

出國報告（出國類別：研習）

赴日本埼玉縣「衛生研究所」研習農畜
禽水產品中抗生素殘留之檢測技術

服務機關：行政院衛生署藥物食品檢驗局

姓名職稱：周光宇

派赴國家：日本

出國期間：96年11月4日至11月10日

報告日期：97年1月

系統識別號:C09600029

公務出國報告提要

頁數：56 含附件：無

報告名稱：「赴日本埼玉縣衛生研究所研習農畜禽水產品中抗生素殘留之檢測技術」

主辦機關：行政院衛生署藥物食品檢驗局

聯絡人／電話：周光宇薦任技士／02-26531066

出國人員：

周光宇 行政院衛生署藥物食品檢驗局 薦任技士

出國類別：其他（研習）

出國地區：日本

出國期間：民國96年11月04日-民國96年11月10日

報告日期：民國97年1月

分類號/目：衛生醫療／公共衛生

關鍵詞：動物用藥、液相層析串聯質譜儀、橫濱檢疫所、埼玉縣衛生研究所。

內容摘要：

為瞭解日本執行動物用藥相關檢驗之技術並建立交流溝通管道，本人奉派於 96 年 11 月 4~10 日前往日本負責進口食品檢驗之厚生勞動省下轄之「橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心」及「埼玉縣衛生研究所」研習動物用藥殘留檢測分析技術並瞭解日本動物用藥殘留檢驗方法之開發及行政管理現況。研習期間與日本「橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心」之中心長滝本浩司博士、統括檢查官塩見幸博先生、審查指導課課長茂野雄城先生及宮田昌弘先生、「埼玉縣衛生研究所」之野本親男所長及堀江正一博士進行檢驗技術之研討、交流及資料蒐集，獲益良多，其有關檢驗技術之執行情形值得我們借鏡。國際間流通之動物用藥品項相當多，目前以液相層析串聯質譜儀等精密儀器進行多重殘留分析，達到快速篩檢之目的已是國際間趨勢。針對我國動物用藥之檢驗，建議補足相關儀器設備及人力，針對已訂定殘留標準之動物用藥儘速建立相關檢驗方法並公告；積極參與國際交流，以獲得最新資訊；建立國內動物用藥檢驗之溝通平台，進行檢驗技術交流及經驗分享，以加快技術層面之全面提升。

摘要

為瞭解日本執行動物用藥相關檢驗之技術並建立交流溝通管道，本人奉派於 96 年 11 月 4~10 日前往日本負責進口食品檢驗之厚生勞動省下轄之「橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心」及「埼玉縣衛生研究所」研習動物用藥殘留檢測分析技術並瞭解日本動物用藥殘留檢驗方法之開發及行政管理現況。研習期間與日本「橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心」之中心長滝本浩司博士、統括檢查官塩見幸博先生、審查指導課課長茂野雄城先生及宮田昌弘先生、「埼玉縣衛生研究所」之野本親男所長及堀江正一博士進行檢驗技術之研討、交流及資料蒐集，獲益良多，其有關檢驗技術之執行情形值得我們借鏡。國際間流通之動物用藥品項相當多，目前以液相層析串聯質譜儀等精密儀器進行多重殘留分析，達到快速篩檢之目的已是國際間趨勢。針對我國動物用藥之檢驗，建議補足相關儀器設備及人力，針對已訂定殘留標準之動物用藥儘速建立相關檢驗方法並公告；積極參與國際交流，以獲得最新資訊；建立國內動物用藥檢驗之溝通平台，進行檢驗技術交流及經驗分享，以加快技術層面之全面提升。

目次

	頁
壹、前言.....	7
貳、研習過程.....	9
叁、心得及建議.....	54
肆、誌謝.....	55

圖目次

	頁
圖一、 日本厚生勞動省下轄之 13 個檢疫本所分布位置圖。.....	11
圖二、 橫濱檢疫所之組織編制圖。.....	14
圖三、 橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。.....	15
圖四、 橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。.....	16
圖五、 橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。.....	17
圖六、 橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。.....	18
圖七、 橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。.....	19
圖八、 橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。.....	20
圖九、 橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。.....	21
圖十、 埼玉縣衛生研究所組織編制。.....	30
圖十一、 埼玉縣衛生研究所水・食品擔當部。.....	31
圖十二、 埼玉縣衛生研究所水・食品擔當部。.....	32
圖十三、 氯黴素分析之標準曲線圖。.....	52

表目次

	頁
表一、 日本 2006(平成 18)年及 2007(平成 19)年 4~9 月輸入食品申請件數、 檢查件數及違規件數統計……………	22
表二、 日本 2006 年 31 個檢疫本所及支所申請件數、檢查件數及違規件數統 計表……………	23
表三、 日本 2007 年 4~9 月監控檢查統計表……………	24
表四、 日本 2006 年監控檢查統計表……………	25
表五、 日本 2007 年 4~9 月命令檢查統計表……………	26
表六、 日本 2006 年命令檢查統計表……………	27
表七、 Beta- lactame 抗生素 MS/MS 分析條件……………	38
表八、 Beta- lactame 抗生素標準品標準曲線分析……………	39
表九、 Beta- lactame 抗生素--空白樣品及添加樣品回收率分析結果……………	40
表十、 斥水性抗生素 MS/MS 分析條件……………	44
表十一、 斥水性抗生物質 (hydrophobic antibiotic) 之標準品分析結果……………	46
表十二、 斥水性抗生物質--空白樣品及添加樣品之 LC/MS/MS 分析結果……………	48
表十三、 氯黴素標準品、空白樣品及添加樣品之 LC/MS/MS 分析……………	53

壹、前言

一、緣起及目的

隨著美國、歐盟及日本等各國對進口食品中殘留抗生素等動物用藥管制日趨嚴格，日本厚生勞動省亦於 2003 年 5 月公布修正食品衛生法，並自 2006 年 5 月 29 日起針對進口食品實施新的藥物殘留檢驗標準，採施正面表列制度 (Positive List System)。加上由泰國輸出的蝦、蟹被檢驗出氯黴素，中國大陸銷歐盟、美國的蝦、吳郭魚、鯰魚、巴沙魚、鰱魚及鰻魚相繼被檢驗出氯黴素、硝基呋喃、孔雀石綠、龍膽紫以及可引發人體病原菌產生抗藥性的氟化奎林酮類抗生素殘留，台灣輸出歐盟水產品被檢出氯黴素及富來頓遭消毀退貨、輸日鰻魚檢出磺胺劑殘留及石斑魚檢出孔雀石綠殘留等事件。不僅國內乃至國際間對於食品中殘留抗生素等動物用藥問題均非常關注，為確保國人飲食的安全，並提昇我國畜禽水產品在國際間之競爭力，對進口畜禽水產品之檢疫及對輸出水產品提供衛生證明之檢驗技術的提升並和國際同步日趨重要。本人奉派於 96 年 11 月 4~10 日前往日本負責進口食品檢驗之厚生勞動省下轄之「橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心」以及「埼玉縣衛生研究所」研習動物用藥殘留檢測分析技術並瞭解日本動物用藥殘留檢驗方法之開發及行政管理現況。研修行程主要由駐日本經濟文化代表處經濟組謝偉馨秘書協助連繫，並與中央畜產會戴東發主任、郭素蓮小姐、郭富美小姐及洪志駿博士一同前往，行程細節如后。研修方式主要是前往位於日本神奈川縣的橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心參訪及至埼玉縣衛生研究所水·食品擔當部實驗室研習日本藥物殘留檢測、定性、定量及確認之方法。

二、研習行程

日期	地點	行 程	參與人員
11月04日	台北至東京	啓程搭乘長榮航空15:00起飛；19:00抵達東京成田機場	衛生署藥檢局：周光宇技士 中央畜產會：戴東發主任 郭素蓮小姐 郭富美小姐 麥德凱公司：洪志駿博士
11月05日	橫濱	神奈川縣橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心	衛生署藥檢局：周光宇技士 中央畜產會：戴東發主任 郭素蓮小姐 郭富美小姐 麥德凱公司：洪志駿博士
11月06~09日	埼玉縣	埼玉縣衛生研究所	衛生署藥檢局：周光宇技士 中央畜產會：郭富美小姐
11月10日	東京至台北	搭乘長榮航空14:00起飛；17:00抵達台北	衛生署藥檢局：周光宇技士 中央畜產會：郭富美小姐

貳、研習過程

一、日期：11 月 5 日(星期一)

地點：日本神奈川縣橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心

早上從東京新宿車站搭乘電車至品川車站先與台北駐日經濟文化代表處戴副參事官德芳先生會合後，再一同前往橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。該中心之中心長滝本浩司博士親自接待我們一行人，並介紹該中心的統括檢查官塩見幸博先生、審查指導課課長茂野雄城先生及宮田昌弘先生與我們認識，在簡單的寒暄問候之後，滝本博士表示從日本修法準備實施正面表列制度後，台灣這幾年已多次派員參訪橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心，對該中心的業務應該不陌生，仍非常歡迎我們的到來與參訪，並親自說明該中心的編制與職掌。厚生勞動省 (Minister of Health Labour and Welfare, MHLW) 下設有 31 個窗口(檢疫本所及支所)受理食品等輸入申報作業，其中有 13 個檢疫本所包括小樽、仙台、成田空港、東京、橫濱、新潟、名古屋、大阪、關西空港、神戶、廣島、福岡及那霸，如圖一，檢疫所主要任務係在國際海空航運站進行輸入食品檢查並採取必要措施，以避免於日本發生危害公眾健康之情事發生。其中有兩大輸入食品檢疫檢查中心位於神戶及橫濱，分別扮演對日本東西兩側海空航運輸入食品檢驗之重要角色，主要進行殘留農藥、動物用藥、貝毒、GMO 等較高技術之試驗檢查；另有 6 個檢疫所設有中小型的檢查課，分別位於東京、成田空港、名古屋、大阪、關西空港及福岡，進行微生物及物化性等一般試驗檢查。基於日本食品衛生法，為確保進口食品、食品添加物、器具、容器包裝及嬰幼兒用玩具的安全，食品進口業者應於通關程序前向厚生勞動省提出輸入申報。於檢疫所之食品衛生檢查員進行文件審查後，執行下列 3 種形式的檢查：第 1 種是命令檢查，此係指對輸出國的狀況、食品特性以及曾有違規紀錄等不符合食品衛生法規定可能性高的食品，厚生勞動省命令食品進口業者向經過厚生勞動省登錄之檢查機關進行必要的檢查，所有試驗費用由業者自付，而檢驗中的食品亦必須留置於預先安排好之處所至查驗結果判明為止。第 2 種是由食品衛生檢查官員執行的行政檢查，此係食品衛生檢查官員對第一次輸入的食品或曾違反食品衛生法的食品或於運輸過程有意外事故發生之貨品進行檢查。第 3 種是監視檢查，此係每年由厚生勞動省基於年度進口量及每一項目違反歷史

紀錄制定國家取樣及檢查計畫，由檢疫所之食品衛生檢查官員依該計畫執行檢查。基於進口者必須對輸入食品負有其安全性等相關事項之責任，檢疫所之檢查官員會要求那些首次輸入或常規性輸入之食品進口業者對其貨品進行特定項目之自願性檢查(督導自主檢查)。



圖一、日本厚生勞動省下轄之 13 個檢疫本所分布位置圖。

橫濱檢疫所的檢驗核心即是輸入食品檢疫檢查中心，該中心的組織編制詳如圖二，在滝本博士介紹完該中心的任務執掌及概況後，便由統括檢查官塩見幸博先生及宮田昌弘先生帶領我們一行人換上實驗衣進入檢驗室進行參觀。從檢體的運送、收領、電腦條碼控管、登記、分類、送入檢體前處理區、進行檢體處理、檢體萃取、儀器分析及報告列印均詳細的解說，令人印象深刻，如圖三~圖九。最後，我們與中心長滝本浩司博士、統括檢查官塩見幸博先生、審查指導課課長茂野雄城先生及宮田昌弘先生進行約 1 個小時的座談並交換意見，經由麥德凱公司洪博士的翻譯協助，座談內容整理如下：

1. 目前日本進行食品中殘留藥物檢測主要是依照食品衛生法執行，不論國外輸入食品或國內製造食品均適用：

- (1) 已向農林水產省申請使用之動物用藥物

若檢測出之藥物厚生勞動省訂有殘留標準 (MRLs)，超過殘留標準者厚生勞動省則依食品衛生法進行處罰並限制產品流通，農林水產省亦依其主管法規進行處罰，反之，則判定為合格；若檢測出之藥物尚未訂有殘留標準，則一律以 0.01 ppm 當做檢測標準。

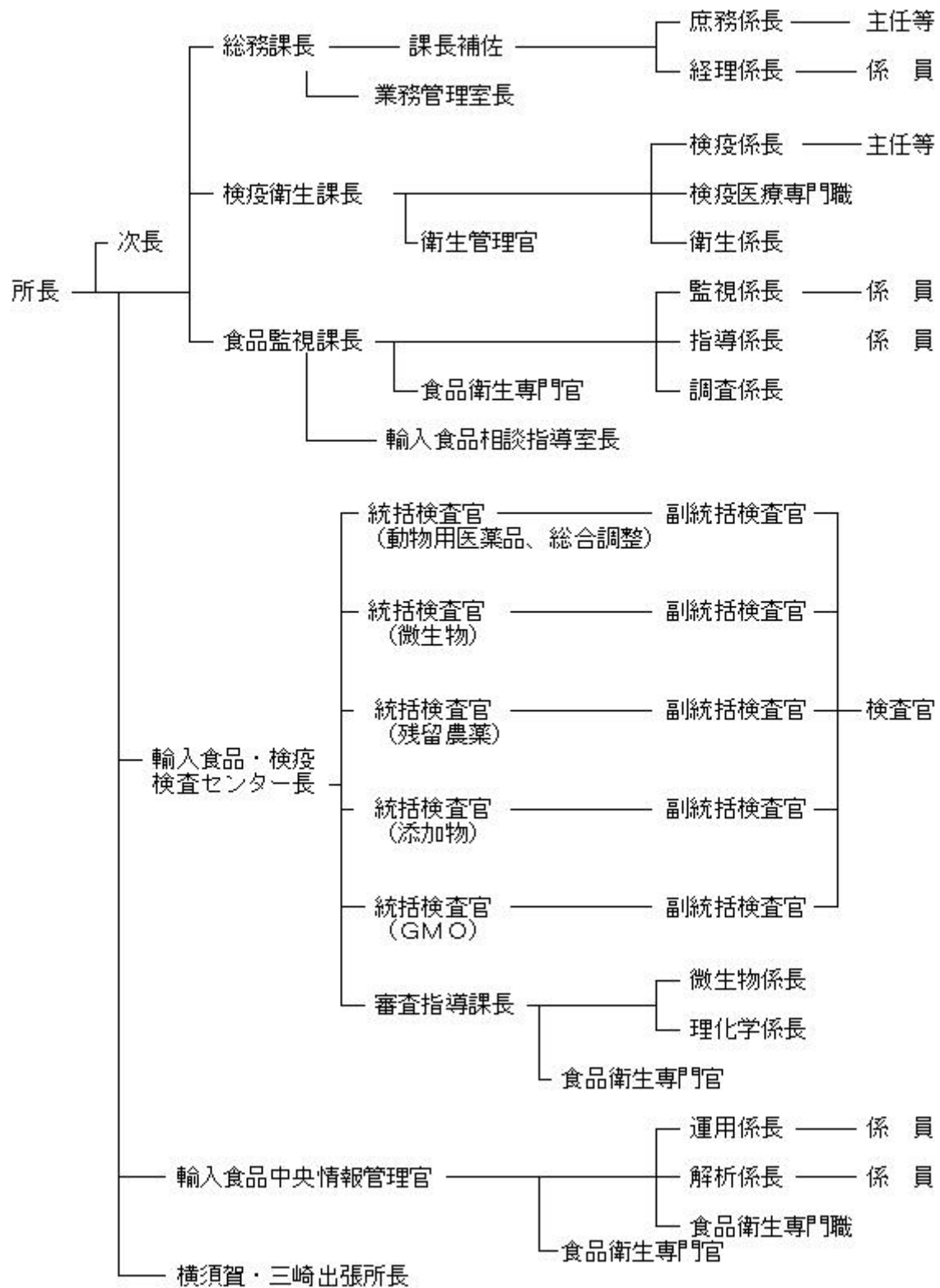
- (2) 未向農林水產省申請使用之動物用藥物：

若檢測出之藥物厚生勞動省訂有殘留標準 (MRLs)，超過殘留標準者厚生勞動省則依食品衛生法進行處罰並限制產品流通，農林水產省亦依其主管法規進行處罰，反之，檢測結果未超過殘留標準者厚生勞動省則判定合格允許產品流通，但農林水產省則依其主管法規進行調查，國內食品若為獸醫師的責任則處罰獸醫師；若檢測出之藥物尚未訂有殘留標準，則一律以 0.01 ppm 當做檢測標準。

2. 橫濱檢疫所進行輸入食品檢驗時，檢測結果超過殘留標準者則判定為不合格，並通報至厚生勞動省。
3. 目前日本投入食品檢驗的經費預算（不含人事費）約每年 22 億日圓，橫濱檢疫所檢查員共約 39 人，所需之食品檢驗的經費預算約每年 5 億日圓。
4. 由於各國法規不同，各國輸出食品至日本前若做好自主檢查可以節省通關時間。

5. 2006 年日本厚生勞動省進行輸入食品檢驗業務，申請件數約 185 萬件，檢查件數約 20 萬件 (11.0 %)，違規件數約 1515 件 (0.1 %)，其中命令檢查件數約 9 萬件，違規件數約 681 件 (0.7 %)；監控檢查件數約 8 萬件，違規件數約 360 件 (0.5 %)，詳如表一、表四及表六。至於 2007 年的檢驗統計數據滝本博士並未提及，嗣后於厚生勞動省之網頁公佈的資料，得知 2007 年 4~9 月日本進行輸入食品檢驗業務，申請件數約 91 萬件，檢查件數約 10 萬件 (11.0 %)，違規件數約 619 件 (0.07 %)，其中命令檢查件數約 5 萬件，違規件數約 292 件 (0.6 %)；監控檢查件數約 4 萬件，違規件數約 114 件 (0.3 %)，詳如表一、表三及表五。
6. 2006 年橫濱檢疫所進行輸入食品檢驗業務，申請件數約 20 萬件，檢查件數約 2 萬件 (9.0 %)，違規件數約 252 件 (0.1 %)，詳如表二。

横浜検疫所の組織図及び人員配置図 (平成17年4月1日現在)



圖二、横浜検疫所之組織編制圖。

資料來源：日本横浜検疫所網頁 (<http://www.yokohama-keneki.go.jp/s-1/s-1-1-4.html>)



中央畜産會戴東發主任、郭素蓮小姐、郭富美小姐、筆者及駐日代表處戴德芳副參事官



橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心



檢體收領登記室



檢體運送盒均有封條



檢體運送盒封條處亦有蓋章



檢體電腦條碼輸入作業

圖三、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。



檢體收領後立即貼上電腦條碼



檢體均質器具



檢體處理工具置放處



農產品前處理區

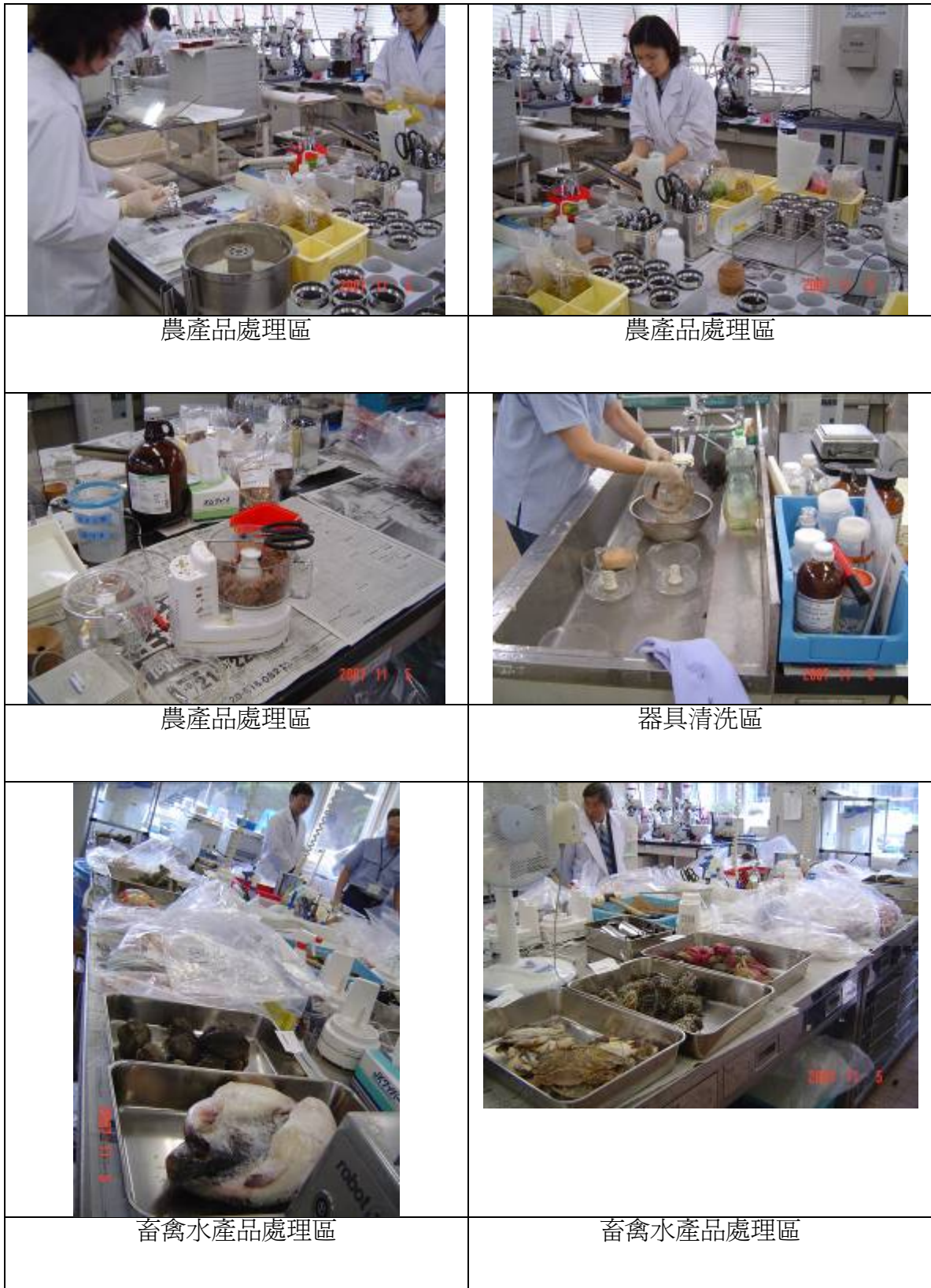


農產品前處理區



農產品前處理區

圖四、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。



圖五、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。



畜禽水產品處理區



畜禽水產品處理區



畜禽水產品處理區



檢體萃取處理區



檢體萃取處理區



檢體萃取處理區

圖六、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。



真空濃縮機



真空濃縮機—溶劑回收裝置使溶劑不致外溢



真空濃縮機



真空濃縮機—溶劑回收裝置

圖七、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。



HPLC 分析室



HPLC 分析室



GC/MS 分析室



GC/MS/MS 分析室



LC/MS/MS 分析室



LC/MS/MS 分析室

圖八、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。



圖九、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心。

表一、日本 2006(平成 18)年及 2007(平成 19)年 4~9 月輸入食品申請件数、検査件数
及違反件数統計表

届出・検査・違反状況(平成 18 年度:速報値)

届出件数 (件)	輸入重量 (千トン)	検査件数 ^{※2} (件)	割合 (%)	違反件数 (件)	割合 ^{※3} (%)
1,845,995	31,555 ^{※1}	203,001 (93,246) ^{※4}	11.0 ^{※3}	1,515 (681) ^{※4}	0.1 (0.7) ^{※4}
(前年度実績) 1,871,173	31,825	190,959	10.2	1,014	0.1

※1 輸入重量は、平成 19 年 1 月~3 月の計画輸入量を除く速報値

※2 行政検査、登録検査機関検査、外国公的機関検査検査の合計から重複を除いた数値

※3 届出件数に対する割合

※4 検査命令に係る数値(再掲)

届出・検査・違反状況(平成 19 年 4 月~9 月:速報値)

届出件数	輸入重量	検査件数 ^{※1}	割合 ^{※2}	違反件数	割合 ^{※2}
件	千トン	件	%	件	%
914,373	12,226	100,948	11.0	619	0.07
(前年度実績) 923,968	12,416	94,920	10.2	629	0.07

※1 モニタリング検査、検査命令、指導検査等の合計から重複を除いた数値

※2 届出件数に対する割合

資料來源：日本厚生労働省網頁 (<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>)

表二、日本 2006 年 31 個檢疫本所及支所申請件數、檢查件數及違規件數統計表

： 檢疫所別の届出・検査・違反状況

檢疫所名	輸入・届出数量		検査数量		違反数量	
	件数	重量	件数	重量	件数	重量
	件	トン	件	トン	件	トン
小樽	25,000	674,210	1,507	179,728	2	19
千歳空港	1,818	773	178	126	3	0
仙台台	18,316	431,530	2,345	38,148	20	275
仙台空港	198	370	65	120	2	0
成田空港	279,625	137,595	17,582	11,239	108	45
東京二葉	427,719	6,275,655	36,072	669,082	245	18,764
東京二葉	34,903	236,062	6,864	40,326	59	165
東京空港	5,203	1,889,875	811	334,675	13	10,060
東京空港	1	0	0	0	0	0
川崎	87,724	1,511,286	12,106	101,249	58	965
横浜	201,439	3,869,406	18,124	388,393	252	11,099
新潟	20,643	264,462	1,195	59,664	8	76
名古屋	96,209	4,603,204	13,454	2,165,036	135	59,179
清水	32,731	1,708,960	4,460	604,932	70	33,518
中部空港	15,367	5,845	5,119	844	14	2
四日市	2,667	482,143	658	183,774	10	2,351
大阪	218,754	2,775,228	18,738	311,517	119	838
関西空港	57,043	51,074	5,389	3,431	35	11
神戸	93,789	2,677,421	13,360	489,041	124	13,339
神戸二葉	71,090	3,432,046	10,244	714,166	82	4,231
広島	12,233	223,492	1,328	35,141	24	392
広島境	1,928	23,316	229	8,176	2	13
広島空港	122	42	25	10	0	0
福岡	62,876	1,774,540	9,780	239,304	56	445
門司	17,937	246,985	2,841	31,691	21	135
下関	48,162	174,736	11,926	69,435	27	32
福岡空港	7,670	5,246	1,321	652	13	5
長崎	4,988	34,364	282	12,302	1	0
鹿児島	2,340	471,226	769	278,395	10	5,654
那覇	10,304	114,620	1,992	25,676	17	42
那覇空港	482	98	172	43	0	0
合計	1,859,281	34,095,810	198,936	6,996,317	1,530	161,653

5

資料來源：日本厚生労働省網頁（<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>）

表三、日本 2007 年 4~9 月 監控検査統計表

モニタリング検査実施状況（平成 19 年 4 月～9 月：速報値）

品名	検査項目	年度計画件数※	実施件数	違反件数
畜産食品 牛肉、豚肉、鶏肉、馬肉、 その他食鳥肉等	抗生物質等	2,850	1,379	0
	残留農薬	1,700	1,207	0
	添加物	-	117	0
	成分規格等	650	352	0
	S R M 除去確認	-	2,367	0
畜産加工食品 ナチュラルチーズ、食肉 製品、アイスクリーム、 冷凍食品（肉類）等	抗生物質等	1,050	573	2
	残留農薬	-	11	0
	添加物	1,150	1,029	0
	成分規格等	2,250	1,039	3
水産食品 二枚貝、魚類、甲殻類（エ ビ、カニ）等	抗生物質等	3,150	1,235	1
	残留農薬	750	948	8
	添加物	300	141	0
	成分規格等	900	476	0
水産加工食品 魚類加工品（切り身、乾 燥、すり身等）、冷凍食品 （水産動物類、魚類）、魚 介類卵加工品等	抗生物質等	4,100	2,342	3
	残留農薬	250	1,067	0
	添加物	2,450	1,951	1
	成分規格等	6,000	3,273	35
農産食品 野菜、果実、麦類、とう もろこし、豆類、落花生、 ナッツ類、種実類等	抗生物質等	700	270	0
	残留農薬	18,200	7,830	21
	添加物	600	374	2
	成分規格等	850	595	0
	カビ毒	2,200	1,296	0
	遺伝子組換え食品	1,550	596	0
農産加工食品 冷凍食品（野菜加工品）、 野菜加工品、果実加工品、 香辛料、即席めん類等	抗生物質等	-	7	0
	残留農薬	5,000	2,052	12
	添加物	4,400	2,607	4
	成分規格等	2,200	1,351	11
	カビ毒	2,250	966	0
その他の食料品 健康食品、スープ類、調 味料、菓子類、食用油脂、 冷凍食品等	遺伝子組換え食品	200	76	2
	抗生物質等	300	1	0
	残留農薬	250	20	0
	添加物	3,050	1,507	1
	成分規格等	700	576	5
	カビ毒	600	176	1
飲料 ミネラルウォーター類、 清涼飲料水、アルコール 飲料等	遺伝子組換え食品	-	4	0
	残留農薬	300	99	0
	添加物	900	649	0
	成分規格等	900	436	2
添加物、器具及び容器 包装、おもちゃ	カビ毒	300	55	0
	成分規格等	1,300	542	0
総計（延数）	年度計画件数総計に は、検査強化分とし て 5,000 件を計上	79,300	41,592 年度計画に対する 実施率約 52%	114

※ 抗生物質、農薬等の検査項目別の計画件数の概算を示したもの

資料來源：日本厚生労働省網頁（<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>）

表四、日本 2006 年 監 控 検 査 統 計 表

モニタリング検査実施状況 (平成 18 年度)

食品群	検査項目※1	年度計画件数※2	実施件数	違反件数
畜産食品 牛肉、豚肉、鶏肉、馬肉、その他食鳥肉等	抗生物質等	2,850	2,386	4
	残留農薬	1,700	1,747	0
	添加物	-	20	0
	成分規格	650	602	0
	SRM除去	-	4,301	0
畜産加工食品 ナチュラルチーズ、食肉製品、アイスクリーム、冷凍食品(肉類)等	抗生物質等	1,050	1,030	6
	残留農薬	-	6	0
	添加物	1,300	1,580	1
	成分規格	1,600	1,467	12
水産食品 二枚貝、魚類、甲殻類(エビ、カニ)等	抗生物質等	3,100	3,115	13
	残留農薬	850	1,762	7
	添加物	300	325	0
	成分規格	900	934	0
水産加工食品 魚類加工品(切り身、乾燥、すり身等)、冷凍食品(水産動物類、魚類)、魚介類卵加工品等	抗生物質等	4,150	4,421	17
	残留農薬	250	1,622	0
	添加物	2,250	3,698	1
	成分規格	6,050	5,670	43
農産食品 野菜、果実、麦類、とうもろこし、豆類、落花生、ナッツ類、種実類等	抗生物質等	650	108	0
	残留農薬	18,000	18,294	160
	添加物	600	677	0
	成分規格	750	1,159	0
	カビ毒	2,700	2,749	2
農産加工食品 冷凍食品(野菜加工品)、野菜加工品、果実加工品、香辛料、即席めん類等	GMO	1,550	1,231	0
	抗生物質等	-	126	0
	残留農薬	4,800	4,511	46
	添加物	4,300	4,475	9
	成分規格	1,950	1,883	6
	カビ毒	2,300	1,753	2
その他の食料品 健康食品、スープ類、調味料、菓子類、食用油脂、冷凍食品等	GMO	150	241	15
	抗生物質等	150	33	0
	残留農薬	250	33	0
	添加物	2,950	2,761	6
	成分規格	1,250	1,013	4
飲料 ミネラルウォーター類、清涼飲料水、アルコール飲料等	カビ毒	300	332	0
	GMO	-	35	0
	残留農薬	300	165	0
	添加物	1,200	1,382	0
添加物 器具及び容器包装、おもちゃ	成分規格	900	747	2
	カビ毒	150	70	0
	添加物	-	1	1
成分規格	1,300	1,200	3	
総 計(延数) 年度計画件数総計には、検査強化分として 4,500件を計上		78,000	79,665 実施率約 102%	360

※1: 検査項目の例

- ・抗生物質等: 抗生物質、残留抗菌性物質等
- ・残留農薬: 有機リン系、有機塩素系、カーバメイト系、ピレスロイド系等
- ・添加物: ソルビン酸、安息香酸、二酸化イオウ、着色料、ポリソルベート、サイクラミン酸、TBHQ、防ばい剤等
- ・成分規格等: 成分規格で定められている項目(細菌数、大腸菌群、腸炎ビブリオ等)、病原微生物(腸管出血性大腸菌O157、リステリア菌等)、貝毒(下痢性貝毒、麻痺性貝毒)等
- ・カビ毒: アフラトキシン、デオキシニバレノール、パツリン等
- ・遺伝子組換え食品: 安全性未審査遺伝子組換え食品等

※2: 抗生物質、農薬等の検査項目別の計画件数の概算を示したもの

資料來源: 日本厚生労働省網頁 (http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html)

表五、日本 2007 年 4~9 月命令検査統計表

主な検査命令対象品目及び検査実績（平成 19 年 4 月～9 月：速報値）

対象国・地域	主な対象食品	主な検査項目	検査件数	違反件数
全輸出国 (15 品目)	落花生、チリペッパー、 ナッツ類、ハトムギ、 乾燥いちじく等	アフラトキシン	4,414	20
	すじこ	亜硝酸根等	312	3
	フグ	魚種鑑別	2	0
	シアン化合物含有豆類、 キャッサバ	シアン化合物	248	6
中 国 (46 品目)	えび、鰻、さば、しじみ、 ローヤルゼリー等	テトラサイクリン系抗生物質 マラカイトグリーン エンロフロキサシン等	7,812	24
	まつたけ、ねぎ、しいた け、大粒落花生、未成熟 えんどう等	アセトクロール テブフェノジド フェンプロパトリン等	14,312	42
	二枚貝	麻痺性貝毒等	1,798	24
	そば	アフラトキシン	404	0
	鰻加工品等	大腸菌群等	1,160	3
	全ての加工食品	サイクラミン酸	1,668	1
タ イ (24 品目)	えび	オキシロニック酸	1,790	0
	おくら、マンゴー、アカ シア、ミズオジギソウ等	クロルピリホス ジノテフラン E P N 等	446	1
	バジルシード	アフラトキシン	4	1
韓 国 (20 品目)	パプリカ、とうがらし、 しじみ等	クロルピリホス エトプロホス エンドスルファン等	102	1
	二枚貝等	麻痺性貝毒	2,159	2
	生食用アカガイ	腸炎ビブリオ	13	0
台 湾 (16 品目)	鰻、ローヤルゼリー、 スッポン等 A	フラルタドン B フラゾリドン クロラムフェニコール等	2,808	2
	ウーロン茶、マンゴー、 ニラ、タロイモ等)	プロモプロピレート シベルメトリン クロルピリホス等	296	8
	全ての加工食品	サイクラミン酸	41	0
米 国 (12 品目)	とうもろこし、パセリ、 アーティチョーク、 ほうれんそう等	ピリミホスメチル クロルピリホス フェンバレレート等	195	1
	とうもろこし、アーモン ド、りんごジュース	アフラトキシン パツリン	1,997	38
ベトナム (5 品目)	えび、いか等	クロラムフェニコール フラゾリドン等	5,741	56
	ほうれんそう	インドキサカルブ	91	0
	ごま	アフラトキシン	21	1
	全ての加工食品	サイクラミン酸	51	0
その他 (25 カ国、46 品目)			4,852	58
総 計			52,737	292

A
Eel
royal jelly
soft-shelled turtle

B
Furaltadone
hydrochloride
Furazolidone
Chloramphenicol



資料來源：日本厚生労働省網頁（<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>）

表六、日本 2006 年命令檢查統計表

Country/Region	Main Foods Subject to Inspection Orders	Main Tested Substances	Number of Inspections	Number of Violations
All exporting countries (15 items)	Peanuts, nuts, chili peppers, etc.	Aflatoxin	12,412	85
	Salmon roe, etc.	Nitrite, etc.	464	3
	Beans containing cyanide	Cyanide compounds, etc.	536	4
China (46 items)	Buckwheat	Aflatoxin	930	
	Clams	Diarrhetic shellfish poison, paralytic shellfish poison	5,041	9
	Eel, prawns, honey, etc.	Enrofloxacin, streptomycin, oxytetracycline, etc.	16,493	40
	Fruit and vegetables, beans, fish (shiitake mushrooms, green onions, green soybeans, eel (limited to certain regions), etc.)	Fenpropathrin, tebufenozide, chlorpyrifos, endosulfan, etc.	20,121	91
	Processed eel products	Bacteria count, coliform bacteria	2,198	2
	All processed foods	Cyclamic acid	6,242	25
Korea (18 items)	Clams	Paralytic shellfish poison	4,641	
	Flatfish	Enrofloxacin, oxytetracycline	5	
	Fruit and vegetables (paprika, red chili peppers, green chili peppers, etc.)	Ethoprophos, chlorpyrifos, etc.	2,725	1
Vietnam (7 items)	Sesame seeds, sorghum	Aflatoxin	15	1
	Prawns, squid	Chloramphenicol, AOZ	6,664	95
	Spinach	Indoxacarb	107	
	All processed foods	Cyclamic acid	109	
Indonesia (2 items)	Turmeric	Aflatoxin	27	
	Prawns	Oxytetracycline, AOZ	5,962	30
Taiwan (15 items)	Vegetables, fruit, tea (oolong tea, spinach, mangoes, etc.)	Bromopropylate, chlorpyrifos, cyfluthrin, etc.	435	8
	Eel, royal jelly, soft-shelled turtle	AOZ, enrofloxacin, chloramphenicol, etc.	3,650	10
	All processed foods, etc.	Cyclamic acid, etc.	153	
Thailand (23 items)	Basil seed	Aflatoxin	19	
	Fruit and vegetables (mangoes, leech lime leaf, acacia, etc.)	Chlorpyrifos, parathion-methyl, propiconazole, etc.	912	1
	Prawns	Oxolinic acid	3,200	
US (11 items)	Corn, almonds, etc.	Aflatoxin	2,927	128
	Popcorn, artichokes, parsley, etc.	Pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, fenvalerate, etc.	437	4
Other (17 countries, 42 items)			3,683	144
Total			100,108	681

資料來源：日本厚生勞動省網頁（<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>）

二、日期：11月6日(星期二)

地點：日本埼玉縣衛生研究所

從東京新宿車站搭乘電車至埼玉縣南與野車站再轉乘巴士後，抵達埼玉縣衛生研究所附近的大泉院通り站，洪博士立即與堀江博士聯絡，堀江博士告知要立即出來迎接我們一行人，表現出非常熱情歡迎之意，隨後立即帶領我們前往會見衛生研究所野本親男所長，經過短暫寒暄問候之後，野本所長除了表示熱烈歡迎我們的到來，並詳細介紹說明目前衛生研究所之組織編制及近況，如圖十，並得知最近日本所發生的重大食品事件均是經由埼玉縣衛生研究所進行檢驗發現的。在埼玉縣衛生研究所內負責食品中殘留藥物檢測的工作是由水・食品擔當室進行，目前水・食品擔當室室長為廣瀨義文博士，部長為堀江正一博士，而堀江博士對於日本食品殘留藥物檢測方法開發上扮演重要的角色，亦對日本實施正面表列制度具有重要貢獻。

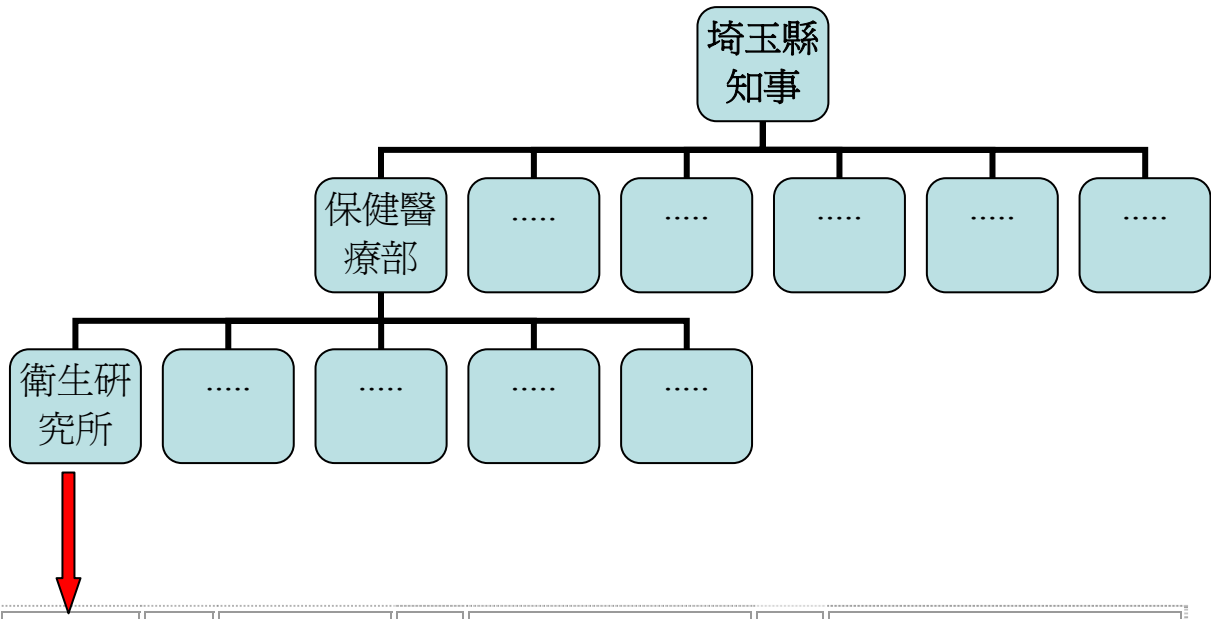
稍後，接著並與堀江博士進行座談，堀江博士詳細而親切的說明令人印象深刻，座談內容整理如下：

1. 目前埼玉縣衛生研究所經常性檢驗的動物用抗生物質共有 72 種，詳如表七及十。
2. 日本公定法主要是以 HPLC 法當作主要的檢驗方法，但由於正面表列制度實施後為了能偵測較低殘留量之動物用抗生物質，目前多直接以 LC/MS/MS 進行分析確認，如果第一次檢測 LC/MS/MS 無法判斷陽性陰性結果，會再用不同子離子進行確認，如果疑似陽性，則會進行 3 重複來確認結果。
3. 若檢測物質無公定檢驗方法，則用同等試驗法（通知法）進行檢測，目前日本關於動物用藥殘留檢測方法仍在持續建立當中。
4. 目前日本公告的殘留標準單位為 ppm，如果殘留標準為 0.01 ppm，而檢驗結果為 0.014 ppm，經由四捨五入後結果為 0.01 ppm，所以仍判定為合格；反之，如果檢驗結果為 0.015 ppm，經由四捨五入後結果為 0.02 ppm，所以判定為不合格，主要因為日本法定殘留標準單位為 ppm，而不以 ppb 為單位的結果進行報告。
5. 目前厚生勞動省公告方法是以 HPLC 方法公告，雖然埼玉縣衛生研究所常規進行檢驗多用 LC/MS/MS，但偵測極限仍依公告之 HPLC 方法。目前常規進行檢驗

多用 LC/MS/MS，厚生勞動省公告方法仍無以 LC/MS/MS 方法公告的規劃，主因在於地方政府檢驗單位經費受限，無法購置 LC/MS/MS 等精密檢測儀器，公告方法為全國統一的檢驗方法，所以必須有所考量。

6. 日本目前不考慮用歐盟的 $CC\alpha$ 、 $CC\beta$ 進行 validation 管控，而是依照 Codex 的規範。日本對於不同實驗室的管理並不依照歐盟規範 (MRPL ; Minimum Required Performance Limit)，而是依照厚生勞動省參考 Codex 所建立的規範，要求實驗室進行自主管理。
7. 目前埼玉縣衛生研究所每次進行檢驗時必須作一次標準曲線，共作 4 點，包括 10 ppb、50 ppb、100 ppb 及 200 ppb。在理想狀態下，當 $S/N=10$ 則以此時的濃度作為 LOQ，當 $S/N=3$ 則以此時的濃度作為 LOD。
8. 此次研習將教授日本公告方法 1 及公告方法 3，可分別檢測出約 60 種及 18 種動物用抗生物質。

最後堀江博士帶領我們大家參觀各個實驗室，如圖十一~十二介紹衛生研究所的設施，並一一請各實驗室負責同仁對我們進行簡要的業務說明。



所長	┌	副所長	┐	—————	—	總務担当
			└	— 室 長 —	—	企画担当
			└	—————	—	地域保健・支援担当
	└	副所長	┐	— 室 長 —	—	感染症疫学情報担当
			└	— 室 長 —	—	ウイルス担当
			└	—————	—	臨床微生物担当
	└	副所長	┐	— 室 長 —	—	食品媒介感染症担当
			└	— 室 長 —	—	生体影響担当
			└	—————	—	薬品担当
			└	— 室 長 —	—	水・食品担当
			└	深谷支所長	┐	感染症担当
					└	衛生科学担当

圖十、埼玉縣衛生研究所組織編制。

資料來源：日本埼玉縣政府網頁（http://www.pref.saitama.lg.jp/ken/ken_04/02.html）

	
<p>堀江博士為我們詳細說明衛生研究所的業務狀況</p>	<p>堀江博士實驗室檢體處理操作區</p>
	
<p>真空濃縮機</p>	<p>真空濃縮機</p>
	
<p>HPLC 分析室</p>	<p>UPLC 分析室</p>

圖十一、埼玉縣衛生研究所水・食品擔當部。



LC/MS/MS 分析室



LC/MS/MS 分析室



GC/MS 分析室



GC/MS 分析室



GC/MS 分析室



水質分析室

圖十二、埼玉縣衛生研究所水・食品擔當部。

三、日期：11 月 7 日(星期三)

地點：日本埼玉縣衛生研究所

指導者：堀江正一博士

教授內容：Beta-lactame antibiotic LC/MS/MS 分析（日本公定法--方法 3）

使用機型：Waters Quattro micro API

LC 條件：

流速：0.2 mL/min

進行條件設定使用之管柱：Waters Atlantis 2.1 × 100 mm；3 μm；40 °C

移動相 A：B：C：D=60：30：0：10（%）

檢體分析使用之管柱：L-column ODS 2.1 × 100 mm；3 μm；40 °C

移動相：A：HPLC grade water

B：MeCN (ACN)

C：0.1 % CH₃COOH

D：0.1 % HCOOH (formic acid)

移動相梯度：

Time	A %	B %	C %	D %	Flow (mL/min)
0	90	5	0	5	0.2
1	90	5	0	5	0.2
15	15	80	0	5	0.2
20	90	5	0	5	0.2
32	90	5	0	5	0.2

（一）Beta- lactame antibiotic MS/MS 條件設定：

1. 配製標準品 10 ppm amoxicillin 及 10 ppm ampicillin。

→取 10 μL 之溶於 100 % MeOH 的 1000 ppm 標準品+ 980 μL 之 10 % MeOH。

2. 先不接分離管柱，使用連接管將 LC 與 MS/MS 連接，進行條件測試。

3. 進行母離子設定：

→設定 mass range：100~400。

- 使用不同的 cone voltage : 10 , 20 , 30 , 40 v (每分析一次換一個 conc voltage 設定值 , 共進行 4 次) 。
- 正離子模式與負離子模式均要測試。
- 分別完成 amoxicillin 及 ampicillin 的條件測試。

4. 進行子離子設定：使用 MRM 模式

- 設定母離子，依照步驟 3 所得到的母離子結果進行母離子設定。
amoxicillin (365.8) 及 ampicillin (349.8)
- 使用不同的 collision voltage : 10 , 20 , 30 , 40 eV (每分析一次換一個 collision voltage 設定值 , 共進行 4 次) 。
- 分別完成 amoxicillin 及 ampicillin 的子離子條件測試。

(二) 進行牛奶樣品萃取 (M. Hori, J Chromatogr A. 1998; 812: 295-302) :

1. 空白樣品及添加樣品各秤 5 克(添加 5 ppm 混合標準品 200 μ L , 使添加樣品中標準品濃度為 1 μ g / 5 g) 。
2. 各加入 100 mL 之萃取液 0.3 % metaphosphoric acid-MeOH (7 : 3,v/v) 進行萃取。
3. 進行均質 1 min 。
4. 進行過濾：
 - 使用過濾漏斗，放一片 3M 濾紙。
 - 取約 3 克之 Hyflo Super Cel 及 30 mL 之 10 % MeOH，攪拌均勻。
 - 倒進漏斗濾紙上，用水流抽氣進行抽氣，去除廢液。
 - 分別取約 3 克之 Hyflo Super Cel 到 100 mL 之空白樣品均質液，攪拌均勻。
 - 先將空白樣品均質液與 Hyflo Super Cel 混合物倒入漏斗濾紙上，並用圓形萃取瓶收集濾液。
 - 將濾液進行真空濃縮。
 - 將濾紙取出丟掉，裝入新的濾紙。
 - 取約 3 克之 Hyflo Super Cel 及 30 mL 之 10 % MeOH，攪拌均勻。
 - 倒進漏斗濾紙上，用水流抽氣進行抽氣，去除廢液。

- 分別取約 3 克之 Hyflo Super Cel 到 100 mL 之添加樣品均質液，攪拌均勻。
 - 先將添加樣品均質液與 Hyflo Super Cel 混合物倒入漏斗濾紙上，並用圓形萃取瓶收集濾液。
 - 在 45 °C 下將空白樣品及添加樣品濾液分別進行真空濃縮至體積約 20 mL。
Hyflo Super Cel 的功用主要是去除雜質及油脂，所以不需要進行 n-hexane 脫脂步驟。
5. 進行淨化
- 將 OASIS HLB 6 CC 淨化萃取管柱先以 6 mL 之 MeOH 活化，再以 6 mL 之 HPLC 等級的水清洗。
 - 將萃取液倒入淨化萃取管柱中（接上一個連接管，流速約 10 mL/min）。
 - 真空抽氣。
 - 加入約 6 mL HPLC 等級的水進行沖洗。
 - 取出廢液瓶，換上小的圓形萃取瓶。
 - 加入 6 mL MeOH 進行收集淨化液。
 - 取出小圓底瓶進行真空濃縮至乾。
6. 加入 2.5 mL 之 10% MeOH 回溶成檢液（添加樣品檢液最終濃度為 0.4 µg/mL）。
- 邊搖晃邊超音波震盪約 1 min
7. 空白樣品及添加樣品檢液分別取出 1 mL 裝入分析瓶，進行 LC/MS/MS 分析。
8. 食品基質影響 (matrix effect) 分析
- 取 900 µL 之空白樣品檢液加入 100 µL 之 5 ppm 混合標準品(檢液最終濃度為 0.5 µg/mL)。
 - 取 900 µL 之 10% MeOH 加入 100 µL 之 5 ppm 混合標準品。
 - 進行 LC/MS/MS 分析。
9. 標準曲線分析
- 混合標準品 0.05 ppm，0.1 ppm，1.0 ppm 分別取出 1 mL 至裝入分析瓶。
 - 進行 LC/MS/MS 分析。

附註：

1. 此萃取方法可適用四環黴素類 (TCs)、巨環類抗生素(MacroLides)、氯黴素 (CAP)、甲磺氯黴素 (TAP)、氟甲磺氯黴素 (FF)。
2. 適用的食品基質可包括肉、肝臟及腎臟。

(三) 分析結果：

1. Beta- lactame antibiotic MS/MS 條件設定:以 amoxicillin 及 ampicillin 為例進行母離子與子離子設定結果如附件一。Ampicillin 的母離子為 349.8，conc voltage 較佳條件為 20 V，collision voltage 較佳條件為 20 eV。Amoxicillin 的母離子為 365.8，conc voltage 較佳條件為 20 V，collision voltage 較佳條件為 10 eV。若要找出最佳條件可再進行微調，因為研習時間有限，進行 LC/MS/MS 分析時乃是以堀江博士實驗室已建立好的分析條件進行分析，如表七。
2. 混合標準品標準曲線分析結果：經由計算軟體分別計算混合標準品中 18 種抗生物質(36 個子離子)之標準曲線及線性迴歸關係，結果顯示均呈現良好的線性關係($r^2 > 0.995$)，如表八。
3. 食品基質影響 (matrix effect)、空白樣品及添加樣品分析結果：經由計算軟體計算食品基質影響分析標準品中 18 種抗生物質(36 個子離子)之濃度，結果顯示並無食品基質影響，如表九。空白樣品中並未檢測出 18 種抗生物質中任何 1 個，如表九。添加樣品中除 cefquinome、benzylpenicill 及 nafcillin 外，其餘 15 種抗生物質之回收率約 60~100 %，如表九。經詢問堀江博士後，才得知此一結果是堀江博士於本日研習課程中設計的伏筆，因為此 3 種抗生物質結構不耐酸，因此當萃取完成後 (pH 值約 3) 可用鹼性溶液進行 pH 值調整，使整體 pH 值不致太酸，而能偵測到這 3 種抗生物質。
4. 本次分析主要是利用 Waters Quattro micro API 之 LC/MS/MS 機型進行分析，經詢問堀江博士本方法檢測之定量極限 (LOQ)及偵測極限 (LOD)，堀江博士表示主要參考所使用的儀器機型，在埼玉縣衛生研究所所使用的機型包括 Waters Quattro micro API 及 Applied Biosystems API 4000，由於 Applied Biosystems API 4000 的機型感度較高，故主要用於檢測較低含量物質，而 2

種機型的 LOQ 及 LOD 如后：

	LOQ	LOD 約 = 1/3 LOQ
Applied Biosystems API 4000	1 ppb	0.3~0.5 ppb
Waters Quattro micro API	1-5 ppb	0.3~2.5 ppb
	S/N= 10	S/N= 3

表七、Beta- lactame 抗生素 MS/MS 分析條件

	Antibiotic		Mw	ESI	Monitor ion	Cone En (V)	Colli En (eV)
1	Amoxicillin	AMPC	365.40	+	365.8 > 207.8 365.8 > 113.8	20	15 25
2	Ampicillin	ABPC	349.40	+	349.8 > 191.9 349.8 > 105.8	20	20 20
3	Aspoxicillin	ASPC	493.53	+	493.9 > 348.8 493.9 > 249.9	30	20 20
4	Mecillinum	MPC	325.43	+	326 > 167 326 > 139	30	15 25
5	Cefalexin	CEX	347.39	+	347.8 > 173.8 347.8 > 157.8	20	15 15
6	Cefzolin	CEZ	454.51	+	454.8 > 322.9 454.8 > 155.7	20	15 20
7	Cefapirin Na	CEPR	423.47	+	423.7 > 291.8 423.7 > 151.8	20	15 20
8	Cefalonium	CEN	458.52	+	458.7 > 336.8 458.7 > 151.8	20	10 20
9	Cefquinome	CQN	528.60	+	528.9 > 396 528.9 > 133.9	20	15 20
10	Ceftiofur	CFT	523.56	+	523.7 > 284.8 523.7 > 240.8	30	20 20
11	Benzylpenicill	PCG	334.39	-	332.7 > 288.8 332.7 > 191.8	20	10 10
12	Cloxacillin	CX	435.88	-	433.8 > 389.7 433.8 > 292.8	20	10 15
13	Dicloxacillin	DCX	470.33	-	467.7 > 423.7 467.7 > 326.7	20	10 15
14	Nafcillin	NFPC	414.47	-	412.7 > 242.8 412.7 > 271.9	15	25 15
15	Oxacillin	OXPC	401.44	-	399.8 > 355.9 399.8 > 258.8	15	10 15
16	Penicillin V	PCV	350.39	-	348.8 > 207.8 348.8 > 92.7	10	10 35
17	Cefoperazone	CEP	645.68	-	643.8 > 527.9 643.8 > 188	20	10 20
18	Cefuroxime	CXM	424.39	-	422.6 > 317.5 422.6 > 206.9	10	10 15

資料來源：日本埼玉縣衛生研究所堀江正一博士。

表八、Beta- lactame 抗生素標準品標準曲線分析

	Antibiotic	Monitor Ion	Peak Area			RSQ
			0.05 ppm	0.1 ppm	1.0 ppm	
1	Amoxicillin	365.8 > 207.8	1576	2946	12222	0.9949
		365.8 > 113.8	2973	5425	22875	0.9956
2	Ampicillin	349.8 > 191.9	1946	3762	17005	0.9959
		349.8 > 105.9	7471	14723	68477	0.9961
3	Aspoxicillin	493.9 > 348.8	1050	2065	10291	0.9971
		493.9 > 249.9	2500	4996	24794	0.9969
4	Mecillinum	326 > 167	39694	74926	335752	0.9961
		326 > 139	4808	9500	42290	0.9953
5	Cefalexin	347.8 > 173.8	3244	6621	31133	0.9959
		347.8 > 157.8	4860	9617	45412	0.9963
6	Cefzolin	454.8 > 322.9	759	1518	7897	0.9975
		454.8 > 155.7	644	1315	6592	0.9968
7	Cefapirin Na	423.7 > 291.8	8274	16291	75495	0.9961
		423.7 > 151.8	3406	7351	34221	0.9949
8	Cefalonium	458.7 > 336.8	2573	5416	27064	0.9965
		458.7 > 151.8	1916	4026	20555	0.9968
9	Cefquinome	528.9 > 396	75	169	972	0.9976
		528.9 > 396	422	752	4671	0.9995
10	Ceftiofur	523.7 > 284.8	2076	3870	17885	0.9968
		523.7 > 240.8	5864	11516	54450	0.9964
11	Benzylpenicill	332.7 > 288.8	363	722	3261	0.9955
		332.7 > 191.9	1347	2653	11064	0.9940
12	Cloxacillin	433.8 > 389.7	602	1165	5073	0.9952
		433.8 > 292.8	1908	3760	15342	0.9935
13	Dicloxacillin	467.7 > 423.7	713	1299	5188	0.9945
		467.7 > 326.7	1561	3041	12244	0.9934
14	Nafcillin	412.7 > 271.9	3837	7843	31481	0.9923
		412.7 > 242.8	1418	2711	11318	0.9946
15	Oxacillin	399.8 > 355.9	131	276	925	0.9843
		399.8 > 258.8	3300	6336	25283	0.9935
16	Penicillin V	348.8 > 207.8	3605	7307	29543	0.9927
		348.8 > 92.7	1444	2881	11840	0.9934
17	Cefoperazone	643.8 > 527.9	335	575	2683	0.9979
		643.8 > 188	341	738	3387	0.9946
18	Cefuroxime	422.6 > 317.5	705	1489	6147	0.9925
		422.6 > 206.9	644	1182	5199	0.9962

表九、Beta- lactame 抗生素--空白樣品及添加樣品回收率分析結果

	Monitor Ion	Blank Sample Conc.(ppb)	Spiked Sample (0.4 µg/mL) Conc.(ppb)	Matrix Effect (0.5 µg/mL) Conc.(ppb)	Recovery (%)
1	Amoxicillin	365.8 > 207.8	0	249.35	52.57
		365.8 > 113.8	0	250.44	54.10
2	Ampicillin	349.8 > 191.9	0	286.69	76.37
		349.8 > 105.9	0	282.07	76.73
3	Aspoxicillin	493.9 > 348.8	0	256.65	70.51
		493.9 > 249.9	0	258.48	70.98
4	Mecillinum	326 > 167	0	304.80	77.87
		326 > 139	0	299.10	75.25
5	Cefalexin	347.8 > 173.8	0	321.96	90.90
		347.8 > 157.8	0	298.00	82.76
6	Cefzolin	454.8 > 322.9	0	351.55	85.75
		454.8 > 155.7	0	349.18	84.79
7	Cefapirin Na	423.7 > 291.8	0	287.04	76.79
		423.7 > 151.8	0	283.42	76.84
8	Cefalonium	458.7 > 336.8	0	415.24	131.11
		458.7 > 151.8	0	398.20	124.34
9	Cefquinome	528.9 > 396	0	66.46	422.18
		528.9 > 396	0	59.27	424.23
10	Ceftiofur	523.7 > 284.8	0	262.02	72.36
		523.7 > 240.8	0	271.72	76.41
11	Benzylpenicill	332.7 > 288.8	0	0	276.08
		332.7 > 191.9	0	0	293.93
12	Cloxacillin	433.8 > 389.7	0	241.62	72.54
		433.8 > 292.8	0	236.63	68.32
13	Dicloxacillin	467.7 > 423.7	0	218.71	58.22
		467.7 > 326.7	0	239.57	64.11
14	Nafcillin	412.7 > 271.9	0	18.69	386.30
		412.7 > 242.8	0	29.07	372.89
15	Oxacillin	399.8 > 355.9	0	168.79	52.67
		399.8 > 258.8	0	193.42	58.27
16	Penicillin V	348.8 > 207.8	0	263.76	73.44
		348.8 > 92.7	0	259.63	74.43
17	Cefoperazone	643.8 > 527.9	0	277.11	102.27
		643.8 > 188	0	313.40	113.58
18	Cefuroxime	422.6 > 317.5	0	251.68	99.88
		422.6 > 206.9	0	248.70	92.16

四、日期：11 月 8 日(星期四)

地點：日本埼玉縣衛生研究所

指導者：堀江正一博士

教授內容：斥水性抗生物質 (hydrophobic antibiotic) LC/MS/MS 分析 (日本公定法—方法 1)

使用機型：Waters Quattro micro API

LC 條件：

流速：0.2 mL/min

檢體分析使用之管柱：L-column ODS 2.1×100 mm；3 μm，40 °C

移動相： A：HPLC grade water

B：MeCN (ACN)

C：0.1 % CH₃COOH

D：0.1 % HCOOH (formic acid)

移動相梯度：

Time	A %	B %	C %	D %	Flow(mL/min)
0	85	5	0	10	0.2
1	85	5	0	10	0.2
15	10	80	0	10	0.2
20	85	5	0	10	0.2
33	85	5	0	10	0.2

(一) 進行牛肉樣品萃取 (日本公定法--方法 1)：此萃取方法可適用斥水性 (hydrophobic)的抗生素。

1. 取出冷凍肉塊用菜刀切成小肉塊，各秤約 5 克。
2. 空白樣品與添加樣品(添加 1 ppm 混合標準品 200 μL，使添加樣品內標準品濃度為 0.04 μg/ g)
3. 各加入乙月青 (acetonitrile) 30 mL 至空白樣品與添加樣品，再加入約 10 克之 anhydrous sodium sulfate。

4. 進行均質 約 1~2 min。
5. 進行離心，3000 rpm ； 5 min。
6. 先將空白樣品與添加樣品的上清液倒入圓形萃取瓶。
7. 圓形萃取瓶上先裝上過濾漏斗，漏斗入口中裝些許玻璃棉 (glass fiber)。
8. 再用 10 mL 之 n-propanol(或 2-propanol)沖洗漏斗。
9. 將濾液進行真空濃縮， = <40 °C，至乾。
10. 再加 1 mL 之 n-propanol(2-propanol)至圓形萃取瓶沖洗。
11. 再進行真空濃縮至乾。
12. 加入 2 mL 之 acetonitrile/water (4 : 6) 回溶(resuspend)。
13. 再加入 1 mL 之 acetonitrile saturated hexane(3 mL 之 acetonitril + 10 mL 之 hexane)。
14. 邊搖晃邊超音波震盪約 3 min。
15. 將濾液進行真空濃縮。
16. 將濾液倒入塑膠尖頭離心管。
17. 進行離心 3000 rpm， 5 min。
18. 用玻璃細頭吸管吸取下層液 1 mL，倒入小圓形萃取瓶。
19. 進行真空濃縮至乾。
20. 加 1 mL 之 20 % MeOH 回溶 (檢液濃度為 0.2 ppm)。在日本公定法—方法 1 中，原本使用 ACN/MeOH (4 : 6) 進行回溶，堀江博士表示他們發現，因後續研究發現結果之波峰(peak)較寬，所以後來改用 20 % MeOH 可以使得波峰圖形較佳。
21. 取出空白樣品檢液及添加樣品檢液 1 mL 裝入分析瓶。
22. 進行 LC/MS/MS 分析。

(二) 混合標準品標準曲線分析：

1. 配製混合標準品 0.01 ppm，0.05 ppm 0.1 ppm，0.2 ppm。
2. 0.01 ppm、0.05 ppm 及 0.1 ppm 用 20 % MeOH 稀釋。
3. 0.2 ppm 用 0.2 mL 之 HPLC 等級的水 + 0.8 mL 之 1 ppm 混合標準品，稀釋至最終濃度為 20 % MeOH。

4. 進行 LC/MS/MS 分析。

(三) 分析結果：

1. 因為時間因素，則未進行 MS/MS 條件之設定，而是依照堀江博士實驗室已建立好的分析條件進行分析，如表十。
2. 混合標準品標準曲線分析：經由軟體計算各化合物標準品之不同濃度間定量離子的線性關係，如表十一，結果顯示 64 種標準品均具有良好之線性關係 ($r^2 > 0.99$)。
3. 空白樣品及添加樣品分析：經由計算軟體分析空白樣品中除部份抗生物質外，其餘均未檢測出，如表十二。添加樣品中除 Erythromycin A、Kitasamyin A5、Tylosin A、Neospiramycin、Spiramycin、Sulfabenzamide 及 Sulfaguanidine 外，其餘抗生物質之回收率約 60~100%，如表十二。經與堀江博士討論後，可能之原因也許要再確認是否為這幾種抗生物質標準品是否發生變化，若是用新配之標準品不會發生此種現象，則表示此批標準品發生變化，應改用新的標準品。

表十、斥水性抗生素 MS/MS 分析條件

	Coumpnd	Mw	ESI+	Cone (V)	Ion-1	Ion-2	CE-1 (eV)	CE-2 (eV)
1	5-(propylsulphonyl)-1-H-benzi midzaole-2-amine	290	240.1	30	133	198	30	20
2	Lincomycin	406.54	407.2	30	126	359	25	20
3	Thiabendazole-5-OH(TBZ-M)	217.25	218.0	45	147.1	191	30	30
4	Trimethoprim(TMP)	290.32	291.1	40	230	123	30	40
5	Marbofloxacin	362.36	362.8	30	71.8	319.8	20	20
6	Ormethoprim(OMP)	274.32	275.1	40	259.1	123	30	30
7	Sulfadiazine(SDZ)	250.28	251.0	30	156	92	20	30
8	Norfloxacin	319.34	319.9	30	276	301.9	20	20
9	Vebufloxacin	359.40	359.9	30	316	259	20	30
10	Ofloxacin(OFLX)	361.38	361.8	30	317.7	260.8	20	30
11	Clopidol(CLP)	192.06	192	40	86.9	100.9	30	30
12	Ciprofloxacin	331.35	332	30	287.9	313.9	20	20
13	Thiabendazole	201.25	202.0	45	175	131	30	30
14	Pyrimethamine	248.71	248.9	50	176.8	232.9	30	30
15	Sulfapyridine(SPD)	249.29	250.0	30	156	92	20	30
16	Sulfathiazole(STZ)	255.32	256.0	30	156	92	20	30
17	Sulfamerazine(SMR)	264.30	265.0	30	156	92	20	30
18	Danfloxacin(DNFX)	357.38	357.8	30	339.9	313.8	20	20
19	Enrofloxacin(ERFX)	359.40	360.1	30	316	245	20	30
20	Sarafloxacin(SRFX)	385.37	385.8	35	341.7	367.6	20	30
21	Sparfloxacin	392.40	392.9	40	349	292	20	30
22	Orbifloxacin	395.38	395.8	30	351.9	377.8	20	20
23	Difloxacin	399.39	399.9	30	355.8	298.8	20	30
24	Sulfisozole	239.25	239.80	25	156	92	10	20
25	Sulfamethoxazole(SMXZ)	253.31	254.0	30	156	92	30	30
26	Sulfatroxazol	267.30	268.0	30	156	92	20	30
27	Sulfadimidine(SDD)	278.32	279.0	30	186	92	20	30
28	Sulfamethoxypridiazine(SM)	280.30	281.0	30	156	92	20	30
29	Sulfamonomethoxine(SMMX)	280.30	281.0	30	156	92	20	30
30	Sulfachlorpyridazine(SCPD)	284.74	284.9	30	156	92	20	30
31	Sulfadoxine(SDOX)	284.74	284.9	30	156	92	20	30
32	Sulfamoidapstone	327.39	327.8	20	310.7	107.9	10	20
33	Halofuginone	414.69	415.5	20	397.7	138.1	10	20
34	Timicosin	869.15	435.4	20	174	143	30	30
35	tiamulin	493.74	494.3	30	191.9	118.8	25	40
36	Oleandomycin	687.87	688.4	20	158	544	30	20
37	Erythromycin A	733.94	733.4	30	158.2	576.1	40	20
38	Kitasamyin A5	771.94	772.4	45	108.8	174	40	40
39	Tylosin A	916.11	916.4	40	174	711.7	40	40
40	Nalidixic acid (NA)	232.23	232.9	20	186.9	214.9	20	30
41	Ethopabate(ETB)	237.25	238.0	30	135.8	205.9	10	30
42	Flumequine	261.26	261.9	30	201.9	243.9	20	20
43	Oxolinic acid(OXA)	261.24	261.9	30	135.8	205.9	10	30
44	Mebendazol	295.30	295.8	30	104.8	263.8	20	4
45	Sulfaquinolaxaline(SQX)	300.33	301.0	30	92	156	20	40

(接續下頁)

(承上頁)

	Coumpound	Mw	ESI+	Cone (V)	Ion-1	Ion-2	CE-1 (eV)	CE-2 (eV)
46	Sulfadimethoxine(SDMX)	310.33	310.9	40	92	156	20	30
47	Flubendazole	313.29	314.1	40	123	282	20	30
48	Sulfabromomethazine	357.22	359.0	30	156	265.7	20	20
49	Levamisol	204.30	205.1	35	90.9	178	30	20
50	6- α - methylprednisolone	374.48	374.9	20	161	356.9	10	30
51	Dexamethason	392.47	392.9	20	355.2	372.8	10	15
52	Josamycin	828.02	828.4	50	600	174	40	30
53	Lenamisol	240.75	205	35	178	90	20	30
54	Pyrantel	398.43	206.9	40	150	135.7	25	30
55	Morantel	412.46	220.9	30	164	145	30	30
56	Clenbuterol	313.65	276.8	20	202.8	---	20	---
57	Neospiramycin	698.88	350.2	20	174	---	20	---
58	Spiramycin	843.07	422.3	20	174	---	20	---
59	Mirosamicin	727.90	728.4	40	158	---	30	---
60	a-Trenbolone	270.37	271.1	50	199	---	30	---
61	b-Trenbolone	270.37	271.1	50	199	---	30	---
62	Sulfabenzamide	276.31	277	30	156	---	30	---
63	Prednisolone (21-acetate)	360.44	361	20	342.9	---	10	---
64	Sulfaguanidine	214.24	214.8	20	156	92	20	30

資料來源：日本埼玉縣衛生研究所堀江正一博士。

表十一、斥水性抗生物質(hydrophobic antibiotic)之標準品分析結果

	Compound	Monitor Ion	Area of mix STD at conc. (ppm)				RSQ(r ²)
			0.2	0.1	0.05	0.01	
1	5-(propylsulphonyl)-1-H-benzimidazole-2-amine	240.1>133	27963	13915	7082	1410	1.0000
2	Lincomycin	407.2>126	41507	20661	10540	2176	1.0000
3	Thiabendazole-5-OH(TBZ-M)	218>147.1	9978	5169	2501	502	0.9995
4	Trimethoprim(TMP)	291>230	8532	4272	2258	503	0.9999
5	Marbofloxacin	362.8>72	25912	11697	6120	942	0.9976
6	Ormethoprim(OMP)	275.1>259.1	22089	12258	6735	678	0.9914
7	Sulfadiazine(SDZ)	251>156	4955	2449	1297	290	0.9998
8	Norfloxacin	319.9>276	6881	2814	1522	193	0.9917
9	Vebufloxacin	359.9>316	17284	8104	3646	574	0.9990
10	Ofloxacin(OFLX)	361.8>317.7	31000	13517	7572	1211	0.9949
11	Clopidol(CLP)	192>86.9	2126	1038	474	184	0.9959
12	Ciprofloxacin	332>287.9	5413	2386	1343	94	0.9959
13	Thiabendazole	202>175	13996	6386	3188	758	0.9971
14	Pyrimethamine	248.9>176.8	23785	12059	5750	1276	0.9997
15	Sulfapyridine(SPD)	250>156	8815	4757	2384	467	0.9980
16	Sulfathiazole(STZ)	256>156	5473	2701	1373	284	0.9999
17	Sulfamerazine(SMR)	265>156	9381	4434	2340	529	0.9987
18	Danfloxacin(DNFX)	357.8>339.9	3647	1726	933	105	0.9987
19	Enrofloxacin(ERFX)	359.9>316	56413	23472	12082	574	0.9948
20	Sarafloxacin(SRFX)	385.8>341.7	12639	6051	3059	454	0.9997
21	Sparfloxacin	392.9>349	6164	3000	1501	245	0.9999
22	Orbifloxacin	395.8>351.9	6764	3566	1956	380	0.9983
23	Difloxacin	399.9>355.8	21107	9400	4906	848	0.9968
24	Sulfisozole	239.8>156	3904	1704	1018	226	0.9927
25	Sulfamethoxazole(SMXZ)	254>156	7736	3999	2763	443	0.9862
26	Sulfatroxazol	268>156	14457	8203	4101	741	0.9939
27	Sulfadimidine(SDD)	279>186	15246	7684	3897	727	0.9999
28	Sulfamethoxy pyridiazine(SM)	281>156	18754	9543	4736	939	0.9999
29	Sulfamonomethoxine(SMMX)	281>156	14085	7244	3808	774	0.9996
30	Sulfachlorpyridiazine(SCPD)	284.9>156	8440	4197	2023	462	0.9998
31	Sulfadoxine(SDOX)	310.9>156	29900	15120	7229	1480	0.9998
32	Sulfamoildapsone	327.8>310.7	8624	4404	2556	890	0.9994
33	Halofuginone	415.5>397.7	4556	2376	1223	336	0.9999
34	Timicosin	435.4>174	2915	1212	474	42	0.9933
35	Tiamulin	494.3>191.9	80141	38254	19365	3840	0.9994
36	Oleandomycin	688.4>158	26542	13084	6269	1887	0.9988

(接續下頁)

(承上頁)

		Area of mix STD at conc(ppm)					
	Coumpnd	Monitor Ion	0.2	0.1	0.05	0.01	RSQ(r ²)
37	Erythromycin A	733.4>158.2	26739	12751	6653	1436	0.9991
38	Kitasamyin A5	772.4>108.8	18896	9550	4873	1007	1.0000
39	Tylosin A	916.4>174	18171	8935	4691	968	0.9998
40	Nalidixic acid (NA)	232.9>214.9	22112	11291	5923	1254	0.9998
41	Ethopabate(ETB)	238>205.9	7904	3534	1692	325	0.9968
42	Flumequine	261.9>243.9	34251	17378	8646	2017	0.9999
43	Oxolinic acid(OXA)	261.9>243.9	38281	19546	10424	2116	0.9996
44	Mebendazol	295.8>263.8	100000	59880	31540	6335	0.9877
45	Sulfaquinoxaline(SQX)	301>156	13632	6936	3520	745	0.9999
46	Sulfadimethoxine(SDMX)	310.9>156	41603	21156	10966	2185	0.9998
47	Flubendazole	314.1>282	59399	30073	15263	3052	0.9999
48	Sulfabromomethazine	359>156	5822	2999	1382	274	0.9993
49	Hydrocortisone	362.9>120.8	2211	1117	577	129	1.0000
50	6- α - methylprednisolone	374.9>356.9	5081	2510	1386	258	0.9991
51	Dexamethason	392.9>372.8	2253	1233	587	136	0.9975
52	Josamycin	828.4>174	41891	21438	10283	2167	0.9997
53	Lenamisol	205>178	24735	11990	6058	1149	0.9998
54	Pyrantel	206.9>150	6528	3732	1929	445	0.9945
55	Morantel	220.9>164	3352	2028	980	226	0.9875
56	Clenbuterol	276.8>202.8	19740	10296	5323	1148	0.9995
57	Neospiramycin	350.2>174	5574	2092	959	111	0.9855
58	Spiramycin	422.3>174	5015	2200	780	84	0.9944
59	Mirosamicin	728.4>158	66226	31781	16063	2593	0.9997
60	a-Trenbolone	271.1>199	1298	653	347	78	0.9999
61	b-Trenbolone	271.1>199	1025	598	323	80	0.9928
62	Sulfabenzamide	277>156	14272	7113	3564	686	1.0000
63	Prednisolone(21-acetate)	361>342.9	3775	2098	1078	255	0.9970
64	Sulfaguanidine	214.8>156	4032	2019	989	229	0.9999

表十二、斥水性抗生物質--空白樣品及添加樣品之 LC/MS/MS 分析結果

	Compound	Monitor Ion	Conc. (ppb)		Recovery (%)
			Blank Sample	Spiked Sample (200 ppb)	
1	5-(propylsulphonyl)-1-H-benzimidazole-2-amine	240.1>133	0	178.81	89
2	Lincomycin	407.2>126	0	151.36	76
3	Thiabendazole-5-OH(TBZ-M)	218>147.1	0	179.93	90
4	Trimethoprim(TMP)	291>230	0	193.10	97
5	Marbofloxacin	362.8>72	3.13	197.03	99
6	Ormethoprim(OMP)	275.1>259.1	0	153.57	77
7	Sulfadiazine(SDZ)	251>156	0	123.67	62
8	Norfloxacin	319.9>276	0	206.04	103
9	Vebufloxacin	359.9>316	4.28	246.98	123
10	Ofloxacin(OFLX)	361.8>317.7	0	224.94	112
11	Clopidol(CLP)	192>86.9	0	165.43	83
12	Ciprofloxacin	332>287.9	0	224.36	112
13	Thiabendazole	202>175	0	212.38	106
14	Pyrimethamine	248.9>176.8	0.06	169.86	85
15	Sulfapyridine(SPD)	250>156	0	125.26	63
16	Sulfathiazole(STZ)	256>156	0	108.21	54
17	Sulfamerazine(SMR)	265>156	0.76	129.83	65
18	Danfloxacin(DNFX)	357.8>339.9	3.78	308.09	154
19	Enrofloxacin(ERFX)	359.9>316	6.91	202.83	101
20	Sarafloxacin(SRFX)	385.8>341.7	2.27	218.76	109
21	Sparfloxacin	392.9>349	0	189.10	95
22	Orbifloxacin	395.8>351.9	0	208.75	104
23	Difloxacin	399.9>355.8	0	225.48	113
24	Sulfisozole	239.8>156	0	141.15	71
25	Sulfamethoxazole(SMXZ)	254>156	0	177.61	89
26	Sulfatroxazol	268>156	0	160.39	80
27	Sulfadimidine(SDD)	279>186	0.14	109.12	55
28	Sulfamethoxy pyridiazine(SM)	281>156	0	120.95	60
29	Sulfamonomethoxine (SMMX)	281>156	0	130.67	65
30	Sulfachlorpyridiazine(SCPD)	284.9>156	0	139.57	70
31	Sulfadoxine(SDOX)	310.9>156	0.56	129.42	65
32	Sulfamoildapsone	327.8>310.7	0	177.01	89
33	Halofuginone	415.5>397.7	0	155.24	78
34	Timicosin	435.4>174	0	187.99	94
35	Tiamulin	494.3>191.9	1.22	192.65	96

(接續下頁)

(承上頁)

		Conc. (ppb)			
	Coumpond	Monitor Ion	Blank Sample	Spiked Sample (200 ppb)	Recovery (%)
36	Oleandomycin	688.4>158	0	169.86	85
37	Erythromycin A	733.4>158.2	0	72.86	36
38	Kitasamyin A5	772.4>108.8	0	65.12	33
39	Tylosin A	916.4>174	0	79.34	40
40	Nalidixic acid (NA)	232.9>214.9	0	199.64	100
41	Ethopabate(ETB)	238>205.9	3.96	220.39	110
42	Flumequine	261.9>243.9	0	194.34	97
43	Oxolinic acid(OXA)	261.9>243.9	0	170.41	85
44	Mebendazol	295.8>263.8	0	199.45	100
45	Sulfaquinoxaline(SQX)	301>156	0	146.88	73
46	Sulfadimethoxine(SDMX)	310.9>156	0	154.20	77
47	Flubendazole	314.1>282	0	195.55	98
48	Sulfabromomethazine	359>156	0.77	144.34	72
49	Hydrocortisone	362.9>120.8	0	276.75	138
50	6- α - methylprednisolone	374.9>356.9	0	191.99	96
51	Dexamethason	392.9>372.8	0	192.71	96
52	Josamycin	828.4>174	0	141.08	71
53	Lenamisol	205>178	0	187.71	94
54	Pyrantel	206.9>150	0	152.63	76
55	Morantel	220.9>164	0	167.64	84
56	Clenbuterol	276.8>202.8	0	187.65	94
57	Neospiramycin	350.2>174	0	100.86	50
58	Spiramycin	422.3>174	0	101.94	51
59	Mirosamicin	728.4>158	1.74	158.40	79
60	a-Trenbolone	271.1>199	0	160.48	80
61	b-Trenbolone	271.1>199	0	165.57	83
62	Sulfabenzamide	277>156	0	92.11	46
63	Prednisolone(21-acetate)	361>342.9	0	201.06	101
64	Sulfaguanidine	214.8>156	0	31.64	16

五、日期：11月9日(星期五)

地點：日本埼玉縣衛生研究所

指導者：堀江正一博士

教授內容：氯黴素 (chloramphenicol) LC/MS/MS 分析(日本公定法--不得檢出之方法)

使用機型：Waters Quattro micro API

LC 條件：

流速：0.2 mL/min

檢體分析使用之管柱：Kanto chemical Mightysil RP-18 2.1×100 mm；5 μm；40 °C。

移動相 A：B：C：D= 70：25：0：5 (%)

A：HPLC grade water

B：MeCN (ACN)

C：0.1 % HCOOH (formic acid)

D：100 mM ammonium acetate

移動相條件：

Time	A %	B %	C %	D %	Flow(mL/min)
0	70	25	0	5	0.2
10	90	5	0	5	0.2

(一) 進行蜂蜜樣品萃取 (MHLW Notification No.394)：

1. 秤重空白蜂蜜樣品及添加蜂蜜樣品 5 克，添加 1 mL 之 50 ppb 氯黴素標準品，最終樣品氯黴素濃度為 50 ng/g。
 2. 加 20 mL 之 HPLC 等級的水至蜂蜜樣品中。
 3. 加入 1 mL 之 50 ng/mL 內標準品(CAP-d5)。
 4. 均質 1 min。
 5. 進行淨化。
- 將 OASIS HLB 2 CC 淨化管柱先以 6 mL 之 MeOH 活化，再以 6 mL 之 HPLC 等級的水沖洗。
- 將樣品均質液倒入淨化管柱中，接上一個連接管柱，流速約為 10 mL/min。

- 水流抽氣。
 - 加入約 5 mL 之 20 % MeOH 進行沖洗。
 - 取出廢液瓶，換上小的圓形萃取瓶。
 - 加入 6 mL 之 60 % MeOH 進行沖提，收集沖提液。
 - 取出小圓底瓶進行真空濃縮至乾。
6. 加入 1 mL 之 20 % MeOH 回溶。
 7. 邊搖晃邊超音波震盪約 1 min。
 8. 空白樣品及添加樣品之檢液取出 1 mL 裝入分析瓶。
 9. 進行 LC/MS/MS 分析。

附註：

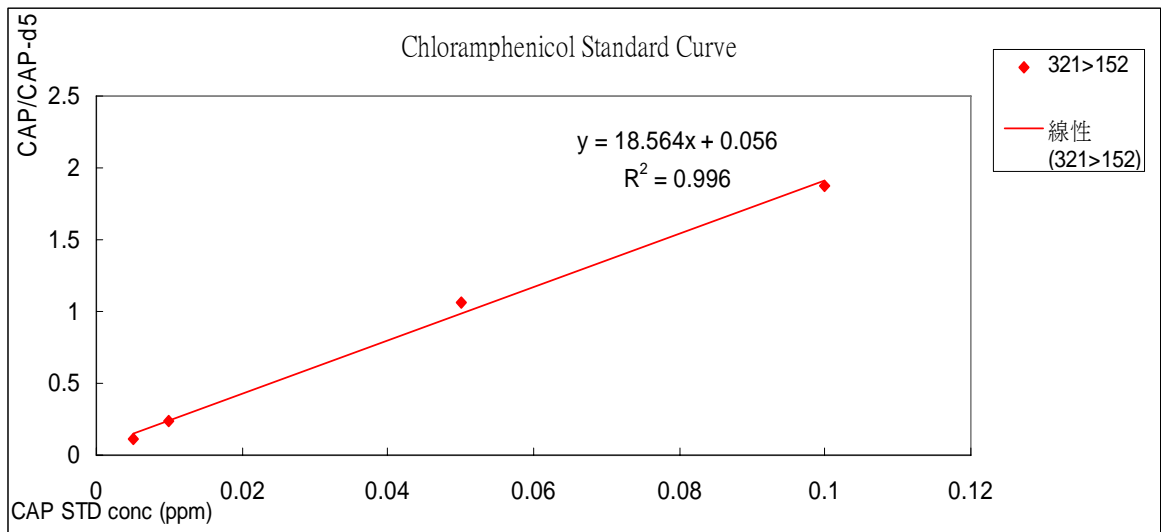
1. 此萃取方法可適用氯黴素 (CAP)、甲磺氯黴素 (TAP)及氟甲磺氯黴素 (FF)。
2. 只適用的食品基質為蜂蜜。

(二) 氯黴素標準曲線分析：

1. 先配 20 % MeOH。
2. 取 100 mL 之 20 % MeOH 加入 50 μ L 之 100 ppm CAP-d5 (最終濃度為 50 ng/mL)。
3. 再用此 50 ng/mL 之 CAP-d5/20 % MeOH 進行氯黴素標準品配製。
4. 配製氯黴素標準品 0.005 ppm、0.01 ppm、0.05 ppm 及 0.1 ppm。
5. 進行 LC/MS/MS 分析。

(三) 分析結果：

1. 標準曲線分析：經由計算所得之標準曲線如圖十三、其線性關係良好($r^2=0.996$)。
2. 空白樣品及添加樣品分析：經由 LC/MS/MS 分析結果顯示空白樣品中只出現內標準品 (CAP-d5)，回收率約為 109.90 %，氯黴素則未發現。添加樣品中之內標準品 (CAP-d5) 回收率約為 88.38 %，單從波峰面積與同一濃度之標準品 (0.05 ppm) 比較來看，回收率偏低，顯示有可能是操作過程中有損失，但若藉由內標準品進行校正後，可得到真正的回收狀況，如表十三，定量離子 152 (m/z) 的回收率可達 87.87 %。



圖十三、氯黴素分析之標準曲線圖。

表十三、氯黴素標準品、空白樣品及添加樣品之 LC/MS/MS 分析

m/z	Peak area	STD	Spiked sample	Blank	Recovery
		0.05 ppm	0.05 ppm	sample	(%)
CAP-d5	326>157	525	464	577	88.38
CAP(³⁵ Cl, ³⁷ Cl)	323>257	73	67	0	103.85
	323>152	370	329	0	100.61
CAP(³⁵ Cl, ³⁵ Cl)	321>257	268	229	0	70.03
	321>152	555	431	0	87.87

叁、心得及建議

- 一、本次赴日研習參觀橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心及埼玉縣衛生研究所過程中，除了感受到日方親切友善的接待外，亦感受到日本人士對工作態度的認真與執著。在實驗室中更讓人佩服的是雖然真空濃縮機器數十台同時運作，但卻絲毫感受不到任何有機溶劑的味道、顯示日方對於實驗室人員安全的注重。
- 二、橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心對於檢體的運送、收領、電腦條碼控管、登記、分類、送入檢體前處理區、進行檢體處理、檢體萃取、儀器分析及報告列印均規劃明確的作業流程，值得我方借鏡。
- 三、相對於橫濱檢疫所輸入食品檢疫檢查中心及埼玉縣衛生研究所的檢驗儀器設備，建議應逐年編列預算添購補足相關液相串聯質譜儀等設備。

肆、誌謝

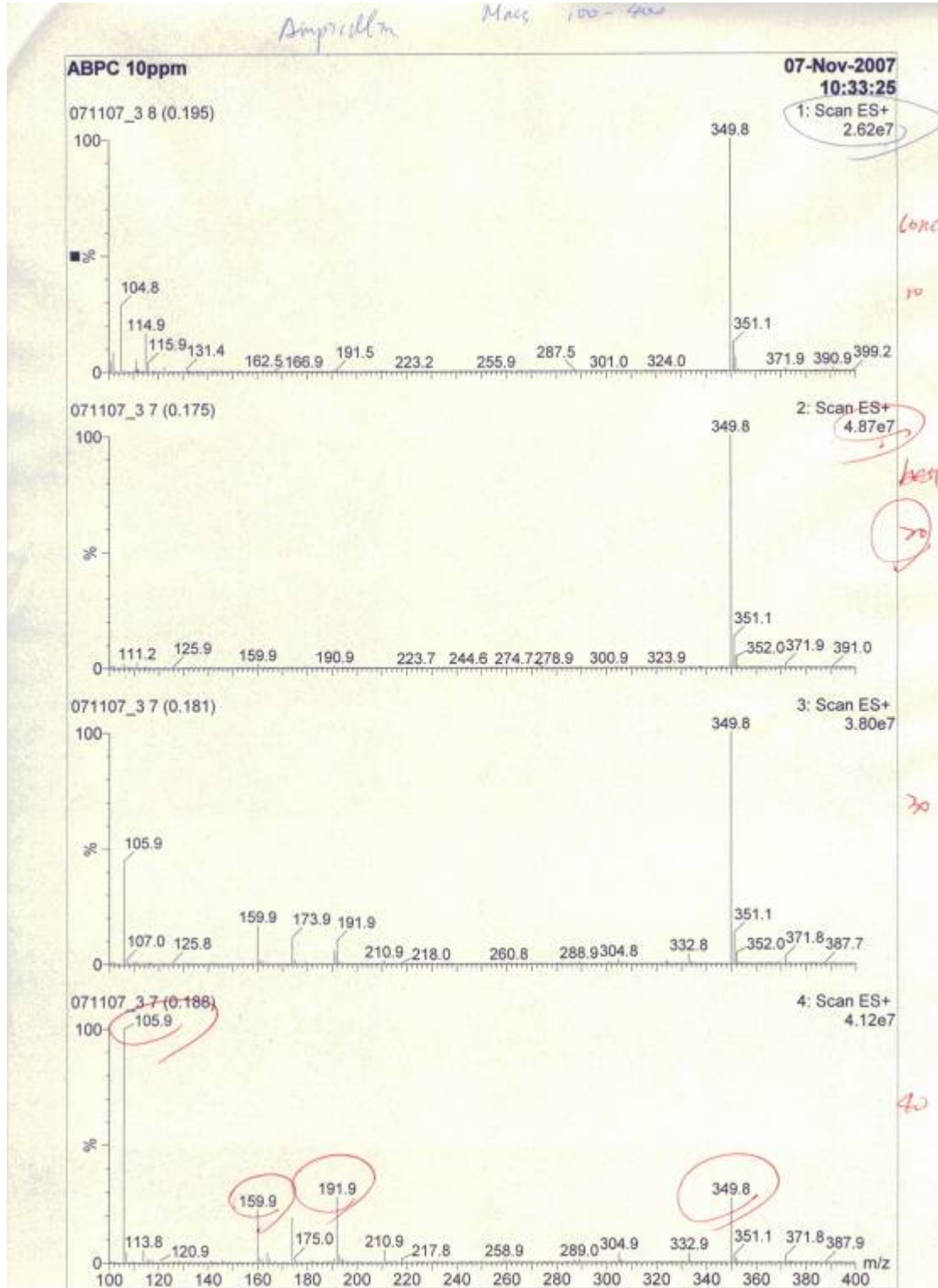
感謝行政院衛生署藥物食品檢驗局各級長官之厚愛與推薦，經費支應，我國駐日經濟代表處謝偉馨秘書及戴德芳副參事官對研修之費心連繫、財團法人中央畜產會戴東發主任及麥德凱公司洪志駿博士在吾等於日本期間的各項協助，日本埼玉縣衛生研究所水·食品擔當部長堀江正一博士於研修期間熱心親切之教導，會計室陳証吉先生在經費核銷過程中的指導，使研修得以順利完成。



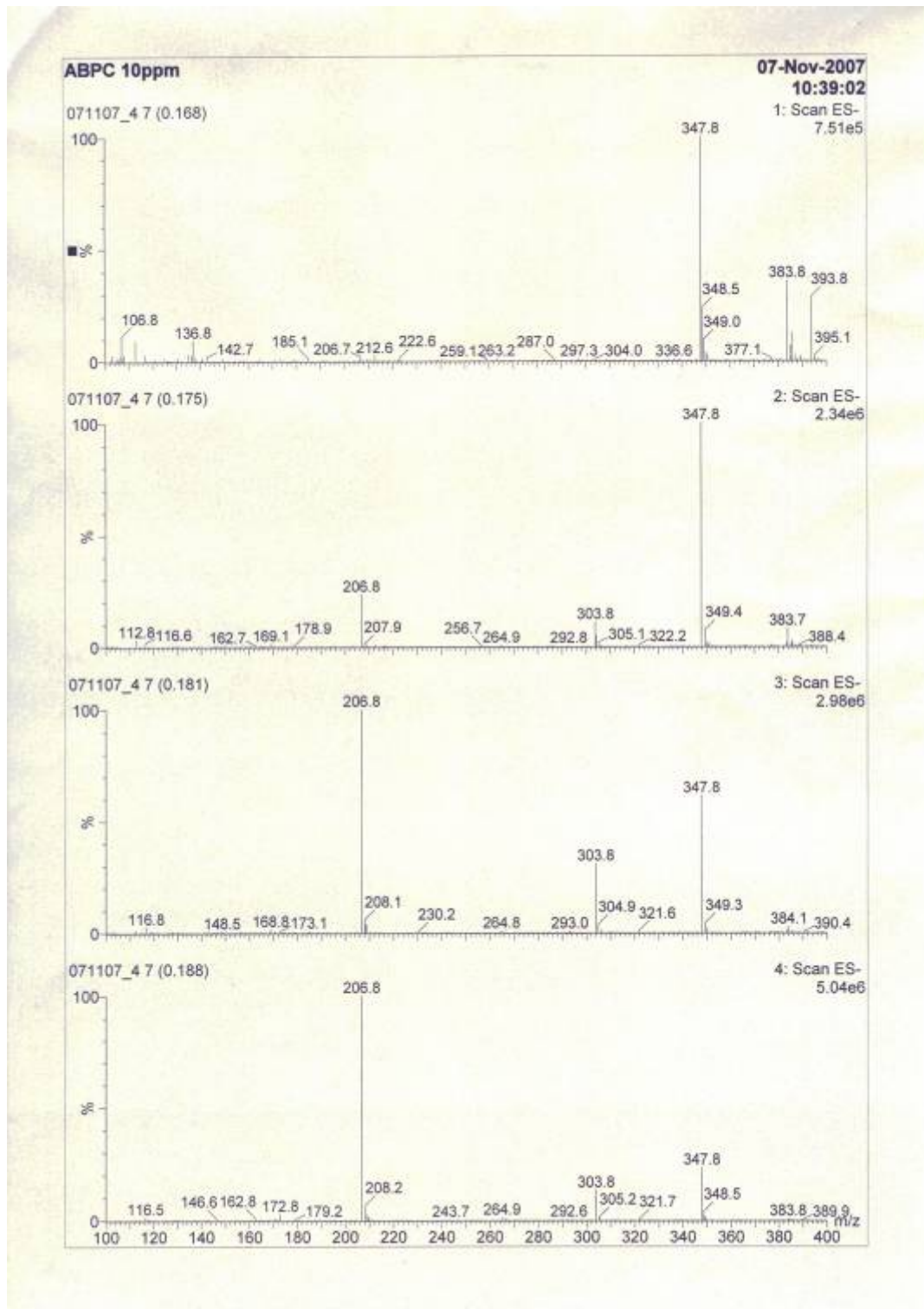
研修行程結束前與堀江博士合影留念(堀江博士與筆者)

附件一、amoxicillin 及 ampicillin 之 LC/MS/MS 條件設定

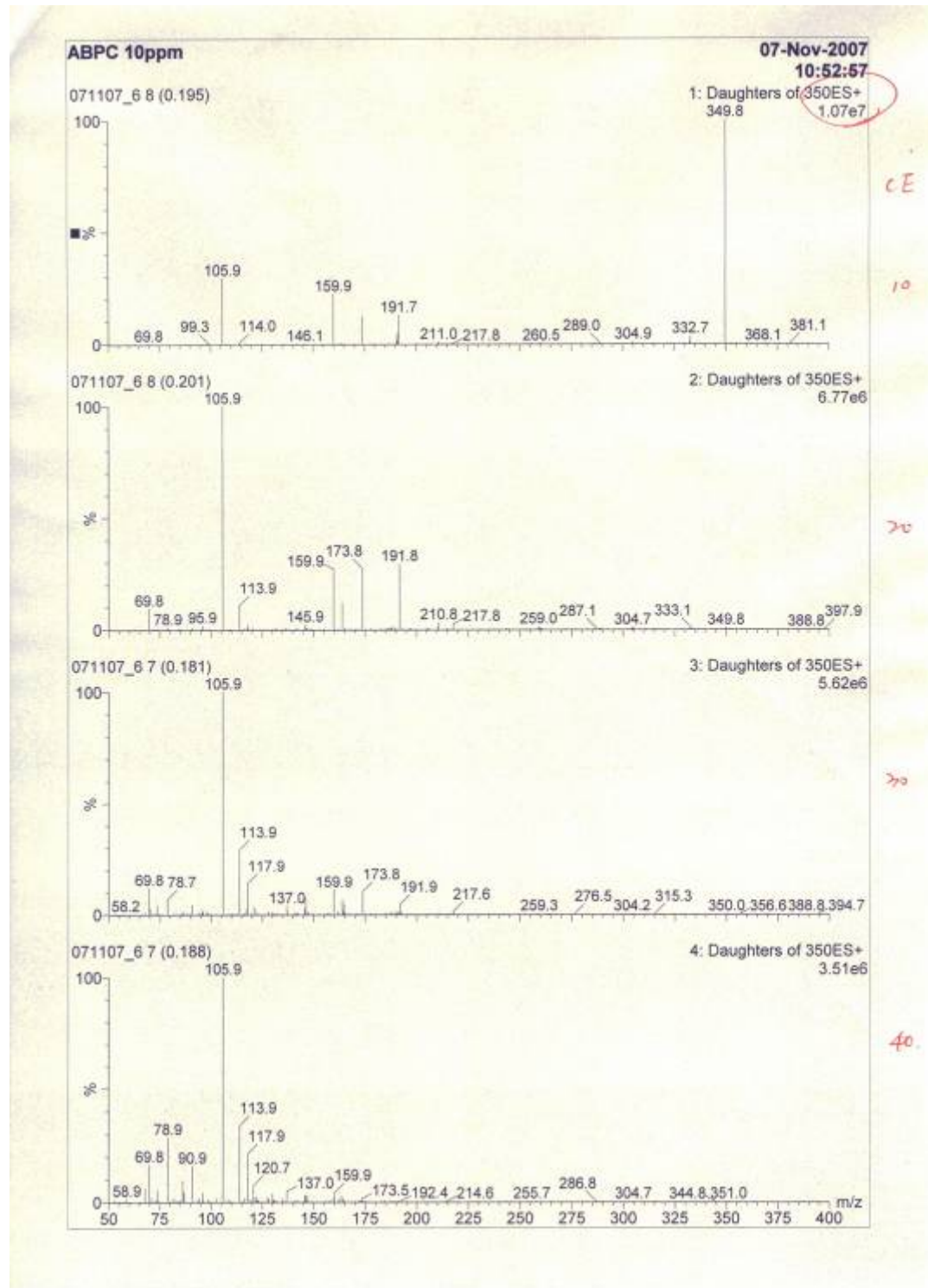
Ampicillin 母離子設定，正離子模式：



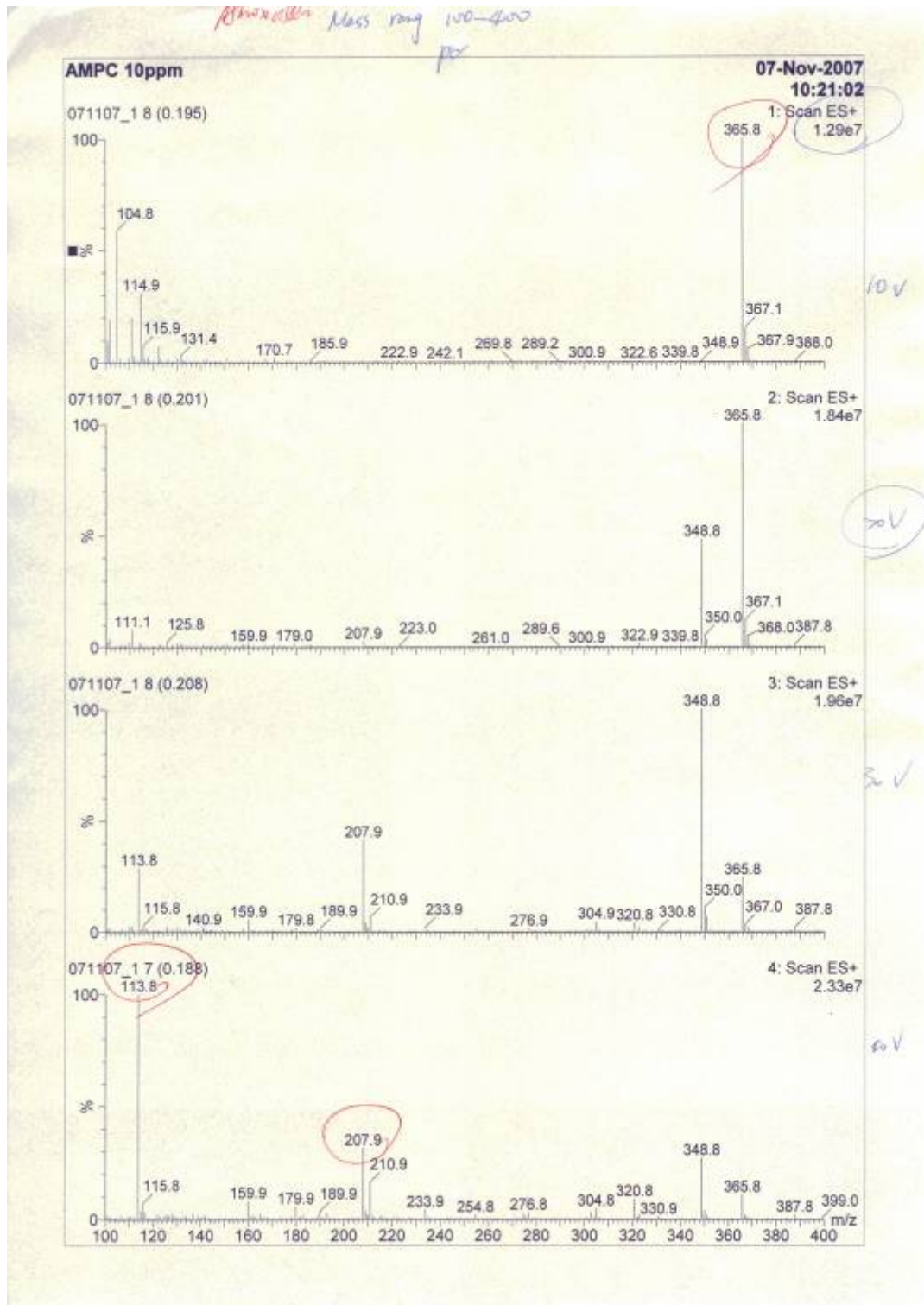
Ampicillin 母離子設定，負離子模式：



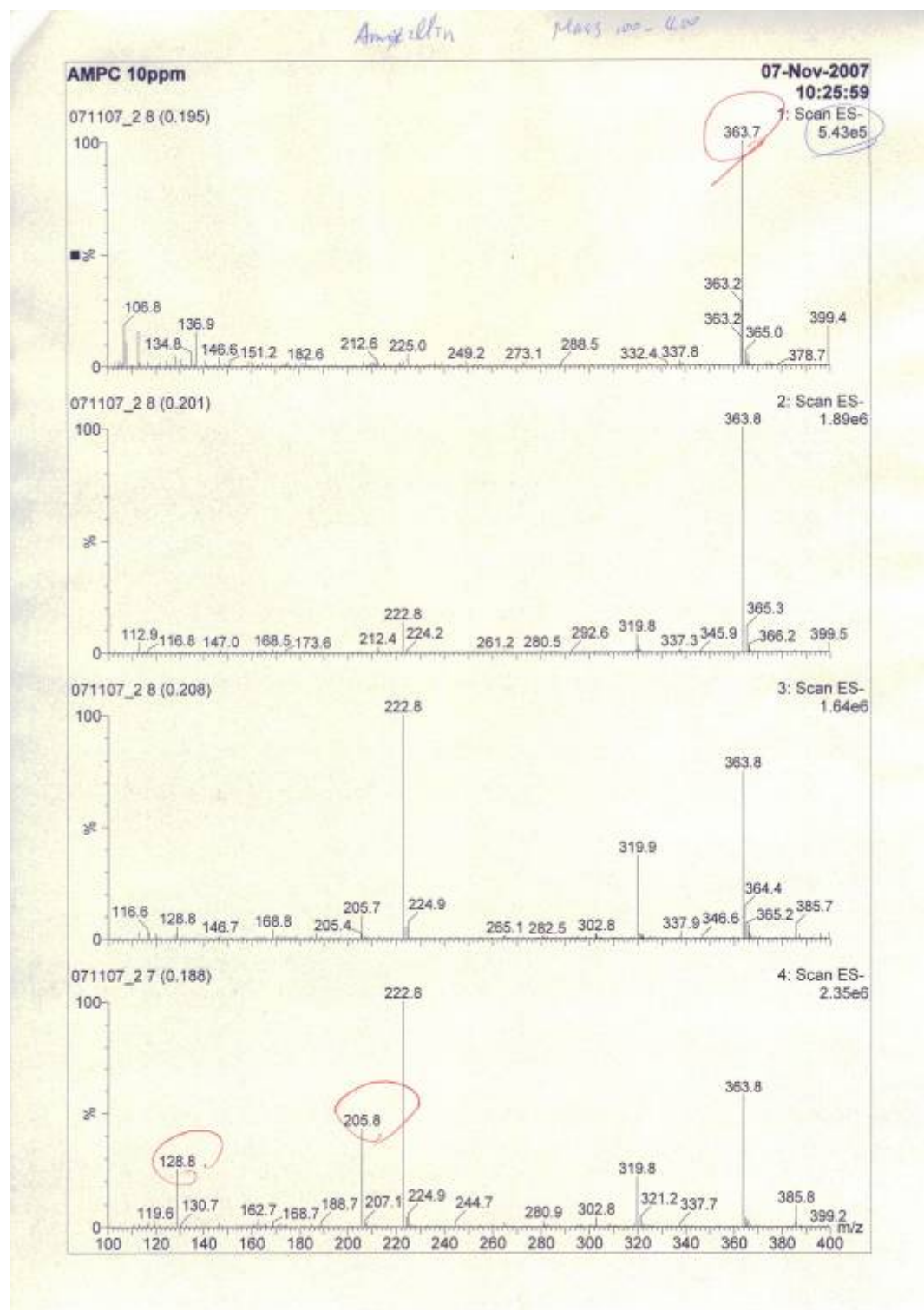
Ampicillin 子離子，MRM 模式：



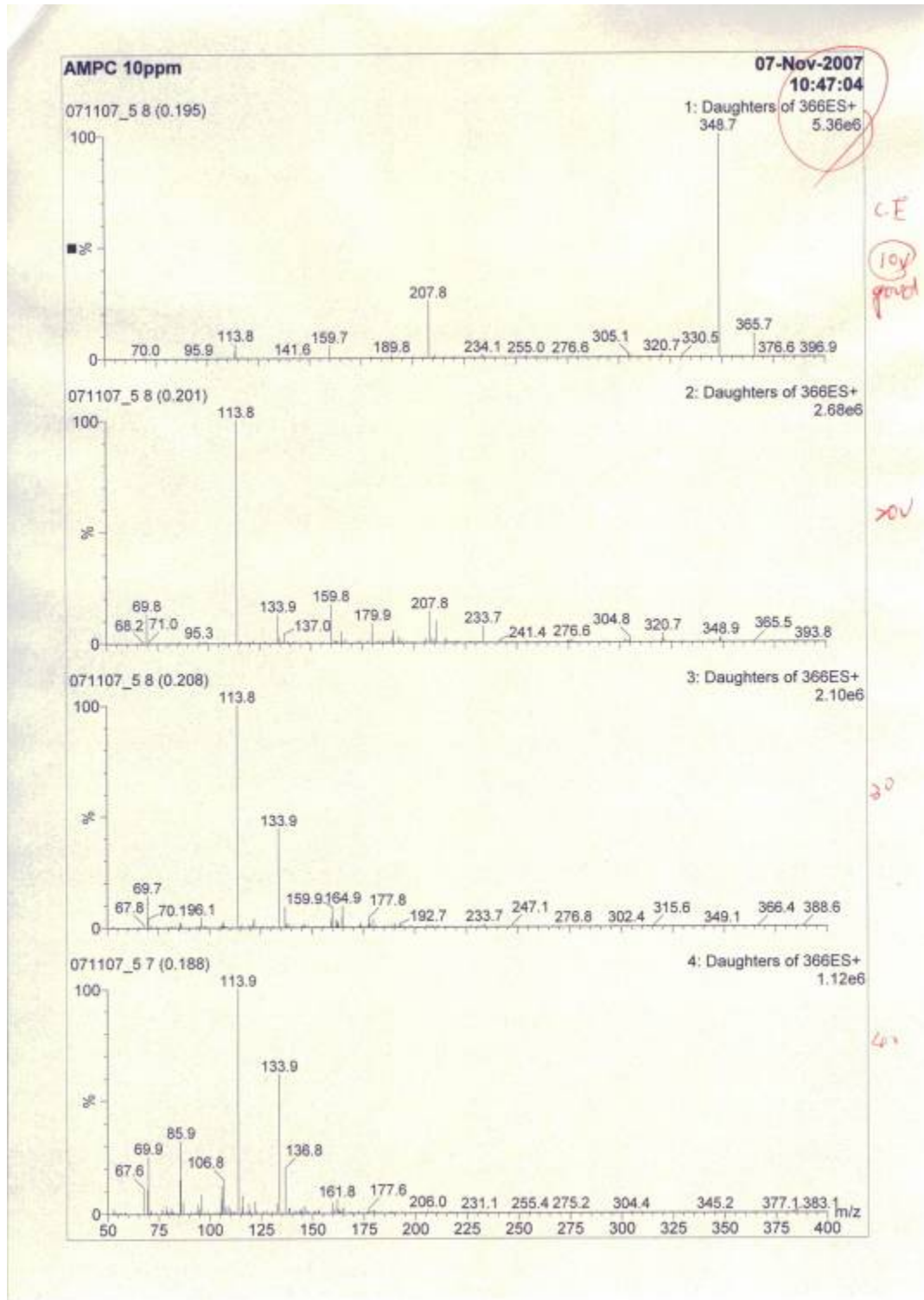
Amoxicillin 母離子設定，正離子模式：



Amoxicillin 母離子設定，負離子模式：



Amoxicillin 子離子設定，MRM 模式：



出國報告審核表

出國報告名稱：赴日本埼玉縣「衛生研究所」研習農畜禽水產品中抗生素殘留之檢測技術		
出國人姓名（2人以上，以1人為代表）	職稱	服務單位
周光宇	薦任技士	行政院衛生署藥物食品檢驗局
出國期間： 97年11月4日至97年11月10日		報告繳交日期： 98年1月 日
出國計畫主辦機關審核意見	<input type="checkbox"/> 1.依限繳交出國報告 <input type="checkbox"/> 2.格式完整（本文必須具備「目的」、「過程」、「心得」、「建議事項」） <input type="checkbox"/> 3.內容充實完備 <input type="checkbox"/> 4.建議具參考價值 <input type="checkbox"/> 5.送本機關參考或研辦 <input type="checkbox"/> 6.送上級機關參考 <input type="checkbox"/> 7.退回補正，原因： <input type="checkbox"/> m 不符原核定出國計畫 <input type="checkbox"/> n 以外文撰寫或僅以所蒐集外文資料為內容 <input type="checkbox"/> h 內容空洞簡略 <input type="checkbox"/> i 電子檔案未依格式辦理 <input type="checkbox"/> r 未於資訊網登錄提要資料及傳送出國報告電子檔 <input type="checkbox"/> 8.本報告除上傳至出國報告資訊網外，將採行之公開發表： <input type="checkbox"/> 辦理本機關出國報告座談會（說明會），與同仁進行知識分享。 <input type="checkbox"/> 於本機關業務會報提出報告 <input type="checkbox"/> 9.其他處理意見及方式：	
層轉機關審核意見	<input type="checkbox"/> 1.同意主辦機關審核意見 <input type="checkbox"/> 全部 <input type="checkbox"/> 部分_____（填寫審核意見編號） <input type="checkbox"/> 2.退回補正，原因：_____ <input type="checkbox"/> 3.其他處理意見：	

說明：

- 一、出國計畫主辦機關即層轉機關時，不需填寫「層轉機關審核意見」。
- 二、各機關可依需要自行增列審核項目內容，出國報告審核完畢本表請自行保存。
- 三、審核作業應儘速完成，以不影響出國人員上傳出國報告至「出國報告資訊網」為原則。