

臺灣鱸形目代表魚種肌肉及肝臟組織中因滅汀殘留分析方法之開發

陳怡如¹、陳慧珊¹、徐慈鴻¹、涂青宇^{1*}

摘要

陳怡如、陳慧珊、徐慈鴻、涂青宇。2025。臺灣鱸形目代表魚種肌肉及肝臟組織中因滅汀殘留分析方法之開發。臺灣農藥科學 19 : 31-48。

為分析對水產動物寄生蟲具有治療效果之動物用藥因滅汀在經濟魚類體內的殘留量，本研究參考歐盟 QuEChERS 方法，使用乙腈、萃取用粉劑及分散型固相萃取管進行肌肉及肝臟樣品前處理，以液相層析串聯式質譜儀 (liquid chromatography/tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 開發因滅汀在鱸形目代表魚種可食組織之檢驗方法。選取市售金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱺及黑鯛之空白肌肉 (含皮) 及肝臟樣品。分別於肌肉及肝臟添加 5、50 及 500 ng/g 因滅汀進行回收率 (Recovery rate) 試驗，以液相層析串聯式質譜儀進行殘留量分析，進行同日 (intra-day) 及異日 (inter-day) 之評估。結果顯示同日間肌肉回收率介於 76.4 -102.8%、肝臟回收率介於 73.2 -111.0%，變異係數 (coefficient of variation, CV) 皆<20%；異日間肌肉平均回收率 84.0-97.2%、肝臟平均回收率 77.4-99.9%，變異係數皆<20%。本檢驗方法中因滅汀的定量極限 (limit of quantitation, LOQ) 在肌肉及肝臟分別為 5 ng/g、50 ng/g，未來可適用於金目鱸等 5 種鱸形目代表魚種可食組織中因滅汀殘留分析之用。

關鍵詞：因滅汀、鱸形目、液相層析串聯式質譜儀、檢驗方法確效

接受日期：2025 年 8 月 8 日

* 通訊作者。E-mail: cytu@acri.gov.tw

¹ 臺中市 農業部農業藥物試驗所

前言

因應人口大幅增加所需，近年來全球養殖水產品急速成長，高集約及規模化水產養殖大幅提升產量之同時，連帶疾病對經濟損失的衝擊也越發顯著。水產養殖動物主要病原可分為細菌性、病毒性及寄生蟲性等^(9, 16)。其中寄生蟲感染通常與宿主處於動態平衡之狀態，一旦宿主及環境變化便可能改變寄生蟲與宿主之間的平衡導致疾病爆發⁽²²⁾。當魚隻受到嚴重寄生蟲感染時會發生食慾下降、行為異常、影響繁殖能力及死亡率增加等現象^(9, 22)，導致大量死亡或賣相不佳而影響獲利⁽²⁾，造成管理及治療之成本，估計全球水產因寄生蟲造成的一年度損失約為 10.5 至 95.8 億美元⁽²⁶⁾。臺灣目前核准使用於水產養殖之寄生蟲用藥卻僅有三氯仿 (trichlorfon) 1 種，三氯仿為有機磷類藥物，為低毒性廣效性殺蟲劑⁽¹⁾，魚病治療上主要作為殺滅體表或鰓部之原蟲、單殖吸蟲及甲殼蟲等外寄生蟲^(3, 8, 11, 12)，然而三氯仿具有急性神經毒性、基因毒性、免疫毒性、致癌及致畸胎作用⁽²⁹⁾，目前僅剩日本、澳洲及臺灣訂有三氯仿在魚類產品的動物用藥殘留容許量⁽³⁾，國內需要有其他替代之寄生蟲用藥或輪用三氯仿。

臺灣為一四面環海之海島，海洋生態多樣，有利於漁業發展，且位處亞熱帶地區適合養殖漁業的發展^(4, 10)，依照養殖水產動物之產業飼養及生理特性，主管機關

將臺灣常見水產養殖種類適當分群⁽¹¹⁾，其中鱸形目 (Perciformes) 為臺灣養殖漁業之大宗，2022 年國內養殖鱸形目魚類約佔有近一半的產值⁽⁷⁾，其重要性不可言喻。目前作為藥物登記試驗所選用的鱸形目魚類代表魚種可細分為狹鹽性魚類 (供試代表性魚種海鱸 (*Rachycentron canadum*, cobia))、廣鹽性魚類 (供試代表性魚種石斑 (*Epinephelus* spp., grouper)、金目鱸 (*Lates calcarifer*, perch)、黑鯛 (*Acanthopagrus schlegelii*, black seabream)) 及淡水魚類 (供試代表性魚種吳郭魚 (*Oreochromis* spp., tilapia)) 等^(5, 11) 5 種。

比較目前國際間核准之水產養殖抗寄生蟲用藥，在各國其核准狀態、殘留容許量、藥劑特性及防治對象等⁽³⁾，可見因滅汀 (emamectin benzoate) 已被挪威^(24, 25)、美國^(17, 19, 20) 及加拿大⁽²⁸⁾ 等國家在鮭魚及虹鱒養殖核准作為海水魚類等橈足類寄生蟲防治使用，於香港⁽²⁷⁾ 養殖石斑魚使用也有一定防治效果，在臺灣則僅能使用在觀賞魚類，尚未登記成為經濟魚類的寄生蟲治療用藥^(3, 8)。為推動因滅汀在我國合法使用，國內需執行因滅汀在鱸形目養殖魚類的魚體殘留消退試驗，故本研究參考歐盟 QuEChERS 方法⁽²¹⁾ 進行簡單快速之前處理方法，以液相層析串聯式質譜儀檢驗，開發因滅汀在國內主要養殖魚種鱸形目可食組織肌肉及肝臟殘留的檢驗方法以取代國內現有繁瑣、耗時且使用大量有機溶劑之方法⁽¹³⁾，期於未來可應用於因滅汀在鱸形目代表魚種的殘留消退試驗。

材料與方法

一、樣品來源

自市場購置 5 種鱸形目代表性魚種 1. 金目鱸、2. 石斑魚、3. 吳郭魚、4. 海鱺、5. 黑鯛，分別取下肌肉 (含皮) 及肝臟作為空白樣品備用。

二、試藥及材料

1. 標準品

標準品為因滅汀 emamectin benzoate，含有 2 種有效成分 emamectin benzoate B1a 及 emamectin benzoate B1b，化學名稱分別為 $C_{56}H_{81}NO_{15}$ (B1a) 及 $C_{55}H_{79}NO_{15}$ (B1b)，純度為 96.42%，由 Laboratory of the Government Chemist (LGC) 生產製造，emamectin benzoate B1a 及 emamectin benzoate B1b 比例分別為 98% 及 2%，詳見表一。

2. 試藥

甲醇 (methanol)： CH_3OH ，層析級，Merck；乙腈 (acetonitrile)： CH_3CN ，層析級，J.T.Baker；去離子水 (比電阻於 $25^\circ C$ 可達 $18 M\Omega/cm$ 以上)；甲酸 (formic acid)；醋酸銨 (ammonium acetate) CH_3COONH_4 ，98%，試藥級，Emsure。

3. 材料

緩衝鹽混合劑：QuEChERS Extract Tubes，EN Method，Agilent，5982-5650 (4g $MgSO_4$ ；1g $NaCl$ ；1g $Na_3Citrate$ ；0.5g

$Na_2HCitrate$)；分散型固相萃取管：Dispersive SPE 15 mL，Fatty Samples，EN，Agilent，5982-5156 (150 mg PSA, 150 mg $C_{18}EC$, 900 mg $MgSO_4$)；陶瓷均質石：Bond Elut QuChERS，Agilent；樣品瓶：1.8 mL，玻璃材質，夾蓋，Agilent；濾膜：孔徑 $0.2 \mu m$ ，PTFE 材質，Agilent；定量瓶：10 mL，玻璃，Brand。

三、設備與裝置

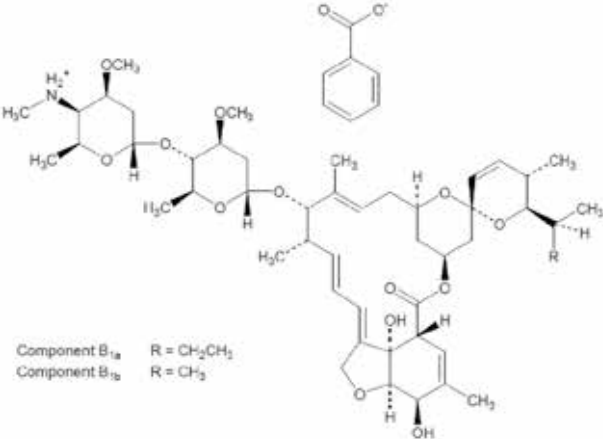
液相層析儀：Waters/Ultra Performance Liquid Chromatograph，UPLC；質譜儀：Waters/Xevo TQ；離心機：Allegra，X-22R。氮氣產生器：Sic Model， N_2 supplier 05B；氮氣濃縮裝置：Organomatin Associates. Inc.，N-EVAPTM112；刀片式粉碎均質機：Retsch，GM200；試管振盪器：Scientific Industries，Vortex-Genie 2；高速分散裝置：SPEX SamplePrep 2010 Geno/Grinder[®]；天平：Mettler，PB602-S；超音波清洗機：Delta，DC80。

四、移動相溶液之調製

移動相溶液 A：取醋酸銨 0.39 g，以去離子水溶解使成 1,000 mL，加入甲酸 1 mL 混合均勻，以 PTFE 濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。移動相溶液 B：取醋酸銨 0.39 g，以甲醇溶解使成 1,000 mL，以 PTFE 濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。

表一、因滅汀物理化學性質

Table 1. Physical and chemical properties of emamectin benzoate^(6, 18)

| Drug Established (nonproprietary) Name | Emamectin benzoate | |
|--|--|--|
| Molecular structure |  <p>Component B_{1a} R = CH₂CH₃ Component B_{1b} R = CH₃</p> | |
| Chemical name | 4'-epimethyloxy-4-deoxyavermectin benzoate B1a | 4'-epimethyloxy-4-deoxyavermectin benzoate B1b |
| Composition | ≥90% | ≤10% |
| Molecular formula | C ₅₆ H ₈₁ NO ₁₅ (C ₄₉ H ₇₃ NO ₁₃ ·C ₇ H ₆ O ₂) | C ₅₅ H ₇₉ NO ₁₅ (C ₄₈ H ₇₃ NO ₁₃ ·C ₇ H ₆ O ₂) |
| Molecular weight | 1008.26 g/mol | 994.24 g/mol |
| pH | 6.0 at 25°C | |
| Melting point | 141-146°C | |
| Vapor pressure | 4x10 ⁻⁶ Pa at 21°C (97.8% purity 21.1°C) | |
| Henry's Law constant | 1.3 x 10 ⁻⁵ Pa x m ³ x mol ⁻¹ at pH 5 and 21° 1.3 x 10 ⁻⁵ Pa x m ³ x mol ⁻¹ at pH 7 and 21° 1.3 x 10 ⁻⁵ Pa x m ³ x mol ⁻¹ at pH 9 and 21° | |
| Solubility in water | pH 5: 320 mg/L at 25°C (97.8% purity) pH 7: 24 mg/L at 25°C (97.8% purity) pH 9: 0.1 mg/L at 25°C (97.8% purity) Salt water: 5.5 mg/L (maximum) | |
| Octanol-water partition coefficient (log Kow) | pH 5.07: 3.0 at 23°C pH 7.00: 5.0 at 23°C pH 9.04: 5.9 at 23°C | |
| Soil organic carbon-water partitioning coefficient (Koc) | Sandy loam: 278,983; Sand: 728,918; Clay loam: 25,363; Silt loam: 28,325 Reported average: 265,687 (average) | |
| Dissociation constant (pKa) | pKb: 9.8 (benzoate) at 20°C pKa: 4.2 (benzoic acid) at 20°C pKa: 7.7 (epi-methyl-NH ₂ ⁺) at 20°C | |

五、標準溶液之配製

取對照用標準品因滅汀約 50 mg，精確秤定，以乙腈溶解並定容至 50 mL，作為標準原液 (stock solution, 1,000 $\mu\text{g/mL}$)，於 -18°C 避光貯存備用。使用前精確量取適量標準原液，以甲醇稀釋至 2-200 ng/mL，供作標準溶液。

六、檢液製備方式

樣品預處理：將魚肉 (含皮) 及肝臟樣品以剪刀及刀片切成小碎塊後，以刀片式粉碎均質機進行樣品均質化處理，至少取樣 500 公克作為次樣品 (sub-sample)，裝罐密封，並保存於低溫冷凍 (-18°C) 條件下，待試驗分析使用。

精確稱取均質之檢體 (含皮肌肉：10 \pm 0.1 g、肝臟：2 \pm 0.02 g)，置於離心管中，加入乙腈溶液 10 mL 及陶瓷均質石 1 顆，旋緊上蓋後以高速分散裝置於 1,000 rpm 振盪 2 分鐘後，加入 6.5 g 的萃取用粉劑 (商品化：Agilent, QuEChERS Extract Tubes, EN Method, 5982-5650)，再以高速分散裝置於 1,000 rpm 振盪 2 分鐘後，於 15°C 以 3,000 \times g 離心 5 分鐘。取上清液 6 mL 置於分散型固相萃尿管 (商品化：Agilent, Dispersive SPE 15 mL, Fatty Samples, EN)，以高速分散裝置於 1,000 rpm 振盪 2 分鐘後，於 15°C 以 3,000 \times g 離心 5 分鐘，取上清液 1 mL 放入玻璃試管

中，以吹氮濃縮裝置吹至微乾，加入 1 mL 的甲醇定量，混合均勻後以濾膜 (0.2 μm , PTFE) 過濾供作檢液，最後以液相層析串聯式質譜儀上機分析，方法見圖一。

七、標準檢量線及基質匹配檢量線之製備

1. 標準檢量線

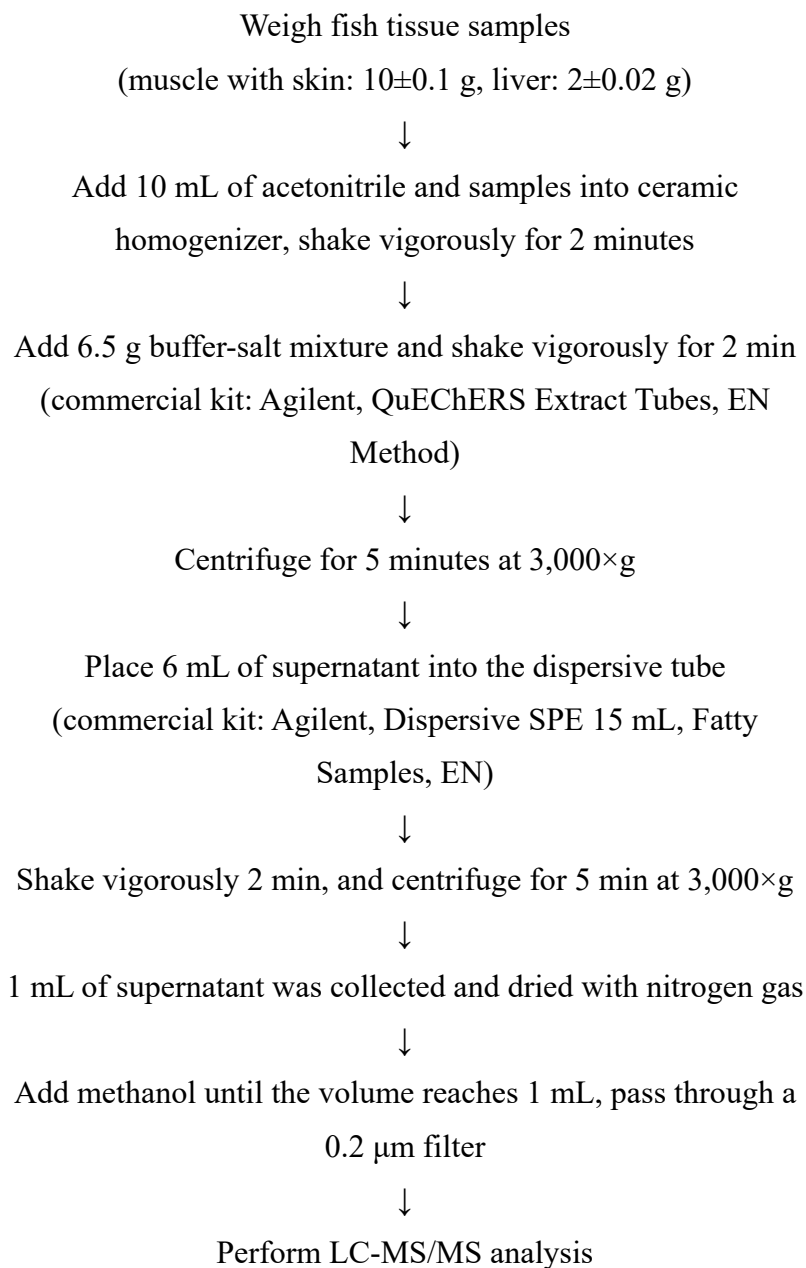
取 10 $\mu\text{g/mL}$ 因滅汀標準溶液至定量瓶中，分別以甲醇稀釋至 2、5、10、20、50、100 及 200 ng/mL，使用液相層析串聯式質譜儀 (liquid chromatography/tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 分析，利用波峰面積與濃度繪製成標準檢量線。

2. 基質匹配檢量線

肌肉 (含皮)：分別取 5 種試驗魚種之空白檢體，依檢液之調製方式後量取 1 mL 檢液原液以氮氣吹至微乾，分別加入 1 mL 標準溶液 2、5、10、20、50 及 100 ng/mL，混合均勻，製作成肌肉之基質匹配檢量線，LC-MS/MS 分析並利用波峰面積與濃度繪製成肌肉基質檢量線。

肝臟：分別取 5 種試驗魚種之空白檢體，依檢液之調製方式後量取 1 mL 檢液原液以氮氣吹至微乾，分別加入 1 mL 標準溶液 5、10、20、50、100 及 200 ng/mL，混合均勻，製作成肝臟之基質匹配檢量線，以 LC-MS/MS 分析並利用波峰面積與濃度繪製成肝臟基質檢量線。

八、儀器分析條件



圖一、因滅汀在鱸形目肌肉及肝臟之檢驗分析流程圖。

Fig. 1. Flowchart illustrating the process of analyzing emamectin benzoate in edible tissue (muscle with skin and liver) of Perciformes.

樣品依方法調製檢液後，以液相層析串聯式質譜儀 (Waters/Xevo TQ, LC-MS/MS) 進行分析，儀器條件如下：(1) 離子源：電灑游離 (electrospray ionization, ESI)，(2) 層析管柱：Waters CORTECS® UPLC® C18 column (2.1 mm×100 mm, 1.6 μm)；層析管柱溫度 50°C，(3) 保護管柱：Waters CORTECS® UPLC® VanGuard Pre-Column BEH C18 (2.1 mm×5 mm, 1.6μm)，(4) 移動相流速：0.3 mL/min，移動相溶液 A 及 B 梯度變化如表二，(5) 注入體積：5 μL，(6) 毛細管電壓：正離子掃描為 3.5 kV，(7) 離子源溫度 (ion source temperature)：150°C，(8) 溶媒揮散氣體流速：50 psi，(9) 溶媒揮散氣體流速 (Desolvation gas)：1,000 L/hr，(10) 進樣錐氣體流速 (Cone gas flow)：50 L/hr，(11) 偵測模式：MRM，偵測離子對、進樣錐電壓與碰撞能量詳如表三。

九、鑑別試驗及含量測定

採用基質匹配檢量線法 (matrix-matched calibration curve method)，精確量

取檢液及基質匹配檢量線溶液各 5 μL，依序注入液相層析串聯式質譜儀中，就檢液與基質匹配檢量線溶液分析所得波峰滯留時間及偵測相對離子強度表四⁽²³⁾ 鑑別之，並依下列計算式得到檢體中因滅汀之含量 (ng/g)：

$$\text{檢體中因滅汀之含量 (ng/g)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由因滅汀之基質匹配檢量線求得檢液中因滅汀之濃度 (ng/mL)

V：萃取檢體之乙腈溶液體積 (10 mL)

M：分析檢體之重量 (g)

表二、移動相流速及梯度變化

Table 2. Flow gradients for mobile phases of LC

| Time (min) | Flow (mL/min) | Mobile phase | |
|------------|---------------|--------------|-------|
| | | A (%) | B (%) |
| 0.0 | 0.3 | 99.0 | 1.0 |
| 2.0 | 0.3 | 50.0 | 50.0 |
| 8.0 | 0.3 | 30.0 | 70.0 |
| 10.0 | 0.3 | 1.0 | 99.0 |
| 13.0 | 0.3 | 1.0 | 99.0 |
| 13.5 | 0.3 | 99.0 | 1.0 |
| 15.0 | 0.3 | 99.0 | 1.0 |

表三、質譜分析條件

Table 3. MS/MS fragmentation conditions

| Compound name | ESI mode | Precursor ion (m/z) | Cone (V) | Quantification | | Identification | |
|------------------------|----------|---------------------|----------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|
| | | | | Product ion (m/z) | Collision (v) | Product ion (m/z) | Collision (v) |
| emamectin benzoate B1a | ESI + | 886.5 | 50 | 158 | 35 | 126 | 38 |
| emamectin benzoate B1b | ESI + | 872.5 | 44 | 158 | 38 | 126 | 56 |

十、回收率試驗

將 5 種鱸形目代表魚種之空白肌肉及肝臟樣品添加適量因滅汀標準品，分別代表定量極限及其 10 倍定量極限之濃度，依分析檢液步驟操作，分別進行同日 (5 重複) 及異日 (3 重複) 之分析，以 LC-MS/MS 進行分析，依測得滯留時間與面積，分別與該基質之基質匹配檢量線比較定性及定量，所得回收率應介於 70-120% 內，變異係數 (coefficient of variation, CV) <20%^(15, 21, 23)。

十一、定量極限 (limit of quantitation, LOQ) 評估

將因滅汀添加於 5 種鱸形目代表魚種之肌肉 (含皮) 及肝臟，在不同基質中回收率試驗樣品添加之最低濃度，為該基質之定量極限。回收率需介於 70-120%，且變異係數<20%。

結果與討論

本研究係參考歐盟 QuEChERS 方法進行回收率試驗，取 5 種鱸形目代表魚種之肌肉 (含皮) 及肝臟樣品使用乙腈、萃取用粉劑及分散型固相萃取管前處理後，評估其專一性 (specificity)、準確度 (accuracy) 及精密度 (precision)。

一、檢量線

選用金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱸及黑鯛之肌肉 (含皮) 及肝臟空白檢體，依檢驗方法步驟調製基質匹配檢量線 (matrix calibration curve, MCC)，分別加入 1 mL 之 2 至 200 ng/mL 標準溶液 (肌肉：2、5、10、20、50 及 100 ng/mL，肝臟：5、10、20、50、100 及 200 ng/mL)，至少包括 5 種不同濃度，其線性回歸方程式之相關係數 (r) 於基質中分別如下，emamectin benzoate B1a 在金目鱸肌肉之為 0.9999-1.0000、金目鱸肝臟為 0.9998-0.9999、石斑魚肌肉為 0.9997-1.0000、石斑魚肝臟為 0.9996-1.0000、吳郭魚肌肉為 0.9999-1.0000、吳郭魚肝臟為 0.9989-0.9990、海鱸肌肉為 0.9998-1.0000、海鱸肝臟為 0.9998-0.9999、黑鯛肌肉為 0.9997-0.9999、黑鯛肝臟為 0.9994-0.9998，emamectin benzoate B1b 在金目鱸肌肉之為 0.9996-1.0000、金目鱸肝臟為 0.9997-1.0000、石斑魚肌肉為 0.9996-0.9999、石斑魚肝臟為 0.9998-0.9999、吳郭魚肌肉為 0.9998-1.0000、吳郭魚肝臟為

表四、質譜分析之相對離子強度最大可容許範圍⁽²³⁾

Table 4. Maximum permitted tolerances for relative ion intensities using LC-MS/MS

| Relative intensity (% of base peak) ^{a)} | Relative (%) |
|---|--------------|
| >50 % | ± 20 |
| >20-50 % | ± 25 |
| >10-20 % | ± 30 |
| ≤10 % | ± 50 |

a) 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%)

0.9998-1.0000、海鱸肌肉為 0.9997-1.0000、海鱸肝臟為 0.9997-1.0000、黑鯛肌肉為 0.9998-1.0000、黑鯛肝臟為 0.9994-0.9999，上述線性回歸方程式之相關係數 (r) 均大於 0.99，其線性方程式、線性範圍及線性回歸方程式之相關係數 (r) 檢量線與線性回歸方程式之相關係數 (r) 詳見表五至表六。

表五、金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱸及黑鯛肌肉 (含皮) 基質之同日 (n=5) 及異日 (n=3) 線性方程式、線性範圍 (2-100 ng/mL) 及線性回歸方程式之相關係數 (r)

Table 5. Intra-day (n=5) and inter-day (n=3) linear equation in matrix, linear ranges (2-100 ng/mL), and correlation coefficients (r) for emamectin benzoate in muscle matrix of perch, grouper, tilapia, cobia, and black seabream

| Matrix | Compound name | Linear equation in matrix | | | Correlation coefficient (r) | | |
|-----------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------|---------------------|
| | | 1 st day | 2 nd day | 3 rd day | 1 st day | 2 nd day | 3 rd day |
| perch muscle | emamectin benzoate B1a | y=25120.8 * x - 443.428 | y=24679.8 * x - 11427.5 | y=17643.4 * x - 4213.81 | 1.0000 | 0.9999 | 0.9999 |
| | emamectin benzoate B1b | y=457.494 * x + 119.959 | y=419.257 * x - 103.503 | y=370.457 * x + -31.3361 | 0.9996 | 0.9997 | 1.0000 |
| grouper muscle | emamectin benzoate B1a | y=25120.8 * x - 443.428 | y=23193.7 * x - 12573.6 | y=27620.8 * x + 11653.3 | 1.0000 | 0.9997 | 0.9998 |
| | emamectin benzoate B1b | y=472.593 * x + 20.2428 | y=395.912 * x - 103.938 | y=546.032 * x - 74.7863 | 0.9999 | 0.9996 | 0.9999 |
| tilapia muscle | emamectin benzoate B1a | y=22467.1 * x - 5320.52 | y=25011.5 * x - 7339.93 | y=23959.4 * x + 3450.03 | 0.9999 | 1.0000 | 0.9999 |
| | emamectin benzoate B1b | y=350.141 * x + 286.689 | y=402.439 * x + 205.281 | y=448.196 * x + 73.8315 | 0.9998 | 0.9998 | 1.0000 |
| cobia muscle | emamectin benzoate B1a | y=29167 * x + 1314.49 | y=22216.1 * x - 6165.12 | y= 19082.6 * x + 3526.44 | 1.0000 | 0.9999 | 0.9998 |
| | emamectin benzoate B1b | y=610.016 * x + 71.0104 | y=380.277 * x + 135.411 | y= 363.038 * x + 144.729 | 1.0000 | 0.9997 | 0.9999 |
| black seabream muscle | emamectin benzoate B1a | y=22831.9 * x - 7605.47 | y=26696.7 * x - 9325.02 | y= 22756.5 * x - 2233.31 | 0.9998 | 0.9999 | 0.9997 |
| | emamectin benzoate B1b | y=378.057 * x + 16.1116 | y=434.561 * x + 66.3307 | y= 423.447 * x - 104.361 | 0.9999 | 1.0000 | 0.9998 |

表六、金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱸及黑鯛肝臟基質之同日 (n=5) 及異日 (n=3) 線性方程式、線性範圍 (25-1,000 ng/mL) 及線性回歸方程式之相關係數 (r)

Table 6. Intra-day (n=5) and inter-day (n=3) linear equation in matrix, linear ranges (25-1,000 ng/mL), and correlation coefficients (r) for emamectin benzoate in liver matrix of perch, grouper, tilapia, cobia, and black seabream

| Matrix | Compound name | Linear equation in matrix | | | Correlation coefficient (r) | | |
|----------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------|---------------------|
| | | 1 st day | 2 nd day | 3 rd day | 1 st day | 2 nd day | 3 rd day |
| perch liver | emamectin benzoate B1a | y=10600 * x + 4114.96 | y=10777 * x - 5067.61 | y=13665.9 * x - 4451.59 | 0.9999 | 0.9998 | 0.9999 |
| | emamectin benzoate B1b | y=164.319 * x - 67.3055 | y=140.909 * x + 21.0018 | y=206.455 * x - 154.505 | 1.0000 | 0.9999 | 0.9997 |
| grouper liver | emamectin benzoate B1a | y=15429.6 * x - 3682.88 | y=14603.2 * x - 3222.46 | y=15408.9 * x - 22600.6 | 1.0000 | 1.0000 | 0.9996 |
| | emamectin benzoate B1b | y=330.767 * x + 19.1426 | y=258.965 * x + 238.127 | y=262.253 * x - 213.856 | 0.9999 | 0.9999 | 0.9998 |
| tilapia liver | emamectin benzoate B1a | y=20999.7 * x + 10881.8 | y=18728.5 * x + 2693.28 | y=20284.6 * x + 7758.39 | 0.9990 | 0.9990 | 0.9989 |
| | emamectin benzoate B1b | y=386.427 * x + 34.5561 | y=344.489 * x + -118.032 | y=371.548 * x + 91.432 | 0.9998 | 0.9999 | 1.0000 |
| cobia liver | emamectin benzoate B1a | y=17651.1 * x + 9336.24 | y=19561.2 * x + 9522.42 | y=16193.2 * x - 15602.3 | 0.9998 | 0.9999 | 0.9999 |
| | emamectin benzoate B1b | y=328.982 * x + 218.942 | y=408.206 * x + 74.595 | y=280.475 * x - 1.04612 | 0.9997 | 0.9999 | 1.0000 |
| black seabream liver | emamectin benzoate B1a | y=13253.3 * x - 11476 | y=12843 * x + 1999.75 | y=12930 * x - 14832 | 0.9994 | 0.9996 | 0.9998 |
| | emamectin benzoate B1b | y=219.408 * x - 138.021 | y=237.452 * x + 252.125 | y=226.681 * x - 46.1072 | 0.9998 | 0.9994 | 0.9999 |

二、定量極限 (LOQ)

因滅汀於 5 種鱸形目代表魚種之肌肉 (含皮) 及肝臟基質中之 LOQ，肌肉樣品均為 5 ng/g，肝臟樣品均為 50 ng/g，同日及異日間之回收率試驗結果顯示，因滅汀於魚肉及肝臟中 LOQ 之回收率為 76.4-102.8% 及 73.2-111.0%，變異係數為 0.5-19.8%，回收率皆介於 70-120% 之間且變異係數 < 20%，其線性回歸方程式之相關係數 (r) 皆 > 0.99，符合衛生福利部食品藥物管理署公告之食品化學檢驗方法確效規範⁽¹⁵⁾。

三、專一性

選用金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱺及黑鯛之肌肉 (含皮) 及肝臟基質依檢驗方法進行空白樣品試驗，均不會干擾分析鑑別判定，詳見圖二至圖三。

四、準確度

於同一實驗室於同一批次執行該檢驗方法，所得之結果為同日 (intra-day) (第一日、第二日、第三日)。將 5 種鱸形目代表魚種之空白肌肉及肝臟樣品添加適量因滅汀標準品，計算其回收率 (%)，添加量為 LOQ (肌肉：5 ng/g、肝臟：50 ng/g) 及 10 倍 LOQ (肌肉：50 ng/g、肝臟：500 ng/g)，結果顯示同日 (第一日) 肌肉 LOQ 回收率 76.4-98.8%、肌肉 10 倍 LOQ 回收

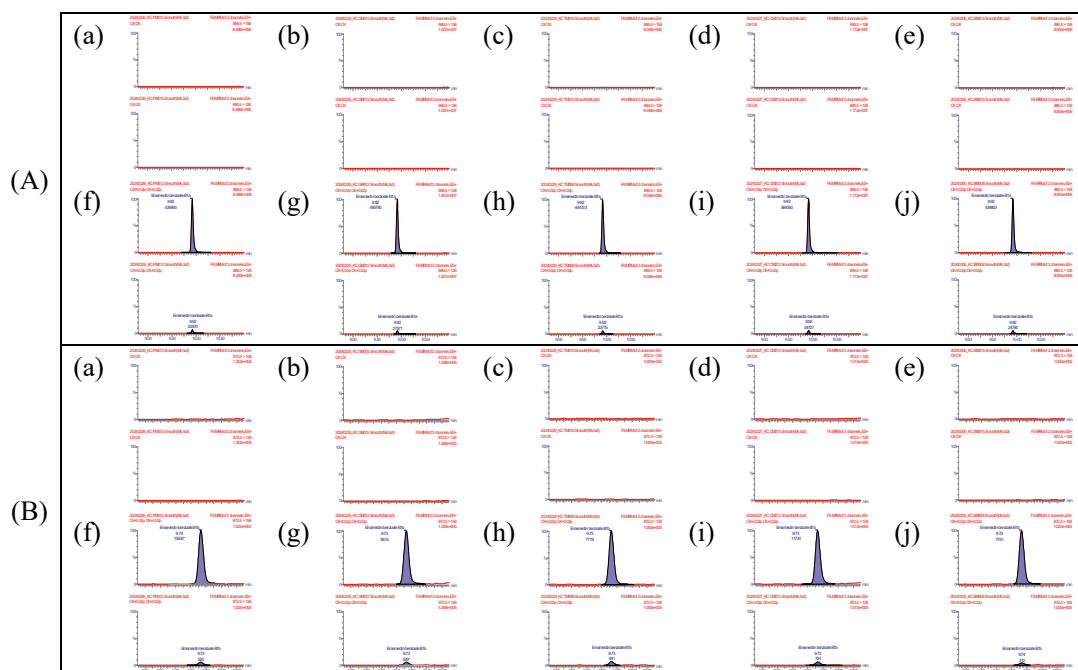
率 85.2-93.5%、肝臟 LOQ 回收率 75.2-100.6%、肝臟 10 倍 LOQ 回收率 75.4-99.8%；同日 (第二日) 肌肉 LOQ 回收率 81.6-96.0%、肌肉 10 倍 LOQ 回收率 83.6-97.5%、肝臟 LOQ 回收率 73.2-103.6%、肝臟 10 倍 LOQ 回收率 83.0-98.3%；同日 (第三日) 肌肉 LOQ 回收率 80.8-102.8%、肌肉 10 倍 LOQ 回收率 86.6-102.3%、肝臟 LOQ 回收率 73.4-111.0%、肝臟 10 倍 LOQ 回收率 78.3-96.3%，上述所得回收率均介於 70-120% 內、變異係數 < 20%，詳見表七至表八。

五、精密度

同一實驗室於不同分析日期執行該檢驗方法所得之結果為異日 (inter-day)，結果顯示異日肌肉 LOQ 回收率 84.0-97.2%、肌肉 10 倍 LOQ 回收率 87.3-95.3%、肝臟 LOQ 回收率 77.4-90.3%、肝臟 10 倍 LOQ 回收率 84.3-89.1%，上述所得回收率均介於 70-120% 內、變異係數 < 20%，其平均回收率與變異係數詳見表七至表八。

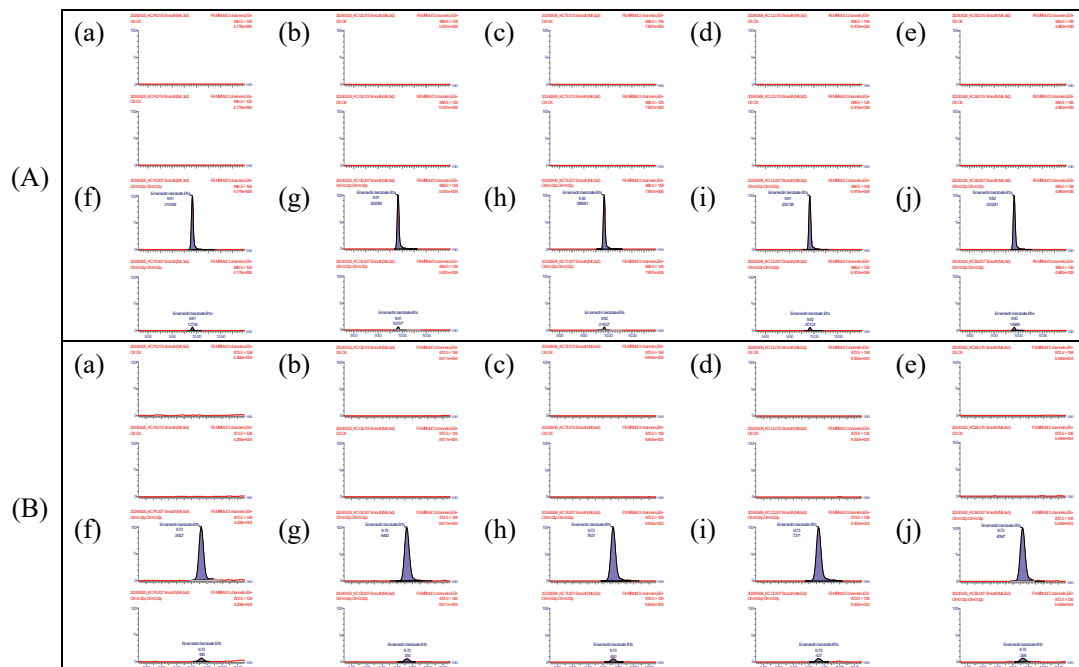
結論

本研究係參考歐盟 QuEChERS 方法，並使用 LC-MS/MS 開發於鱸形目代表魚種 (金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱺及黑鯛) 之肌肉 (含皮) 及肝臟中因滅汀的檢驗方法，此方法在肌肉之 LOQ 為 5 ng/g、肝臟之 LOQ 為 50 ng/g，同日及異日間之回收



圖二、因滅汀分別在鱸形目魚類肌肉基質之 MRM 圖譜。(A) emamectin benzoate B1a：(a) 金目鱸空白肌肉、(b) 石斑魚空白肌肉、(c) 吳郭魚空白肌肉、(d) 海鱸空白肌肉、(e) 黑鯛空白肌肉、(f) 於金目鱸肌肉基質中 20 ng/mL、(g) 於石斑魚肌肉基質中 20 ng/mL、(h) 於吳郭魚肌肉基質中 20 ng/mL、(i) 於海鱸肌肉基質中 20 ng/mL、(j) 於黑鯛肌肉基質中 20 ng/mL。(B) emamectin benzoate B1b：(a) 金目鱸空白肌肉、(b) 石斑魚空白肌肉、(c) 吳郭魚空白肌肉、(d) 海鱸空白肌肉、(e) 黑鯛空白肌肉、(f) 於金目鱸肌肉基質中 20 ng/mL、(g) 於石斑魚肌肉基質中 20 ng/mL、(h) 於吳郭魚肌肉基質中 20 ng/mL、(i) 於海鱸肌肉基質中 20 ng/mL、(j) 於黑鯛肌肉基質中 20 ng/mL。

Fig. 2. Representative mass chromatograms of (A) emamectin benzoate B1a: (a) perch muscle blank, (b) grouper muscle blank, (c) tilapia muscle blank, (d) cobia muscle blank, (e) black seabream muscle blank, (f) perch muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (g) grouper muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (h) tilapia muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (i) cobia muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, and (j) black seabream muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate. Representative mass chromatograms of (B) emamectin benzoate B1b: (a) perch muscle blank, (b) grouper muscle blank, (c) tilapia muscle blank, (d) cobia muscle blank, (e) black seabream muscle blank, (f) perch muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (g) grouper muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (h) tilapia muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (i) cobia muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, and (j) black seabream muscle matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate.



圖三、因滅汀分別在鱸形目魚類肝臟基質之 MRM 圖譜。(A) emamectin benzoate B1a：(a) 金目鱸空白肝臟、(b) 石斑魚空白肝臟、(c) 吳郭魚空白肝臟、(d) 海鱸空白肝臟、(e) 黑鯛空白肝臟、(f) 於金目鱸肝臟基質中 20 ng/mL、(g) 於石斑魚肝臟基質中 20 ng/mL、(h) 於吳郭魚肝臟基質中 20 ng/mL、(i) 於海鱸肝臟基質中 20 ng/mL、(j) 於黑鯛肝臟基質中 20 ng/mL。(B) emamectin benzoate B1b：(a) 金目鱸空白肝臟、(b) 石斑魚空白肝臟、(c) 吳郭魚空白肝臟、(d) 海鱸空白肝臟、(e) 黑鯛空白肝臟、(f) 於金目鱸肝臟基質中 20 ng/mL、(g) 於石斑魚肝臟基質中 20 ng/mL、(h) 於吳郭魚肝臟基質中 20 ng/mL、(i) 於海鱸肝臟基質中 20 ng/mL、(j) 於黑鯛肝臟基質中 20 ng/mL。

Fig. 3. Representative mass chromatograms of (A) emamectin benzoate B1a: (a) perch liver blank, (b) grouper liver blank, (c) tilapia liver blank, (d) cobia liver blank, (e) black seabream liver blank, (f) perch liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (g) grouper liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (h) tilapia liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (i) cobia liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, and (j) black seabream liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate. Representative mass chromatograms of (B) emamectin benzoate B1b: (a) perch liver blank, (b) grouper liver blank, (c) tilapia liver blank, (d) cobia liver blank, (e) black seabream liver blank, (f) perch liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (g) grouper liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (h) tilapia liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, (i) cobia liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate, and (j) black seabream liver matrix fortified with 20 ng/mL emamectin benzoate.

表七、金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱸及黑鯛肌肉 (含皮) 基質之同日 (n=5) 及異日 (n=3) LOQ (5 ng/g) 及 10 倍 LOQ (50 ng/g) 回收率及變異係數

Table 7. Intra-day (n=5) and inter-day (n=3) recovery rates and coefficients of variation for emamectin benzoate in muscle of perch, grouper, tilapia, cobia, and black seabream (LOQ: 5 ng/g, 10x LOQ: 50 ng/g)

| Matrix | Compound name | Intra-day | | | | | | | | | | | | Inter-day | | | |
|-----------------------|------------------------|---------------------|-----|--------|-----|---------------------|-----|--------|-----|---------------------|------|--------|-----|-----------|-----|--------|-----|
| | | 1 st day | | | | 2 nd day | | | | 3 rd day | | | | LOQ | | 10x | |
| | | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% |
| perch muscle | emamectin benzoate B1a | 84.4 | 2.0 | 92.7 | 0.5 | 88.4 | 1.0 | 83.6 | 5.4 | 94.0 | 3.0 | 96.6 | 1.0 | 88.9 | 5.4 | 91.0 | 7.3 |
| | emamectin benzoate B1b | 80.8 | 8.5 | 93.5 | 3.8 | 94.4 | 8.8 | 90.1 | 5.5 | 96.0 | 2.1 | 102.3 | 1.1 | 90.4 | 9.2 | 95.3 | 6.6 |
| | emamectin | 84.3 | 1.9 | 92.7 | 0.5 | 88.5 | 1.0 | 83.7 | 5.4 | 94.0 | 3.0 | 96.7 | 1.0 | 89.0 | 5.5 | 91.1 | 7.3 |
| grouper muscle | emamectin benzoate B1a | 84.4 | 2.0 | 92.7 | 0.5 | 93.2 | 1.9 | 89.7 | 1.4 | 80.8 | 1.4 | 89.4 | 1.1 | 86.1 | 7.4 | 90.6 | 2.0 |
| | emamectin benzoate B1b | 82.0 | 9.8 | 89.6 | 4.0 | 96.0 | 3.9 | 89.4 | 4.0 | 92.8 | 9.9 | 86.6 | 2.1 | 90.3 | 8.1 | 88.5 | 1.9 |
| | emamectin | 84.4 | 2.0 | 92.7 | 0.5 | 93.3 | 1.9 | 89.7 | 1.4 | 81.0 | 1.5 | 89.4 | 1.1 | 86.2 | 7.4 | 90.6 | 2.0 |
| tilapia muscle | emamectin benzoate B1a | 82.8 | 1.3 | 85.1 | 1.3 | 88.8 | 1.2 | 90.8 | 1.1 | 86.0 | 4.7 | 91.7 | 1.8 | 85.9 | 3.5 | 89.2 | 4.0 |
| | emamectin benzoate B1b | 76.4 | 5.7 | 89.2 | 1.4 | 92.0 | 4.3 | 97.5 | 2.8 | 85.6 | 15.9 | 97.6 | 2.9 | 84.7 | 9.3 | 94.8 | 5.1 |
| | emamectin | 82.7 | 1.3 | 85.2 | 1.3 | 88.9 | 1.3 | 90.9 | 1.1 | 86.0 | 4.8 | 91.8 | 1.8 | 85.8 | 3.6 | 89.3 | 4.0 |
| cobia muscle | emamectin benzoate B1a | 83.6 | 2.0 | 86.2 | 2.8 | 84.8 | 2.7 | 83.9 | 1.8 | 84.4 | 2.0 | 92.0 | 1.9 | 84.3 | 0.7 | 87.3 | 4.8 |
| | emamectin benzoate B1b | 82.8 | 4.4 | 85.9 | 4.1 | 81.6 | 4.7 | 87.5 | 3.3 | 87.6 | 7.6 | 98.1 | 2.2 | 84.0 | 3.8 | 90.5 | 7.3 |
| | emamectin | 83.6 | 1.9 | 86.2 | 2.8 | 84.7 | 2.6 | 84.0 | 1.8 | 84.5 | 2.0 | 92.2 | 1.8 | 84.3 | 0.7 | 87.4 | 4.9 |
| black seabream muscle | emamectin benzoate B1a | 93.6 | 1.8 | 89.2 | 1.0 | 86.8 | 1.3 | 86.0 | 1.8 | 102.8 | 1.7 | 96.7 | 1.5 | 94.4 | 8.5 | 90.6 | 6.0 |
| | emamectin benzoate B1b | 98.8 | 6.2 | 90.2 | 3.4 | 90.0 | 7.2 | 89.0 | 3.1 | 102.8 | 3.0 | 96.8 | 1.2 | 97.2 | 6.7 | 92.0 | 4.5 |
| | emamectin | 93.7 | 1.8 | 89.3 | 1.0 | 86.9 | 1.3 | 86.1 | 1.8 | 102.8 | 1.7 | 96.7 | 1.4 | 94.5 | 8.5 | 90.7 | 6.0 |

表八、金目鱸、石斑魚、吳郭魚、海鱸及黑鯛及肝臟基質之同日 (n=5) 及異日 (n=3) LOQ (50 ng/g) 及 10 倍 LOQ (500 ng/g) 回收率及變異係數

Table 8. Intra-day (n=5) and inter-day (n=3) recovery rates and coefficients of variation for emamectin benzoate in liver of perch, grouper, tilapia, cobia, and black seabream (LOQ: 50 ng/g; 10x LOQ: 500 ng/g)

| Matrix | Compound name | Intra-day | | | | | | | | | | | | Inter-day | | | |
|----------------------|------------------------|---------------------|-----|--------|------|---------------------|------|--------|-----|---------------------|-----|--------|-----|-----------|------|--------|------|
| | | 1 st day | | | | 2 nd day | | | | 3 rd day | | | | LOQ | | 10x | |
| | | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% | LOQ R% | CV% |
| perch liver | emamectin benzoate B1a | 77.0 | 4.0 | 75.4 | 4.2 | 90.0 | 1.8 | 90.0 | 1.4 | 101.0 | 1.9 | 89.5 | 1.5 | 89.3 | 13.4 | 85.0 | 9.7 |
| | emamectin benzoate B1b | 85.0 | 9.4 | 77.5 | 6.4 | 103.6 | 19.8 | 92.6 | 4.1 | 111.0 | 1.9 | 90.7 | 2.0 | 99.9 | 13.4 | 86.9 | 9.4 |
| | emamectin | 77.2 | 4.0 | 75.4 | 4.2 | 90.3 | 1.6 | 90.0 | 1.4 | 101.2 | 1.8 | 89.5 | 1.5 | 89.5 | 13.4 | 85.0 | 9.7 |
| grouper liver | emamectin benzoate B1a | 80.0 | 7.0 | 75.4 | 5.2 | 84.2 | 3.1 | 95.6 | 2.0 | 105.2 | 5.0 | 83.7 | 3.1 | 89.8 | 15.0 | 84.9 | 12.0 |
| | emamectin benzoate B1b | 82.0 | 7.7 | 77.6 | 6.2 | 83.4 | 5.8 | 98.3 | 1.9 | 107.4 | 5.0 | 87.8 | 1.6 | 90.9 | 15.7 | 87.9 | 11.8 |
| | emamectin | 80.0 | 7.0 | 75.4 | 5.2 | 84.2 | 3.1 | 95.6 | 2.0 | 105.2 | 5.0 | 83.8 | 3.1 | 89.8 | 15.0 | 84.9 | 12.0 |
| tilapia liver | emamectin benzoate B1a | 75.2 | 1.5 | 86.6 | 1.8 | 83.6 | 3.2 | 93.7 | 5.9 | 73.4 | 3.1 | 78.3 | 5.3 | 77.4 | 7.0 | 86.2 | 8.9 |
| | emamectin benzoate B1b | 83.6 | 2.2 | 86.0 | 1.6 | 93.8 | 3.1 | 92.6 | 4.3 | 85.6 | 6.8 | 80.3 | 6.4 | 87.7 | 6.2 | 86.3 | 7.2 |
| | emamectin | 75.4 | 1.5 | 86.6 | 1.8 | 83.8 | 3.2 | 93.6 | 5.9 | 73.6 | 3.2 | 78.3 | 5.3 | 77.6 | 7.0 | 86.2 | 8.9 |
| cobia liver | emamectin benzoate B1a | 97.8 | 3.5 | 99.8 | 12.4 | 73.2 | 3.9 | 83.3 | 6.9 | 99.8 | 3.8 | 82.6 | 3.2 | 90.3 | 16.4 | 88.6 | 11.0 |
| | emamectin benzoate B1b | 100.6 | 4.0 | 96.8 | 7.5 | 77.0 | 2.2 | 83.0 | 5.6 | 101.2 | 3.2 | 87.4 | 3.8 | 92.9 | 14.9 | 89.1 | 7.9 |
| | emamectin | 97.9 | 3.4 | 99.8 | 12.3 | 73.3 | 3.8 | 83.3 | 6.8 | 99.8 | 3.7 | 82.7 | 3.2 | 90.3 | 16.4 | 88.6 | 10.9 |
| black seabream liver | emamectin benzoate B1a | 82.6 | 3.3 | 77.5 | 4.3 | 79.6 | 2.4 | 83.5 | 6.9 | 105.0 | 4.2 | 91.8 | 1.7 | 89.1 | 15.6 | 84.3 | 8.6 |
| | emamectin benzoate B1b | 86.6 | 6.1 | 83.5 | 4.1 | 78.4 | 2.9 | 84.9 | 6.1 | 109.2 | 5.6 | 96.3 | 1.9 | 91.4 | 17.5 | 88.2 | 8.0 |
| | emamectin | 82.7 | 3.2 | 77.6 | 4.3 | 79.6 | 2.4 | 83.5 | 6.9 | 105.1 | 4.1 | 91.9 | 1.7 | 89.1 | 15.6 | 84.3 | 8.5 |

率試驗結果顯示，因滅汀於魚肉及肝臟中 LOQ 及 10 倍 LOQ 之回收率皆介於 70-120% 之間，且變異係數 $<20\%$ ，其線性回歸方程式之相關係數 (r) 皆 >0.99 ，符合衛生福利部食品藥物管理署公告之食品化學檢驗方法確效規範⁽¹⁵⁾，此方法之回收率、專一性、準確度及精密度均佳，可準確鑑別鱸形目代表魚種之可食組織 (含皮肌肉及肝臟) 之因滅汀。

國內現行公告 avermectin 類抗生素分析方法⁽¹³⁾為畜禽水產品中阿巴汀 (abamectin)、因滅汀 (emamectin) 等 6 品項抗生素，肌肉及內臟部分共需乙腈 35 mL、正己烷 40 mL 來萃取淨化，振盪離心時間至少需 27 分鐘，肌肉及肝臟之 LOQ 為 5 ng/g。另比對衛福部於 2024 年公布之建議檢驗方法國內禽畜產品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析方法 (二)⁽¹⁴⁾，該方法同樣採用 QuEChERS 方法處理畜禽產品之肌肉、內臟、脂肪、蛋類及乳，檢驗二·四地 (2,4-D) 及因滅汀 (emamectin benzoate B1a) 等 12 項農藥，此建議方法在肌肉及內臟等動物組織之因滅汀 (emamectin benzoate B1a) LOQ 為 10 ng/g。而本研究開發之因滅汀 (emamectin benzoate B1a 及 B1b) 檢測方法使用 QuEChERS 方法，以乙腈 10 mL 萃取淨化，振盪離心時間僅需 16 分鐘，肌肉之 LOQ 為 5 ng/g、肝臟之 LOQ 為 50 ng/g。比較本研究方法與 avermectin 類抗生素分析方法及多重殘留分析方法 (二) 之主要差異如下：1. QuEChERS 方法可節省近

1/2 之時間及約 1/7 有機溶劑使用量；2. 肌肉之 LOQ 雖可達 5 ng/g，因同時檢驗 emamectin benzoate B1a 及 B1b，在 emamectin benzoate B1b 佔比低考量下，肝臟 LOQ 只能達到 50 ng/g；3. 本方法為專為水產品之檢驗方法，比較如表九所示。經查詢 Codex、美國、加拿大及歐盟等國家或組織於有鱈魚類或鮭鱒類肌肉之因滅汀 (emamectin benzoate B1a) 殘留容許量皆為 100 ng/g，但國內外魚類內臟均未擬定相關殘留容許量標準，故本分析方法於鱸形目魚類體內因滅汀殘留量之檢驗具有相當應用價值，未來可應用於養殖鱸形目魚類的因滅汀魚體殘留消退試驗或不當使用導致的動物體內殘留藥物檢驗分析等研究。

謝辭

本研究承蒙農業部漁業署挹注經費執行科技計畫 110-113 年度因滅汀在於鱸形目代表魚種之因滅汀殘留效應評估計畫 (110 農科-6.4.1-藥-P1(1)、111 農科-6.2.1-藥-P1(1)、112 農科-6.2.1-藥-P2(2)及 113 農科-6.2.1-藥-02(1))，及農業部農業藥物試驗所殘留管制組同仁協助試驗執行，謹致謝忱。

表九、比較 avermectin 類抗生素分析方法、多重殘留分析方法 (二) 及本研究開發之方法
Table 9. Comparison of test of avermectins, multiresidue analysis (2), and the developed method in this study

| | Test of avermectins ⁽¹³⁾ | Multiresidue analysis (2) ⁽¹⁴⁾ (QuEChERS) | Development method in this study (QuEChERS) |
|-------------------------------|---|--|--|
| Sample type | Livestock, poultry, and aquatic products – muscle, organs, and milk | Livestock and poultry products - muscle, organs, fat egg, and milk | Aquatic products – muscle and liver |
| Emamectin homolog | emamectin (unlabeled B1a or B1b) | emamectin benzoate B1a | emamectin benzoate b1a emamectin benzoate B1b |
| LOQ | 5 ng/g | 10 ng/g | muscle: 5 ng/g、liver: 50 ng/g |
| Organic solvents | acetonitrile: 35 mL n-hexane: 40 mL | acetonitrile: methanol (4:1) 10 mL | acetonitrile: 10 mL |
| Time of vortex and centrifuge | 27 min | 15 min | 16 min |

引用文獻

1. 行政院農業委員會(現農業部)。2019。動物用藥品使用準則第 3 條條文附件一。農防字第 1081471301 號令修正。
2. 林玠如、邢湘琳、吳豐成。2018。水產抗蟲天然物的發展現況與展望。水試專訊 63：31-36。
3. 涂青宇、徐慈鴻、謝嘉裕。2023。國際養殖魚類抗寄生蟲用藥現況之簡介。臺灣農藥科學 14：55-85。
4. 陳文深、邱文毓、余俊賢、林家萍、陳柔安、蔡蕙宇、王淑欣 編。2019。中華民國漁業簡介。農業部漁業署。高雄。32 頁。
5. 詹勳隆。2014。水產動物新增藥品品目之殘留試驗。獸醫專訊 9：37-49。
6. 農業部。2024。因滅汀(emamectin benzoate)農藥有效成分檢驗方法。農授防字第 1131876289B 號修正。
7. 農業部。2023。農業統計年報(111 年)。檢自 <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx> (Jun. 11, 2024)
8. 農業部動植物防疫檢疫署。2024。動物用藥品資訊服務網。動物用藥品許可證查詢。檢自 <https://amdru2.aphia.gov.tw/license-query> (Jun. 18, 2024)
9. 劉文御 編。2003。養殖水產生物病害防治。行政院農業委員會水產試驗所(現農業部水產試驗所)。基隆。193 頁。
10. 劉富光。2016。臺灣水產養殖的永續經營。行政院農業委員會水產試驗所(現農業部水產試驗所)。基隆。141 頁。

11. 劉朝鑫。2011。新修正水產動物用藥品使用規範簡介。獸醫專訊 4：8-10。
12. 劉朝鑫。2015。獸醫師使用抗寄生蟲劑的原則。獸醫專訊 11：20-27。
13. 衛生福利部。2013。食品中動物用藥殘留量檢驗方法－Avermectin 類抗生素之檢驗。部授食字第 1021950070 號。
14. 衛生福利部食品藥物管理署。2024。檢驗方法查詢：禽畜產品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析方法(二)(TFDAP0028.00)。檢自 <https://consumer.fda.gov.tw/Food/TestingDetail.aspx?nodeID=1037&id=8545> (Apr. 18, 2025)
15. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。食品化學檢驗方法之確效規範。檢自 <https://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=4115> (Jun. 18, 2024)
16. 韓玉山、黃怡誠、黃振庭、張以杰、許翔奕、張芳齊、陳石崇。2021。水產養殖疾病防治及用藥。水產概論(電子書)，第 198-211 頁。韓玉山、黃怡誠編。國立臺灣大學出版中心。臺北。
17. Armstrong, R., MacPhee, D., Katz, T., and Endris, R. 2000. A field efficacy evaluation of emamectin benzoate for the control of sea lice on Atlantic salmon. *Can Vet J.* 41: 607-612.
18. Benson, V., Aldous, E., and Clementson, A. 2017. Review of environmental quality standards for emamectin benzoate. Retrieved from <https://www.sepa.org.uk/media/299675/wrc-uc12191-03-review-of-environmental-qualitystandard-for-emamectin-benzoate.pdf> (Jun. 1, 2024)
19. Bowker, J. D., Carty, D., and Bowman, M. P. 2012. The safety of SLICE (0.2% emamectin benzoate) administered in feed to fingerling rainbow trout. *N. Am. J. Aquac.* 75: 455-462.
20. Bowker, J. D., Carty, D. G., Wandelaar, N., Schaffer, J., Swee, W., and LaPatra, S. E. 2012. Efficacy of SLICE premix (0.2% emamectin benzoate) for reducing infestations of *Salmincola* spp. on freshwater-reared rainbow trout. *N. Am. J. Aquac.* 74: 428-437.
21. BSI Standards Limited. 2018. European standard. Foods of plant origin-multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-Modular QuEChERS-method. EN 15662: 2018.
22. Kotob, M. H., Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Abdelzاهر, M., and El-Matbouli, M. 2016. The impact of co-infections on fish: A review. *Vet. Res.* 47: 98.
23. Official Journal of the European Communities. 2002. Commission decision. 2002/657/EC.
24. Olsvik, P. A., Lie, K. K., Mykkeltvedt, E.,

- Samuelsen, O. B., Petersen, K., Stavrum, A. K., and Lunestad, B. T. 2008. Pharmacokinetics and transcriptional effects of the anti-salmon lice drug emamectin benzoate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *BMC Pharmacol.* 8: 16.
25. Ramstad, A., Colquhoun, D. J., Nordmo, R., Sutherland, I. H., and Simmons, R. 2002. Field trials in Norway with SLICE® (0.2% emamectin benzoate) for the oral treatment of sea lice infestation in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Org.* 50: 29-33.
26. Shinn, A. P., Pratoomyot, J., Bron, J., Paladini, G., Brooker, E., and Brooker A. 2015. Economic impacts of aquatic parasites on global finfish production. *Glob. Aquac. Advocate.* 58-61.
27. St-Hilaire, S., Cheng, T. H., Chan, S. C. H., Leung, C. F., Chan, K. M., Lim, K. Z., Furtado, W., and Gomes, G. B. 2021. Emamectin benzoate treatment of hybrid grouper infected with sea lice in Hong Kong. *Front. Vet. Sci.* 8: 646652.
28. St-Hilaire, S., Price, D., Noftall, S., Boyce, B., and Morrison, D. 2019. Evaluating the concentration of emamectin benzoate in Atlantic salmon tissues after sea lice treatments. *Aquaculture* 498: 464-469.
29. UNEP/FAO (United Nations Environment Programme and Food and Agriculture Organization). 2013. Annex III Chemicals. Retrieved from <http://www.pic.int/TheConvention/Chemicals/AnnexIIIChemicals/tabid/1132/language/en-US/Default.aspx> (Jun. 20, 2024)

Development of an Analytical Method for Emamectin Benzoate Residues in Muscle and Liver of Major Perciformes Species in Taiwan

Yi-Ju Chen¹, Hui-Shan Chen¹, Tsyu-Horng Shyu¹, Ching-Yu Tu^{1*}

Abstract

Chen Y. J., Chen H. S., Shyu T. H., and Tu C. Y. 2025. Development of an analytical method for emamectin benzoate residues in muscle and liver of major Perciformes species in Taiwan. *Taiwan Pestic. Sci.* 19: 31-48.

The study developed a method to analyze the residue of emamectin benzoate, a veterinary drug with anti-parasitic efficacy for aquatic animals, in the muscle and liver of major Perciformes species. The muscle (with skin) and liver of five Perciformes samples, including perch, grouper, tilapia, cobia, and black seabream, were collected from a market in Taiwan. Following the addition of emamectin benzoate to the muscle and liver, the samples were purified using the EU QuEChERS procedure with acetonitrile, buffered salts, and dispersive solid phase extraction (dSPE) in a tube. The presence of emamectin benzoate residues in the edible tissues was then analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS). The results revealed that average intra-day recovery rates in muscle and liver ranged from 76.4-102.8% and 73.2-111.0%, respectively, and the coefficients of variation (CV) were <20%. For average inter-day recovery rates, the values in muscle and liver ranged from 84.0-97.2% and 77.4-99.9%, respectively, and the coefficients of variation (CV) were <20%. The limit of quantitation (LOQ) for emamectin benzoate in Perciformes muscle and liver was determined to be 5 ng/g and 50 ng/g, respectively. Thus, this method could be used to analyze emamectin benzoate residues in the edible tissue of Perciformes, specifically muscle and liver.

Key words: emamectin benzoate, Perciformes, LC-MS/MS, validation of analysis method

Accepted: August 8, 2025.

* Corresponding author, E-mail: cytu@acri.gov.tw

¹ Agricultural Chemicals Research Institute, Ministry of Agriculture, Taichung