

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－離子型抗球蟲藥之檢驗
Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods－
Test of Ionophore Coccidiostats

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽產品中拉薩羅(lasalocid)、馬杜拉黴素(maduramicin)、孟寧素(monensin)、那寧素(narasin)及沙利黴素(salinomycin)5品項抗球蟲藥之檢驗。
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。
 - 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⁺)。
 - 2.1.1.2. 層析管：ACQUITY UPLC BEH C8，1.7 μm ，內徑 2.1 mm $\times$ 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 離心機(Centrifuge)。
 - 2.1.3. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.4. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.1.5. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。
 - 2.1.6. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.1.7. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2. 試藥：甲酸、甲醇及乙腈均採用液相層析級；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℃可達18 M Ω ·cm以上)；拉薩羅(lasalocid A sodium salt)、馬杜拉黴素(maduramicin ammonium)、孟寧素(monensin sodium salt)、那寧素(narasin)及沙利黴素(salinomycin SV sodium salt pentahemihydrate)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：5 mL及10 mL。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 μm ，PVDF材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 80%乙腈溶液
取乙腈800 mL，加去離子水使成1000 mL。
 - 2.4.2. 含 5% 甲醇之乙腈溶液：
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：

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。

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。

2.6. 標準溶液之配製：

取相當於含拉薩羅、馬杜拉黴素、孟寧素、那寧素及沙利黴素對照用標準品各約 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，於-20℃貯存。臨用時分別取適量標準原液混合，以 80%乙腈溶液稀釋至 0.005~9 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

肌肉、內臟及蛋類檢體細切均質後，取約5 g，精確稱定；乳汁檢體混勻後，精確量取5 mL，置於離心管中，加入無水硫酸鈉 10 g及含5%甲醇之乙腈溶液20 mL，旋渦混合1分鐘，超音波振盪10分鐘，以3200 × g離心10分鐘，取上清液。殘留物再加入含5%甲醇之乙腈溶液20 mL，旋渦混合1分鐘，超音波振盪10分鐘，以3200 × g離心10分鐘，合併上清液，加入乙腈飽和之正己烷溶液20 mL，振盪1分鐘，以3200 × g離心10分鐘，取下層液，加入乙腈飽和之正己烷溶液20 mL，重複上述步驟一次，取下層液，於40℃水浴中以氮氣濃縮至乾，殘留物以80%乙腈溶液溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線之製作：

取空白檢體依2.7.節萃取及氮氣吹乾後，分別添加不同濃度標準溶液500 µL，再以80%乙腈溶液溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析。就各抗球蟲藥之波峰面積，與對應之各抗球蟲藥濃度，分別製作基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜測定條件^(註)：

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	90 → 30	10 → 70
2.0 → 8.0	30 → 30	70 → 70

8.0 → 10.0	30 → 0	70 → 100
10.0 → 11.0	0 → 0	100 → 100
11.0 → 11.1	0 → 90	100 → 10
11.1 → 15.0	90 → 90	10 → 10

移動相流速：0.4 mL/min。

注入量：10 μ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：3.5 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：150°C。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：600°C。

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)如下表。

分析物	離子化 模式	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)		
拉薩羅	ESI ⁺	614 > 377*	44	40
		614 > 577	44	34
馬杜拉黴素	ESI ⁺	940 > 877*	30	34
		940 > 719	30	70
孟寧素	ESI ⁺	694 > 479 *	54	52
		694 > 461	54	48
那寧素	ESI ⁺	788 > 279*	62	52
		788 > 431	62	48
沙利黴素	ESI ⁺	774 > 431*	58	48
		774 > 531	58	40

*定量離子對

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 μ L，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，並依下列計算式求出檢體中各抗球蟲藥之含量(ppm)：

$$\text{檢體中各抗球蟲藥之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由基質匹配檢量線求得檢液中各抗球蟲藥之濃度(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比而得(≤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. 本檢驗方法拉薩羅等5品項抗球蟲藥之定量極限於肌肉均為0.02 ppm、內臟均為0.05 ppm、乳品及蛋類均為0.005 ppm。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。