

# 禽畜肉品中氟苯並咪唑氨基甲酸 ( flubendazole ) 檢驗方法之探討

施如佳 張美華 林玉含 鄭秋真 周薰修

## 第四組

### 摘要

本研究以高效液相層析法，建立豬肉、豬肝、雞肉、雞肝和雞蛋中氟苯並咪唑氨基甲酸 ( flubendazole ) 殘留量之檢驗方法。檢體以乙腈萃取，經過過濾，再以乙腈飽和之正己烷去除油脂、雜質及濃縮後，以 Bond Elut C18 樣品處理匣淨化，最後利用高效液相層析儀分析定量。所使用的液相層析管柱為 Luna 5 $\mu$  C18 (25 cm  $\times$  4.6 mm i.d., 5 $\mu$ m)，並採用乙腈與水 (7:13, v/v) 溶液為移動相溶液，以紫外光檢測器偵測。經添加 0.01、0.02 及 0.04 ppm flubendazole 標準品之回收試驗，結果，豬肉部份的回收率為 92.7~100.4%，變異係數介於 0.8~2.2%；豬肝的回收率為 97.7~100.4%，變異係數介於 0.6~2.1%；雞肉的回收率為 93.9~99.1%，變異係數介於 1.4~3.4%；雞肝的回收率為 91.6~102.0%，變異係數介於 1.4~5.1%；雞蛋於 0.02、0.04 及 0.08 ppm 的添加回收率為 93.3~95.3%，變異係數介於 0.5~2.0%。本方法檢體的最低檢出限量，除了雞蛋為 8 ppb 外，其餘均為 4 ppb。將此方法應用於市售豬肉、雞肉之殘留量分析，結果，20 件檢體均未檢出。

**關鍵詞：**動物用藥 (veterinary drug)、氟苯並咪唑氨基甲酸 ( flubendazole )、高效液相層析 ( High Performance Liquid Chromatography )。

### 前言

氟苯並咪唑氨基甲酸 ( flubendazole ) 是白色結晶性粉末，不易溶於水，為獸醫界和醫藥界廣泛使用的驅蟲藥，許多國家核准使用於飼料內投藥，可用於豬隻、家禽、狗、貓等動物之驅蟲<sup>(1)</sup>。flubendazole 是

Benzimidazole carbamate 類的化合物，具有驅絲蟲 (filarial parasites) 和腸蟲 (helminths parasitic worms) 等寄生蟲之功效，主要能中斷絲蟲 (尤其是 *Onchocerca volvulus*) 的胚胎發育、排空肝醣以及減少糖類輸送<sup>(2)</sup>。文獻顯示此類化合物對某些動物的胚胎有毒 (embryotoxic) 和致畸型胎 (tetratogenic)<sup>(3)</sup>

，因此訂定和管理禽畜肉品的限量是有其必要性。

行政院農委會於民國 85 年 11 月公告之「動物用藥使用手冊」中詳列 flubendazole 之使用動物種類、用法劑量、用途及停藥期等。但是如果飼養業者於飼料中添加過高用量、濫用及未能嚴格遵守停藥期之規定等，不僅容易產生抗藥性而浪費經濟資源，而且會導致藥物殘留於禽畜肉中，經由人體的攝食而影響人體健康，故對於這些殘留問題的管理，除了農政單位加強動物用藥使用者之管理與輔導外，衛生單位加強上市肉品之檢測與監控，亦可收相輔相成之效<sup>(4)</sup>。

行政院衛生署為防治動物用藥之濫用，於 86 年 4 月公告之「動物用藥殘留標準」，另於 89 年增列了包括 flubendazole 等多種動物用藥之殘留標準。其中規定豬肉和豬肝之殘留不得高於 0.01 ppm、於家禽類肌肉之殘留不得高於 0.2 ppm、於肝臟不得高於 0.5 ppm、於蛋中則不得高於 0.4 ppm。因此本研究為配合衛生標準之訂定的政策，進行禽畜肉品中 flubendazole 之檢驗方法探討。

## 材料與方法

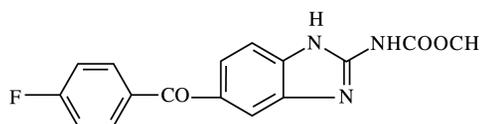
### 一、檢體來源

本研究所使用之檢體係 89 年 10 月至 11 月間購自台北地區各超級市場，其中豬肉和雞肉各 10 件。

### 二、試藥

#### (一)對照標準品：

氟苯並咪唑氨基甲酸 (flubendazole) 購自日本關東化學株式會社。其結構式如 (圖一) 所示。



化學名— Methyl 5-(4-fluorobenzoyl)-2-benzimidazolecarbamate

分子式—  $C_{18}H_{12}FN_3O_3$

分子量— 313.29

圖一、Flubendazole 之結構式

Fig. 1. Chemical structure of Flubendazole

#### (二)溶劑：

乙腈、正己烷、甲醇及正丙醇均購自德國 Merck 公司 (Darmstadt)，純度為 HPLC 級。

#### (三)樣品處理匣：

Bond Elut C18 樣品處理匣 (Bond Elut C18 cartridge)：C18 含量約 500 mg/3 mL，購自美國瓦里安(Varian)公司。

#### (四)液相層析管柱：

Luna 5 $\mu$  C18 (25 cm  $\times$  4.6 mm i.d., 5  $\mu$ m) 購自美國 phenomenax 公司 (Torrance, California 產品)。

### 三、儀器設備

(一)均質機 (ACE homogenizer)：日本 Nihonseiki 公司 (東京產品)。

(二)減壓濃縮裝置 (rotary evaporator)：瑞士 Buchi 公司 (Herisau 產品)。

(三)高效液相層析 (high performance liquid chromatograph) Shimadzu LC-10 AT 溶液輸出系統，配有紫外光/可見光檢測器 (Shimadzu SPD-10A)，日本 Shimadzu 公司 (京都產品)。

### 四、標準溶液之調製

(一)標準原液

精確稱取 flubendazole 標準品 100 mg，以甲醇溶解並定容至 1000 mL，供作標準原液。

標準溶液

精確量取上述標準原液以乙腈稀釋，配製成 0.2~5.0 µg/mL 之標準溶液備用。

## 五、分析方法

(一)萃取

豬肉、豬肝、雞肉、雞肝和雞蛋檢體均質後，取檢體約 5 g (雞蛋 2.5 g)，精確稱定，置於均質機中，加入乙腈 30 mL，攪拌均質 3 分鐘後，以布赫納氏漏斗抽氣過濾，再以乙腈 30 mL 充分洗滌攪拌均質機，洗液再經過濾，合併濾液，移入分液漏斗，加入乙腈飽和之正己烷 50 mL，振盪 5 分鐘。乙腈層移入濃縮瓶中，加入正丙醇 5 mL，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾。

(二) Bond Elut C18 樣品處理匣淨化

將上述檢體濃縮物以甲醇/水 (4/6, v/v) 溶液 10 mL 溶解，注入預先以甲醇/水 (4/6, v/v) 溶液 10 mL 潤洗之樣品處理匣，原濃縮瓶再以甲醇/水 (4/6, v/v) 溶液 5 mL 清洗三次，洗液亦注入樣品處理匣，棄流出液。原濃縮瓶再以甲醇/水 (8/2, v/v) 溶液 5 mL 清洗二次，洗液亦注入 C18 固相萃取匣沖提，收集沖提液，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，殘留物以甲醇溶解並定容至 1 mL，經濾膜過濾後，供作檢液，進行 HPLC 定量分析。

(三) HPLC 定量分析

1. HPLC 分析條件

(1)層析管柱：Luna 5µ C18 (25cm ×

4.6 mm i.d., 5µm) 美國 phenomenax 公司 (Torrance, California) 產品。

(2)移動相溶液：乙腈/水 (7:13, v/v)。

(3)檢測波長：313 nm。

(4)注入量：10 µL

2.標準曲線之製作

取 flubendazole 標準品依前述標準溶液之調製配成 0.02、0.05、0.2、0.5、1.0、2.5 及 5.0 µg/mL 七種濃度，精確量取各 10 µL，分別注入高效液相層析儀，依上述 HPLC 條件進行分析，由積分儀之波峰面積與濃度作圖，經回歸分析即可製成標準曲線。

(四)含量測定

精確取上述檢液及標準溶液各 10 µL，分別注入高效液相層析儀，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收光譜圖比較鑑別之，並由標準曲線中求得 flubendazole 之含量，計算式如下：

檢體中 flubendazole 的含量 (ppm)

$$= \frac{C \times V}{W}$$

C：由標準曲線中求得檢液中 flubendazole 濃度 (µg/mL)

V：檢液最後定容之體積 (mL)

W：取樣分析檢體之重量 (g)

## 六、回收試驗

取均質後豬肉、豬肝、雞肉、雞肝檢體 (5 g) 及雞蛋檢體 (2.5 g)，分別添加 0.05、0.10 及 0.20 µg/mL flubendazole 標準溶液各 1mL，每一添加量作三重複，同時作空白試驗，依前述分析方法操作，經 HPLC 定量後，與原來已知標準溶

液濃度比較，即可計算出回收率。

## 七、最低檢出量試驗

將檢體分別添加各種濃度之標準溶液，依前述方法進行測試。以訊號/雜訊比 (S/N ratio) 大於 3 作為判定基準，估算其最低檢出量。

## 結果與討論

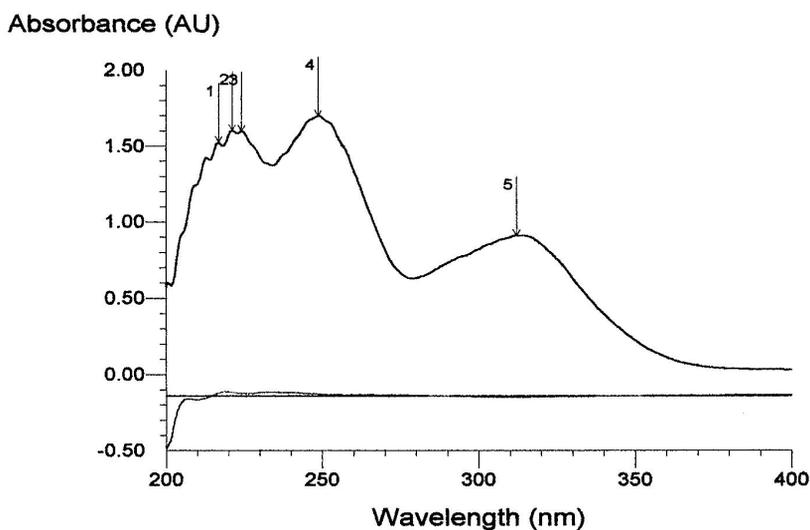
### 一、高效液相層析條件之探討

#### (一) 最適偵測波長之選擇

根據文獻，一般對於 Benzimidazole 類驅蟲藥的檢驗，可採用紫外光分光光度計<sup>(5)</sup>或以附紫外光檢測器、螢光檢測器之高效液相層析法<sup>(3,6,7,8,9,10)</sup>分析，故本研究首先以紫外光分光光度計對

flubendazole 進行最適偵測波長的掃描。

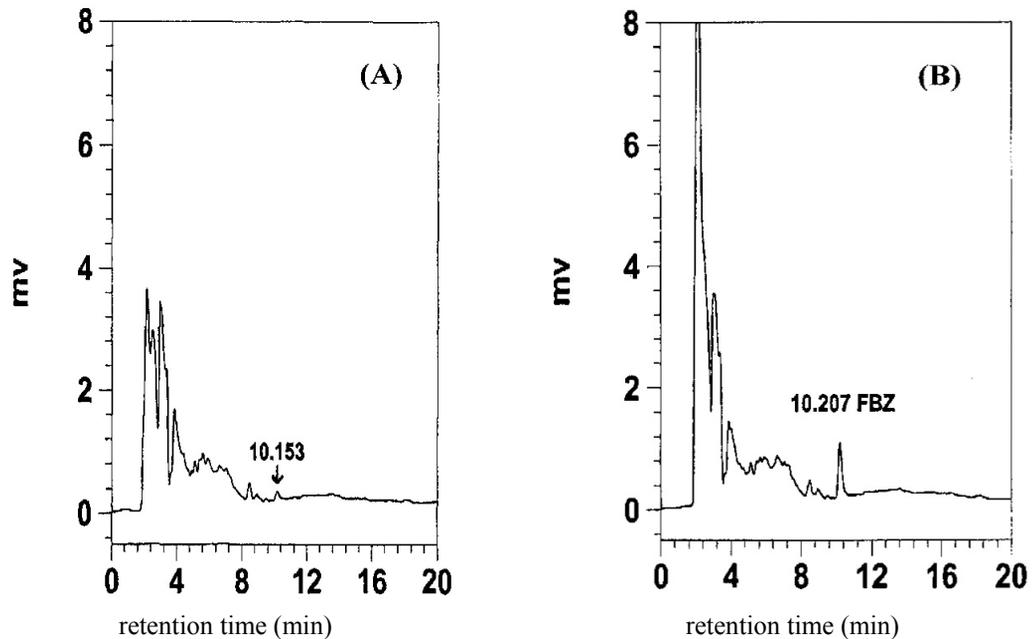
(圖二) 為 flubendazole 以紫外光分光光度計於波長 200~400 nm 之區間偵測所得之吸收圖譜。由圖譜顯示，flubendazole 在 250 nm 及 313 nm 附近各有極大吸收值。學理上 aromatic rings (如苯環和芳香雜環)  $\pi$  鍵間的電子轉移在 250 nm 波長附近會有能量吸收，可能將造成干擾<sup>(11)</sup>。(圖三) 便是添加標準品至雞肉檢體時，以波長 250 nm 檢測時所發現的基質干擾，而在 313 nm 波長則無此現象。Marti 等人<sup>(3)</sup>也提到在 UV 250 nm 波長偵測動物用藥時，其移動相本身就會有吸收。因此 flubendazole 在 250 nm 的吸收波峰值雖高於 313 nm 的吸收波峰，本研究仍選擇 313 nm 為最適之偵測波長。



圖二、Flubendazole 標準品溶於甲醇之紫外光吸收圖譜

Fig. 2. UV-absorption spectrum of Flubendazole in methanol.

(1).217 nm (2).222nm (3).225 nm (4).250nm (5). 313nm.



圖三、在波長 250nm 空白檢體出現之基質干擾高效液相層析圖譜

Fig. 3. HPLC chromatograms of matrix effect of the blank sample at 250 nm.

(A). Blank sample (B). flubendazole spiked into sample

## (二)移動相之確定

文獻中有關 flubendazole (Benzimidazole 類) 動物用藥的分析方法，大部分是多重殘留分析方法，因此其移動相溶液大都採用梯度式<sup>(8)</sup>或調整離子強度的緩衝溶液<sup>(3)</sup>。因此本研究參考村山和齋藤<sup>(9)</sup>的分析單一 flubendazole 液相層析條件，以乙腈/去離子水 (7:13) 當作移動相溶液，經注入不同濃度之標準品溶液後，均可得到穩定和極佳的波峰，因此本研究乃選擇此為移動相溶液。本研究亦嘗試調整乙腈和水的比例為 8:13 測試，結果分析時間減少，但用於分析

添加標準品的檢體溶液時分離效果較差，僅可當例行性的篩檢工作用。

## 二、前處理之探討

### (一)溶媒萃取之探討

文獻上對於禽畜肉中 flubendazole 動物用藥之前處理，大多先以乙酸乙酯<sup>(9)</sup>、乙腈<sup>(3,10)</sup>或甲醇/乙腈/偏磷酸溶液<sup>(8)</sup>萃取後，再經 Sep-pak Alumina A 樣品處理匣或 C18 樣品處理匣進行固相萃取等淨化步驟。高等人<sup>(4)</sup>指出以甲醇/偏磷酸溶液或乙腈/偏磷酸溶液為萃取溶媒時，會造成減壓濃縮費時較長，且於往後

固相萃取淨化步驟中，較易阻塞管柱，增加操作之困擾。因此本研究針對乙酸乙酯、乙腈進行實驗後發現，乙酸乙酯會將檢體中的油脂大量萃取出來，即使再經正己烷液處理都無法完全去除，結果造成干擾和回收不穩定的現象。若以乙腈作為萃取溶媒，則無上述現象，而且再經乙腈飽和之正己烷溶液可去除多餘的脂質和油性雜質，故本研究選擇乙腈為最佳萃取溶媒。

### (二) 淨化條件之探討

將檢體以乙腈萃取，經乙腈飽和之正己烷溶液脫脂後，直接以 HPLC 分析，發現肉類檢體的 HPLC 圖譜雜質干擾較少，但肝臟類檢體則因肝臟是生物體的物質代謝中樞，具有氧化還原、解毒、轉變、排泄等多種作用，因此其中含有許多酵素、蛋白質、荷爾蒙等複雜成份，極易造成干擾而無法判別定量，因此須將萃取物淨化處理。

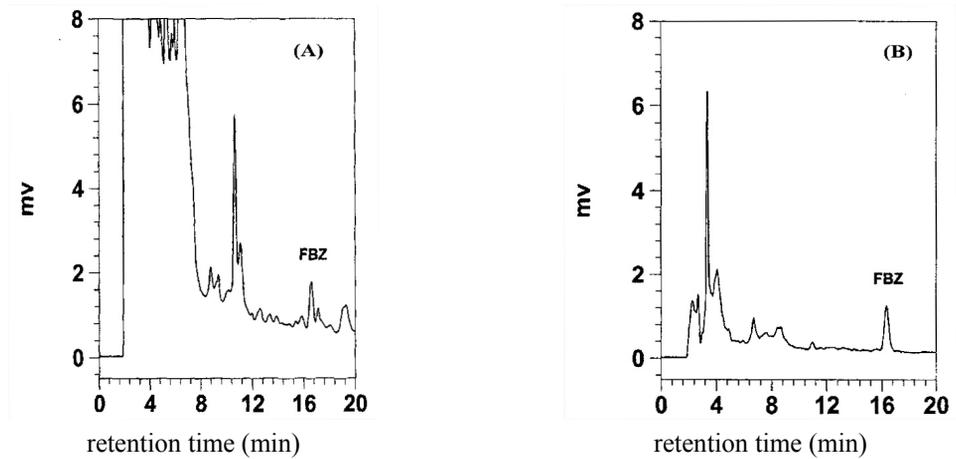
村山和齋藤<sup>(9)</sup>提出以 Sep-pak Alumina A 樣品處理匣淨化檢體，其回收可達 80% 以上。經初步實驗發現，添加高濃度 flubendazole 標準品 (1.0 ppm) 至雞肉檢體進行回收試驗，回收率可達 88.4-96.6% (三重複)，但是在低濃度標準品添加回收試驗時卻發現回收不穩且不佳。根據多次測試發現 Sep-pak Alumina A 樣品處理匣無法完全吸附 flubendazole，此現象在高濃度時影響不

大，但對低濃度檢測及最低偵測極限的建立有很大的影響。故必須重新選擇其他淨化方式。

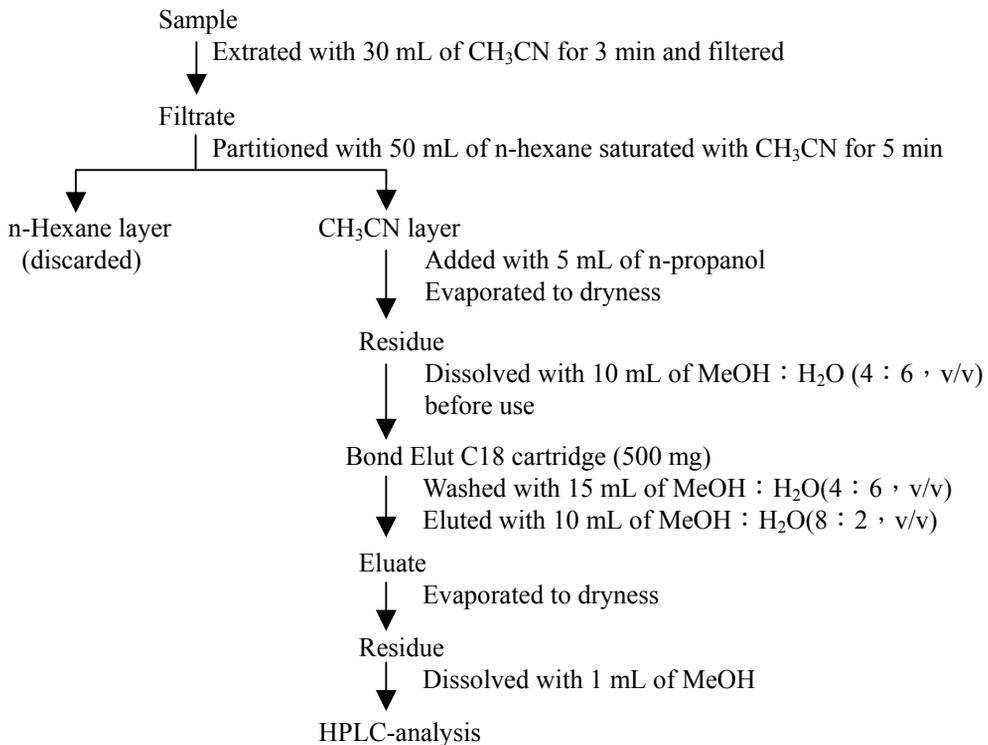
Marti 等人<sup>(3,10)</sup>以 C18 管柱淨化肉類檢體，村山和齋藤<sup>(9)</sup>也提到對於肝臟等基質干擾嚴重的檢體，除了以 Alumina-A 樣品處理匣淨化外，會再輔以 C18 樣品處理匣加強淨化效果。而 Horie 等人<sup>(8)</sup>曾對於日本市售的不同品牌 C18 樣品處理匣進行多種動物用藥的淨化試驗，結果發現添加 0.1 ppm flubendazole 之標準品至豬肉檢體，並以 C18 的樣品處理匣淨化時均能有穩定且良好的回收效果 (90% 以上)。

### (三) 沖提液之選擇

一般 C18 樣品處理匣處理過程是先以甲醇活化、水洗，最後改變沖提液極性將所要的物質沖提出來。本研究參考 Hsu 等人<sup>(12)</sup>、高等人<sup>(4)</sup>的沖提條件，經再三修改測試後，發現將檢體濃縮物以甲醇/水 (4/6, v/v) 溶液 10 mL 溶解，注入預先以甲醇/水 (4/6, v/v) 溶液 10 mL 潤洗之樣品處理匣，最後再以甲醇/水 (8/2, v/v) 溶液 15 mL 沖提等淨化步驟，不僅能將雜質干擾明顯降低 (尤其是肝臟類)，而且也不會妨礙回收效果。因此基於上述探討，本研究乃採用具最佳回收率的 C18 (Bond Elut) 為最佳樣品處理匣 (圖四)。本檢驗方法的整個操作流程如 (圖五)。



圖四、雞肝中添加 flubendazole 標準品 0.04 ppm 以 C18 處理匣淨化前後之高效液相層析圖譜  
 Fig. 4. HPLC chromatograms of flubendazole 0.04 ppm spiked into chicken liver samples and cleaned up with C18 cartridge. (A). before clean-up (B).after clean-up



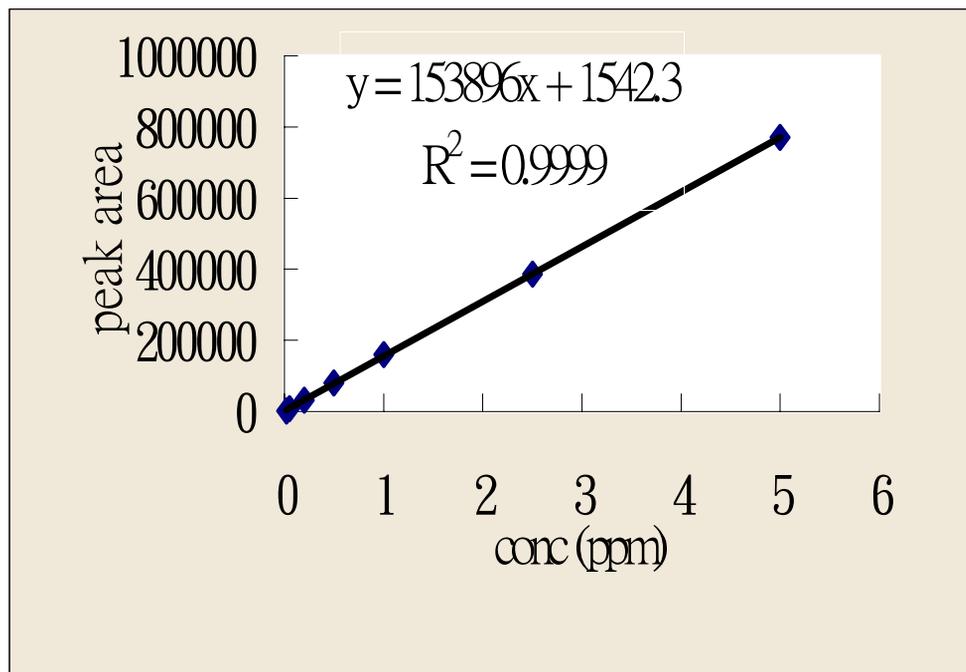
圖五、檢液製備的流程圖

Fig.5. Analytical procedure of Flubendazole in meat samples.

### 三、標準曲線之製作及添加回收試驗

將 flubendazole 標準品依前述標準曲線製作方法繪製得標準曲線 ( $y=153896x +$

1542.3)，其線性迴歸係數 ( $r^2$ ) 為 0.9999，表示 flubendazole 在 5 ug/mL 內之濃度與波峰面積有良好之正比例關係 (圖六)。



圖六、Flubendazole 之標準曲線圖  
Fig. 6. Standard curves of Flubendazole

將豬肉、豬肝、雞肉及雞肝檢體均質絞碎後各取約 5 g，精確稱定，分別添加 0.05、0.10 及 0.20 ppm 之 flubendazole 標準品，每一添加量作三重複，同時作空白試驗，依本檢驗方法進行回收試驗，結果如 (表一) 所示。豬肉之回收率為 92.7~100.4%，變異係數為 0.8~2.2%；豬肝之回收率為 95.8~100.4%，變異係數為 0.6~2.1%；雞肉之回收率為 93.9~99.1%，變異係數為 1.4~3.4%；雞肝之回收率為 91.6~102.00%，

其變異係數為 1.4~5.1% 間；雞蛋檢體則是取全蛋，均質後精稱 2.5 g，分別添加 0.05、0.10 及 0.20 ppm 之 flubendazole 標準品，每一添加量也作三重複及空白試驗，依本檢驗方法進行回收試驗，結果回收率為 93.3~95.3%，變異係數為 0.5~2.0%。(圖七至圖十一) 分別為豬肉、豬肝、雞肉、雞肝及雞蛋之空白檢體及添加 flubendazole 標準品之回收試驗 HPLC 圖譜。

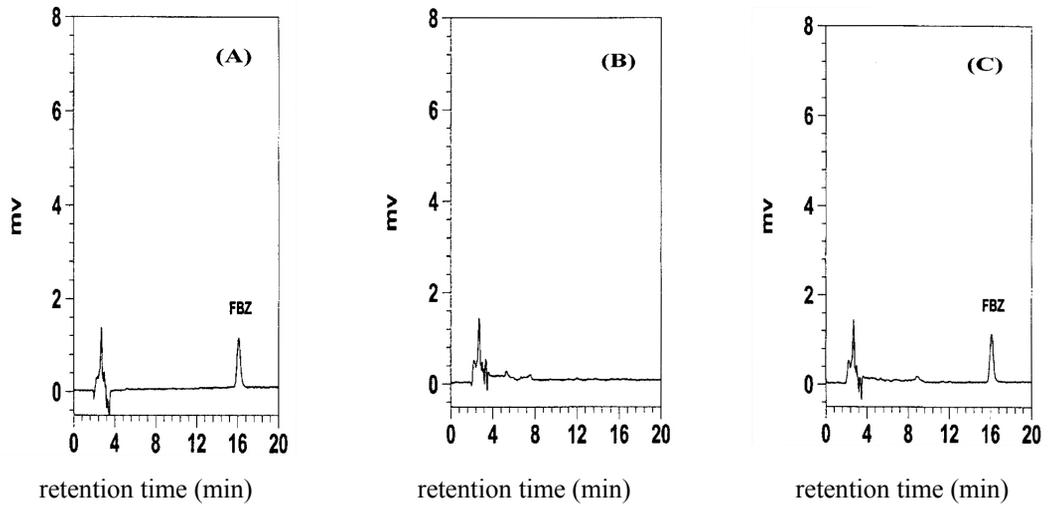
表一、豬肉、豬肝、雞肉、雞肝及雞蛋中添加 Flubendazole 之回收率

Table 1. Recoveries of flubendazole spiked into swine muscle, swine liver, chicken muscle, chicken liver, and egg

Sample	Spiked level (ppm)	Recovery <sup>a</sup> (%)
Swine muscle	0.01	100.4 (2.2) <sup>b</sup>
	0.02	93.2 (1.0)
	0.04	92.6 (0.8)
Swine liver	0.01	100.4 (0.6)
	0.02	95.8 (1.3)
	0.04	98.4 (3.4)
Chicken muscle	0.01	102.0 (3.4)
	0.02	97.6 (1.4)
	0.04	91.6 (5.1)
Chicken liver	0.01	95.3 (2.0)
	0.02	93.3 (1.0)
	0.04	93.4 (0.5)
Chicken egg	0.02	95.3 (2.0)
	0.04	93.3 (1.0)
	0.08	93.4 (0.5)

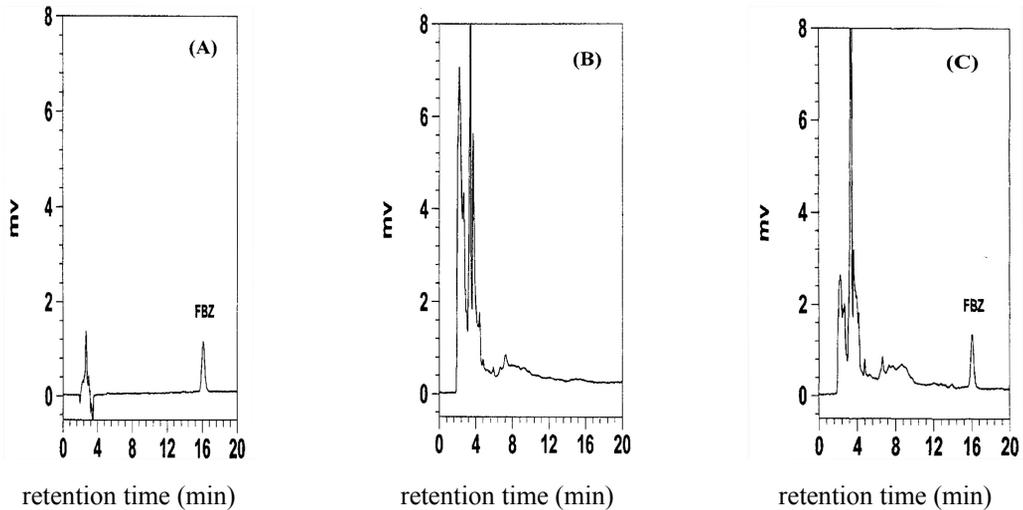
a: average of triplicate

b: value in the parenthesis is coefficient of variation (%)



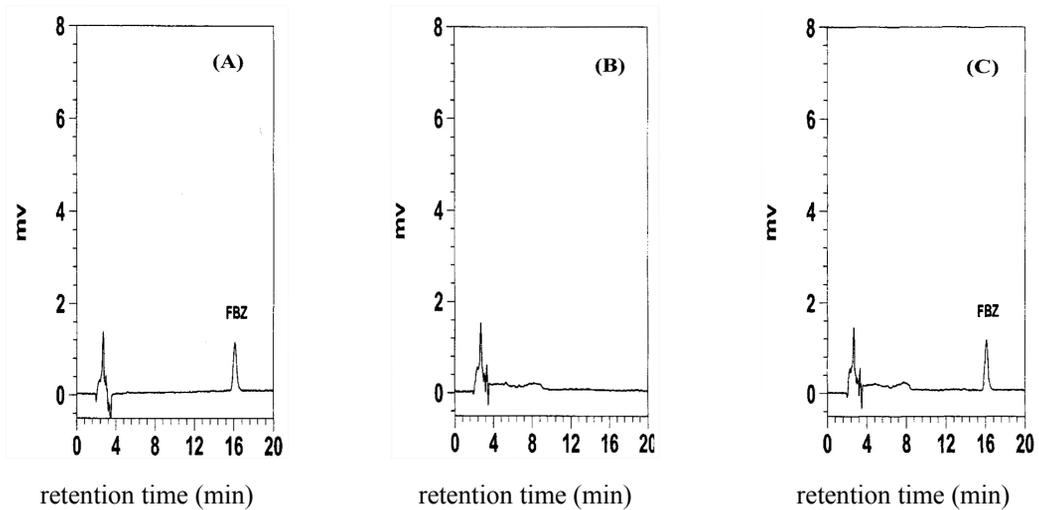
圖七、豬肉檢體中添加 0.04 ppm flubendazole 標準品 之高效液相層析圖譜 (A) flubendazole 標準品 (B)豬肉空白檢體 (C) flubendazole 添加於豬肉中

fig.7. HPLC chromatograms of (A). flubendazole standard at 0.04 ppm (B). swine muscle blank (C). swine muscle spiked with 0.04 ppm flubendazole



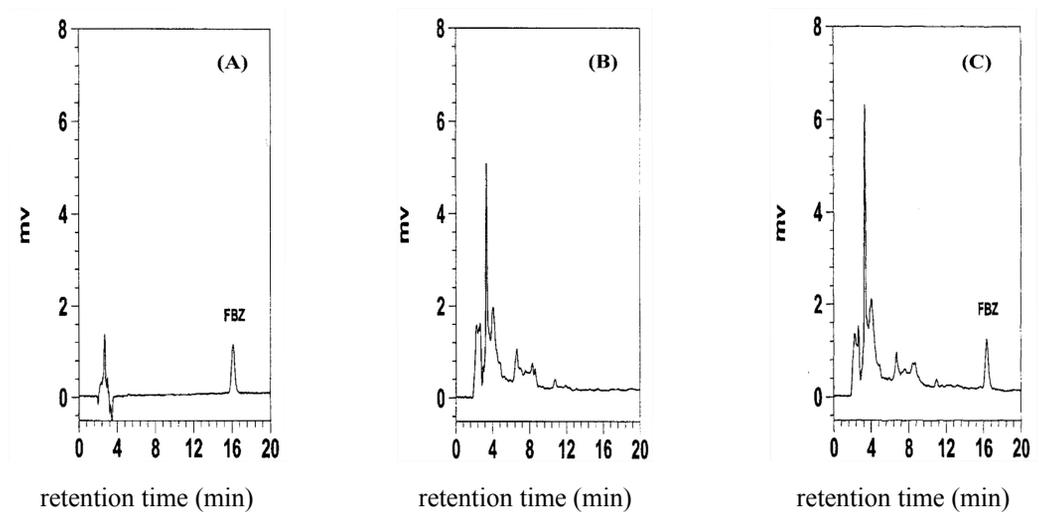
圖八、豬肝檢體中添加 0.04 ppm flubendazole 標準品 之高效液相層析圖譜 (A) flubendazole 標準品 (B)豬肝空白檢體 (C) flubendazole 添加於豬肝中

Fig. 8. HPLC chromatograms of (A). flubendazole standard at 0.04 ppm (B). swine liver blank (C). swine liver spiked with 0.04 ppm flubendazole



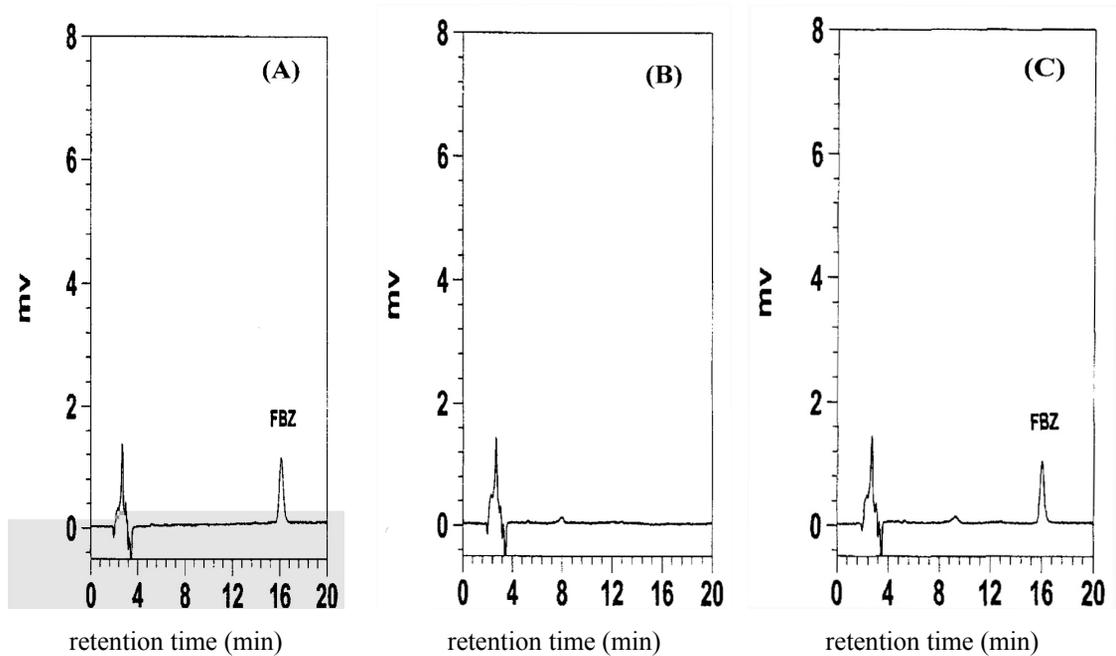
圖九、雞肉檢體中添加 0.04 ppm Flubendazole 標準品之高效液相層析圖譜(A)flubendazole 標準品 (B)雞肉空白檢體(C)flubendazole 添加於雞肉中

Fig. 9. HPLC chromatograms of (A). flubendazole standard at 0.04 ppm (B). chicken muscle blank (C). chicken muscle spiked with 0.04 ppm flubendazole



圖十、雞肝檢體中添加 0.04 ppm Flubendazole 標準品之高效液相層析圖譜(A)flubendazole 標準品 (B)雞肝空白檢體(C)flubendazole 添加於雞肝中

Fig. 10. HPLC chromatograms of (A). flubendazole standard at 0.04 ppm (B). chicken liver blank (C). chicken liver spiked with 0.04 ppm flubendazole

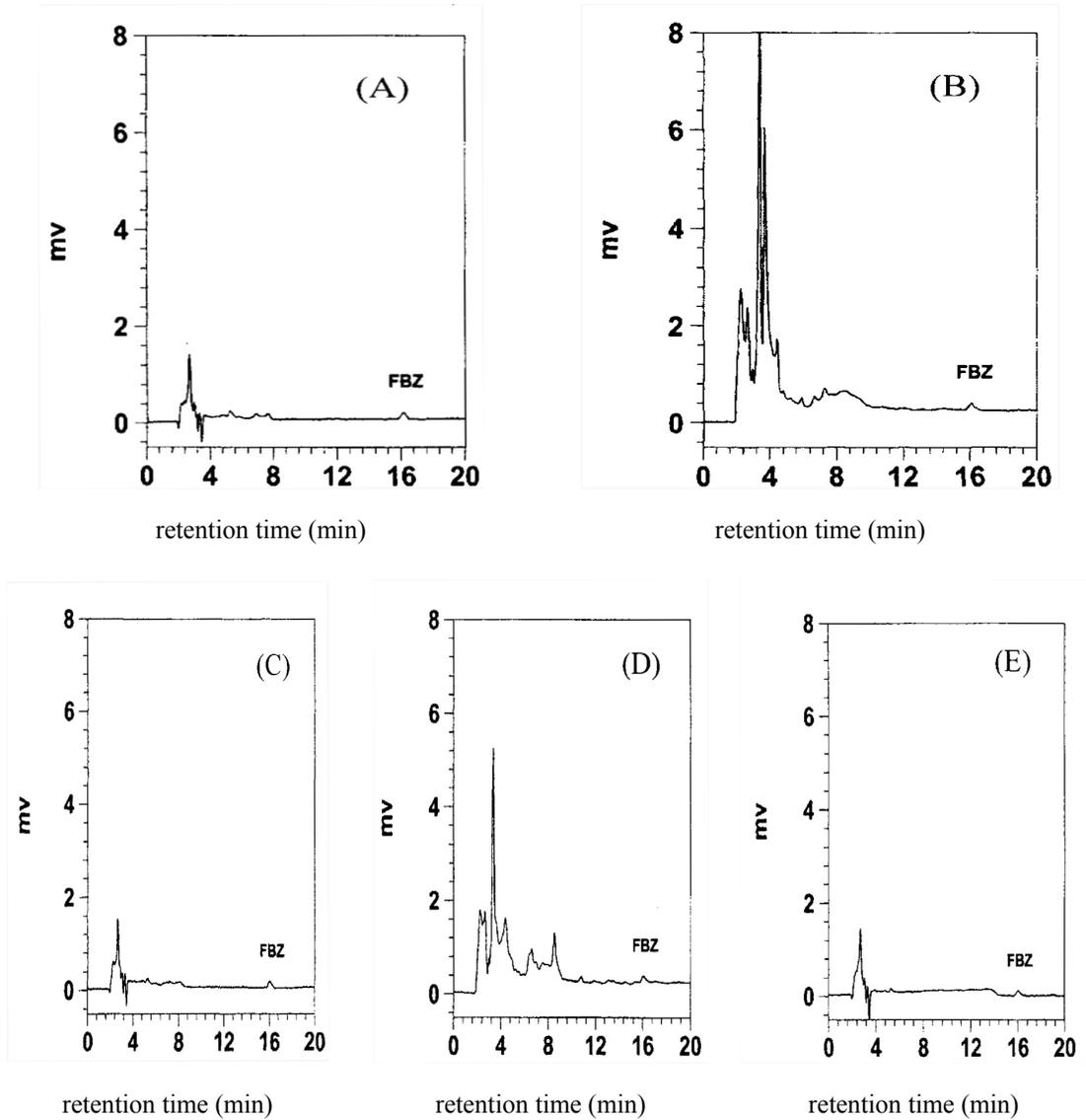


圖十一、雞蛋檢體中添加 0.08 ppm flubendazole 標準品之高效液相層析圖譜 (A) flubendazole 標準品 (B)雞蛋空白檢體 (C) flubendazole 添加於雞蛋中

Fig. 11. Chromatograms of (A). flubendazole standard at 0.08 ppm (B). egg blank (C). egg spiked with 0.08 ppm flubendazole

將豬肉、豬肝、雞肉、雞肝及雞蛋檢體添加各種濃度之 flubendazole 標準溶液，以本檢驗方法分析，當波峰高度為雜訊之 3 倍高時，檢體中 flubendazole 之含量為最低檢

出限量。經試驗結果，豬肉、豬肝、雞肉及雞肝檢體之最低檢出量為 4 ppb，雞蛋之最低檢出量為 8 ppb。（圖十二）為檢體中 flubendazole 最低檢出量之 HPLC 圖譜。



圖十二、檢體中 flubendazole 最低檢出量之高效液相層析圖譜

Fig. 12. HPLC chromatograms for detection limit of flubendazole.

(A) swine muscle spiked with 4 ppb flubendazole (B) swine liver spiked with 4 ppb flubendazole (C) chicken muscle spiked with 4 ppb flubendazole (D) chicken liver spiked with 4 ppb flubendazole (E) egg spiked with 8 ppb flubendazole.

#### 四、本研究建立之檢驗方法與相關文獻之比較

文獻上探討肉品中 flubendazole 檢驗方法的有村山和齋藤<sup>(9)</sup>的單一檢驗法和 Marti 等人<sup>(3)</sup>、Horie 等人<sup>(8)</sup>、Hitoshi 等人<sup>(10)</sup>之多重殘留方法。村山和齋藤<sup>(9)</sup>檢測豬肉、豬肝、雞肉、雞肝及雞蛋中 flubendazole 殘留量，是先以乙酸乙酯萃取，再經 Sep-pak Alumina A 樣品處理匣淨化，最後以高效液相層析儀配合紫外光檢測器分析。添加標準品於豬肉、豬肝、雞肉、雞肝的回收率在 83.9~95.4% 間；雞蛋部份添加 0.4 ppm 濃度之回收率為 90.6%，但 0.055 ppm 部份則僅有 78.2%，回收效果差。其所顯示之 HPLC 圖譜基線不平穩，雜質干擾多，而且波峰分離效果不佳。Marti 等人<sup>(3)</sup>提出以乙腈萃取，再以 C18 管柱淨化，配合高效液相層析儀偵測的檢驗流程，分析肝、腎和肉類檢體之多種動物用藥殘留。當添加 0.1 mg/kg flubendazole 標準品至肝、腎和肉類檢體中，其回收率分別是 70%、74% 及 73%；Horie 等人<sup>(8)</sup>分析禽畜肉和魚肉中包括 flubendazole 等 13 種動物用藥，先以 0.25% metaphosphoric acid-methanol-acetonitrile (6:2:2, v/v) 萃取，再以 Oasis HLB (60 mg) 的樣品處理匣淨化。結果添加 0.05 ppm flubendazole 標準品至牛肉、豬肉、雞肉中進行三重複回收試驗分別為 83.5±2.8%、81.3±3.3%、87.7±2.9%；Hitoshi 等人<sup>(10)</sup>分析豬肉和豬肝中包括 flubendazole 等 6 種 Benzimidazole 類的動物用藥，先以乙腈萃取，再以經乙腈飽之正己烷溶液去除雜質後，以 Sep-pak C18 管柱淨化，若檢體為肝臟則會再以 silica 管柱淨化。結果添加 1 ppm flubendazole 標準品至豬

肉和豬肝中進行五重複回收試驗分別為 90.3±4.6% 和 96.7±10.7%。但是該方法僅進行單一濃度的回收試驗，而且豬肝部份的回收變動較大。相較之下，本研究所建立的方法係以乙腈作為萃取溶媒，經乙腈飽之正己烷溶液去除油脂和雜質後，以 C18 樣品處理匣淨化，最後以 HPLC 定性定量，方法極為簡便，HPLC 圖譜之波峰形狀及分離效果極佳；而且添加標準品於五種檢體的回收率均可達 90% 以上，具有良好的精確性和再現性，本方法確具可行性，可作為衛生單位檢驗禽畜肉品中 flubendazole 之依據。

#### 五、市售禽畜肉品中 flubendazole 之殘留量調查

由台北市各超級市場抽購豬肉及雞肉檢體各 10 件，依本研究建立之方法檢測，結果均未檢出。依我國現行之「動物用藥殘留標準」規定，flubendazole 在豬肉和豬肝之殘留不得高於 0.01 ppm；於家禽類肌肉之殘留不得高於 0.2 ppm、於肝臟不得高於 0.5 ppm、於蛋中則不得高於 0.4 ppm，則此 20 件檢體均符合規定。

### 結 論

本研究探討豬肉、豬肝、雞肉、雞肝及雞蛋中 flubendazole 之檢驗方法。檢體中之 flubendazole 以乙腈萃取，經乙腈飽和之正己烷去除油脂、雜質後，經 C18 樣品處理匣淨化，最後以 HPLC 配合紫外光檢測器檢測分析。添加 flubendazole 於五種檢體之回收率分別介於 91.6~102.0% 之間。最低檢出量除雞蛋為 8 ppb 外，其次均為 4 ppb。本檢驗方法檢驗過程簡單，分析時間短而且精確性和再現性均極佳，可以廣泛用於定性定量禽畜

肉品中之 flubendazole 之殘留。因本研究主要是建立禽畜肉品中 flubendazole 之快速精確分析方法，因此調查部份僅抽驗北部地區之禽畜肉品檢體，如欲了解全國禽畜肉品中 flubendazole 的殘留情形，尚待進一步市售品之全面性抽驗。

### 參考文獻

1. 高清澤。1898。豬鏈球菌診斷和 Flubendazole 驅蟲藥效果之新知研究和探討。現代養豬 11 (2) : 63-70。
2. Vande Waa. E.A. 1991. Chemotherapy of filariases. Parasitology Today 7 (8) :194-199.
3. Marti A. M., Mooser A. E., and Koch H. 1990. Determination of benzimidazole anthelmintic in meat samples. Journal of Chromatography 498 : 145-157.
4. Kao Ya-Min, Chang Mei-Hua, Cheng Chieu-Chen and Chou Shin-Shou. 2001. Multiresidue determination of veterinary drugs in chicken and swine muscles by high performance liquid chromatography. Journal of Food and Drug Analysis 9 (2): 84-95.
5. Mohamed M. Y., El-Gendy A. E., El-Bardicy M. G., Tawakkol M. S. and Ahmad A.K.S.. 1996. Flow injection analysis of pharmaceutical compounds. Spectroscopy Letters 29 (2): 299-319.
6. Ramanathan S., Nair N.K., Mansor S.M. and Navaratnam V. 1993. Determination of a new antifilarial drug, UMF-058, and mebendazole in whole blood by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography 615: 303-307.
7. Gabor Baliz. 1999. Determination of benzimidazole residues using liquid chromatography and tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography B 727: 167-177.
8. Horie M, Yoshida T, Saito K, Nakazawa. 1998. Rapid screening method for residual veterinary drugs in meat and fish by HPLC. Shokuhin Eiseigaku Zasshi 39(6):383-389.
9. 村山三德、齋藤行生，1996。畜水產食品中殘留動物用醫藥品試驗法(2)。食品衛生研究 46 (4) : 53-65。
10. Hitoshi M., Shigeyoshi C., and Kyozo S. 1996. Detection of benzimidazole anthelmintics by high performance liquid chromatography. Nippon Juishikai Zasshi. 49 (3) :191-194.
11. 游瑞成。1987。有機光譜學。第三版。290 頁。徐氏基金會，台北。
12. Hsu Shih-Shien, Covey Thomas R., and Henion Jack D.. 1987. Determination of trenbolone in bovine liver and muscle by HPLC and LC/MS/MS. Journal of Liquid Chromatography 3033-3045.

# Determination of Flubendazole in Swine muscle, Swine liver, Chicken muscle, Chicken liver, and Egg by High Performance Liquid Chromatography

Ru-Chia Shih, Mei-Hua Chang, Yu-Han Lin, Chieu-Chen Cheng and Shin-Shou Chou

Division of Food Chemistry

## ABSTRACT

A simple and sensitive detection method based on C18 reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC) with UV-detection at 313 nm was presented for the residual determination of flubendazole in swine and chicken muscle, swine and chicken liver, and egg. Flubendazole was extracted from samples with acetonitrile, then filtered. The extract was partitioned with n-hexane, evaporated to dryness, and then cleaned up through C18 cartridge before quantitatively determined by HPLC. Flubendazole was analyzed by HPLC on a column of Luna 5 $\mu$  C18 (25cm  $\times$  4.6 mm i.d., 5 $\mu$ m) using acetonitrile/ water (7/13, v/v) as eluent, and determined by UV detector. The average recoveries of flubendazole spiked into samples at the levels of 0.01, 0.02, and 0.04 ppm were in the range of 92.7~100.4% for swine muscle, 97.7~100.4% for swine liver, 93.9~99.1% for chicken muscle, 91.6~102.0% for chicken liver respectively. Similarly spiking into egg at the levels of 0.02, 0.04, and 0.08 ppm were in the range of 93.3~95.3%. Coefficients of variation were less than 5.1%. The detection limits were 4 ppb in all tissue samples but was 8 ppb for egg. No residue of flubendazole was detected in twenty samples which were purchased from various supermarkets in Taiwan.

Key words: veterinary drug, flubendazole, high performance liquid chromatography.