±25	> 10~20	±30	≤10	±50	<p>$\frac{C \times V}{M}$</p> <p>C：由基質匹配檢量線求得檢液中各抗生素之濃度(μg/mL)</p> <p>V：檢體最後定容之體積(mL)</p> <p>M：取樣分析檢體之重量(g)</p> <p>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：</p> <table border="1" data-bbox="734 568 1208 777"> <thead> <tr> <th>相對離子強度(%)</th> <th>容許範圍(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>> 50</td> <td>±20</td> </tr> <tr> <td>> 20~50</td> <td>±25</td> </tr> <tr> <td>> 10~20</td> <td>±30</td> </tr> <tr> <td>≤10</td> <td>±50</td> </tr> </tbody> </table> <p>附註：1. 本檢驗方法之定量極限，四環黴素等7項抗生素於肌肉、乳汁、蜂蜜及蛋類中均為0.005 ppm，於內臟中均為0.05 ppm。</p> <p>2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。</p> <p>參考文獻：</p> <p>1. Cetinkaya, F., Yibar, A., Soyutemiz, G. E., Okutan, B., Ozcan, A. and Karaca, M. Y. 2012. Determination of tetracycline residues in chicken meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Addit. Contam. Part B 5: 45-49.</p> <p>2. Giannetti, L., Longo, F., Buiarelli, F., Russo, M. V. and Neri, B. 2010. Tetracycline residues in royal jelly and honey by liquid chromatography tandem mass spectrometry: validation study according to Commission Decision 2002/657/EC. Anal. Bioanal. Chem. 398: 1017-1023.</p>	相對離子強度(%)	容許範圍(%)	> 50	±20	> 20~50	±25	> 10~20	±30	≤10	±50	
相對離子強度(%)	容許範圍(%)																					
> 50	±20																					
> 20~50	±25																					
> 10~20	±30																					
≤10	±50																					
相對離子強度(%)	容許範圍(%)																					
> 50	±20																					
> 20~50	±25																					
> 10~20	±30																					
≤10	±50																					



圖、以 LC-MS/MS 分析四環黴素等 7 品項抗生素之 MRM 圖譜

附表、四環黴素等 7 品項抗生素之多重反應偵測模式參數

分析物	離子對	選擇離子	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)
Tetracycline	四環黴素	445 > 410*	26 18
		445 > 427	26 12
		445 > 226	26 53
Oxytetracycline	氧四環黴素	461 > 426*	26 18
		461 > 443	26 12
		461 > 283	26 38
Chlortetracycline	氯四環黴素	479 > 444*	34 20
		479 > 462	34 18
		479 > 154	34 28
Doxycycline	脫氧四環黴素	445 > 428*	35 17
		445 > 154	35 28
4-Epimer-tetracycline	—	445 > 410*	24 20
		445 > 427	24 12
		445 > 392	24 25
4-Epimer-oxytetracycline	—	461 > 426*	28 20
		461 > 201	28 38
		461 > 444	28 15
4-Epimer-chlortetracycline	—	479 > 462*	34 20
		479 > 444	34 18

*定量離子對，定性離子對可視基質情況選擇適合之至少一對離子對

附表、四環黴素等 7 品項抗生素之多重反應偵測模式參數

分析物	離子對	選擇離子	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)
Tetracycline	四環黴素	445 > 410*	14 18
		445 > 427	14 12
		461 > 426*	16 18
Oxytetracycline	氧四環黴素	461 > 443	16 12
		479 > 444*	26 20
Chlortetracycline	氯四環黴素	479 > 462	26 16
		445 > 428*	12 18
Doxycycline	脫氧四環黴素	445 > 154	12 30
		445 > 410*	24 22
4-Epimer-tetracycline	—	445 > 427	24 14
4-Epimer-oxytetracycline	—	461 > 426*	22 20
		461 > 201	22 40
4-Epimer-chlortetracycline	—	479 > 444*	26 22
		479 > 462	26 18

*定量離子對