

食品中動物用藥殘留量檢驗方法—多重殘留分析
Method of Test for Veterinary Drug Residue in Foods-
Test of Multiresidue Analysis

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於雞肉及豬肉中之氯吡啶(clopidol)、磺胺嘧啶(sulfadiazine)、磺胺噻唑(sulfathiazole)、磺胺甲基嘧啶(sulfamerazine)、歐美德普(ormethoprim)、磺胺二甲基嘧啶(sulfamethazine)、富來頓(furazolidone)、磺胺一甲氧嘧啶(sulfamonomethoxine)、磺胺噁唑(sulfamethoxazole)、衣索巴(ethopabate)、磺胺奎林(sulfaquinoxaline)及磺胺二甲氧嘧啶(sulfadimethoxine) 12種動物用藥多重殘留分析。
2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高相液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Luna C18，5 μ m，內徑 4.6 mm $\times$ 25 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.3. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.1.4. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.5. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.1.6. 離心機(Centrifuge)。
 - 2.1.7. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.2. 試藥：乙腈及甲醇均採用液相層析級；正己烷、磷酸二氫鈉(sodium phosphate monobasic)及磷酸氫二鈉(sodium phosphate dibasic)均採用試藥特級；氯吡啶、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、歐美德普、磺胺二甲基嘧啶、富來頓、磺胺一甲氧嘧啶、磺胺噁唑、衣索巴、磺胺奎林及磺胺二甲氧嘧啶 12種對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 抽氣瓶：250 mL。
 - 2.3.2. 容量瓶：100 mL，褐色。
 - 2.3.3. 布赫納漏斗(Buechner funnel)：直徑 8 cm。
 - 2.3.4. 分液漏斗：250 mL。

2.3.5. C_{18} 過濾層析匣(Sep-Pak C_{18} cartridge)：500 mg。

2.3.6. 濃縮瓶：250 mL、500 mL。

2.3.7. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，Nylon 材質。

2.4. 0.05 M 磷酸氫二鈉溶液之配製：

稱取磷酸氫二鈉 7.1 g，加水 950 mL 溶解，並加水使成 1000 mL。

2.5. 0.05 M 磷酸鹽緩衝溶液之配製：

稱取磷酸二氫鈉 6.0 g，加水溶解，並加水使成 1000 mL，以 0.05 M 磷酸氫二鈉溶液調整 pH 值至 5.1。

2.6. 移動相溶液之配製：

2.6.1. 移動相溶液 A：乙腈。

2.6.2. 移動相溶液 B：

0.05 M 磷酸鹽緩衝溶液，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。

2.7. 標準溶液之配製：

取對照用標準品富來頓、歐美德普、衣索巴、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺一甲氧嘧啶、磺胺噁唑、磺胺奎林及磺胺二甲氧嘧啶各約 100 mg，精確稱定，分別置於 100 mL 容量瓶中，以乙腈溶解並定容。另取氯吡啶約 100 mg，精確稱定，置於 100 mL 容量瓶中，以乙腈：水(1：1, v/v)溶液溶解並定容，作為標準原液，避光儲存於冰箱中。使用時再量取上述各標準原液共置於容量瓶中，以乙腈：0.05 M 磷酸鹽緩衝溶液(3：7, v/v)稀釋至 0.1~2.0 $\mu\text{g/mL}$ ，供作標準溶液。

2.8. 檢液之調製：

2.8.1. 萃取：

將檢體細切，以攪拌均質器均質後，取檢體約 5 g，精確稱定，置於均質機中，加入乙腈 50 mL，均質 3 分鐘後，抽氣過濾，殘渣再以乙腈 50 mL 同樣操作一次，合併濾液於分液漏斗中，加入以乙腈飽和之正己烷 30 mL，振盪 5 分鐘。乙腈層移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾涸，殘留物以 0.05 M 磷酸鹽緩衝溶液 20 mL 溶解，供作淨化用。

2.8.2. 淨化：

取 2.8.1. 節之淨化用溶液，注入預經甲醇 10 mL 活化，再以 0.05 M 磷酸鹽緩衝溶液 10 mL 潤濕之 C_{18} 過濾層析匣，

原濃縮瓶以 0.05 M 磷酸鹽緩衝溶液 5 mL 清洗二次，洗液注入 C₁₈ 過濾層析匣，棄流出液。原濃縮瓶最後再以甲醇 5 mL 清洗二次，洗液注入 C₁₈ 過濾層析匣沖提，收集沖提液，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，殘留物以乙腈：水(3：7, v/v)溶液溶解並定容至 1 mL，加入以乙腈飽和之正己烷溶液 0.5 mL，充分混合，以 3000 rpm 離心 5 分鐘，取下層，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 20 µL，分別注入高效液相層析儀中，參照下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各動物用藥之含量(ppm)：

$$\text{檢體中各動物用藥含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由各標準曲線求得檢液中各動物用藥之濃度(µg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件：

層析管柱：Luna C18，5 µm，內徑 4.6 mm × 25 cm。

光二極體陣列檢出器：波長 230 nm (歐美德普)，波長 270 nm (氯吡啶、磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺一甲氧嘧啶、磺胺噻唑、衣索巴、磺胺奎林及磺胺二甲氧嘧啶)，波長 308 nm (磺胺噻唑)，波長 368 nm (富來頓)。

移動相溶液：A 液與 B 液以下列比例進行梯度分析。

時間(min)	A (%)	B (%)
0 → 5	10 → 15	90 → 85
5 → 20	15 → 15	85 → 85
20 → 35	15 → 30	85 → 70
35 → 45	30 → 10	70 → 90
45 → 65	10 → 10	90 → 90

移動相流速：1 mL/min。

附註：1. 本檢驗方法各動物用藥之檢出限量為：磺胺噻唑 0.04 ppm，其餘均為 0.02 ppm。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

3. 以本檢驗方法檢出時，應利用 LC/MS 等進行確認。