

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

- 1.適用範圍：本檢驗方法適用於禽畜水產品中歐索林酸(oxolinic acid)、那利得酸(nalidixic acid)、氟滅菌(flumequine)、piromidic acid、大安氟喹啉羧酸(danofloxacin)、恩氟喹啉羧酸(enrofloxacin)及sarafloxacin之檢驗。
- 2.檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)
 - 2.1.裝置：
 - 2.1.1.高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1.檢出器：光二極體列陣檢出器(photodiode array detector)及螢光檢出器(fluorescence detector)串連使用。
 - 2.1.1.2.層析管：Cosmosil 5C18-AR-II, 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)。
 - 2.2.試藥：乙腈及甲醇均採用液相層析級，氫氧化鈉、磷酸二氫鈉、偏磷酸、磷酸、正丙醇、正己烷及十二烷基硫酸鈉(sodium lauryl sulfate或sodium dodecyl sulfate)均採用試藥特級，歐索林酸、那利得酸、氟滅菌、piromidic acid、大安氟喹啉羧酸、恩氟喹啉羧酸及sarafloxacin對照用標準品。
 - 2.3.器具及材料：
 - 2.3.1.抽氣瓶：250 mL。
 - 2.3.2.布赫納漏斗(Buchner funnel)：直徑8 cm。
 - 2.3.3.分液漏斗：250 mL。
 - 2.3.4.C18固相萃取匣(Bond Elut C18 cartridge)：200 mg, 或同級品。
 - 2.3.5.濃縮瓶：250 mL。
 - 2.3.6.濾膜：孔徑0.45 μ m, nylon材質。
 - 2.4. 0.05M磷酸二氫鈉緩衝溶液之調製：
稱取磷酸二氫鈉6.9 g, 加水950 mL溶解, 以磷酸調整pH值至2.5, 再加水至1000 mL。
 - 2.5.移動相溶液之調製：

取0.05M磷酸二氫鈉緩衝溶液650 mL，加10%十二碳基硫酸鈉溶液10 mL，混合均勻，再加入乙腈350 mL，混合均勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

取歐索林酸、那利得酸、氟滅菌、piromidic acid及sarafloxacin對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以0.01N氫氧化鈉：甲醇(2:8, v/v) 溶液溶解並定容至100 mL；另取大安氟喹啉羧酸及恩氟喹啉羧酸各約10 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至100 mL，作為標準原液。使用時再量取上述各標準原液共置於容量瓶中，以移動相溶液稀釋，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 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0.3%偏磷酸：乙腈(1:10, v/v) 溶液30 mL，均質3分鐘後，倒入附有濾紙之布赫納漏斗內，抽氣過濾。濾液移入分液漏斗中，加入以乙腈飽和之正己烷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，殘留物以水10 mL溶解，供作淨化用。

2.7.2. 淨化：

取2.7.1.節之淨化用溶液，注入預經甲醇10 mL活化之C18固相萃取匣，再以水10 mL潤洗，原濃縮瓶以10%甲醇溶液5 mL清洗二次，洗液亦注入C18固相萃取匣，棄流出液，原濃縮瓶再以甲醇：0.05M磷酸二氫鈉緩衝溶液(7:3, v/v) 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，殘留物以移動相溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各20 μ L，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，光二極體列陣檢出器並進行吸收圖譜比對，再依下列計算式求出檢體中各動物用藥之含量(ppm)：

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

C：由標準曲線求得檢液中各動物用藥之濃度 (μ g/mL)

V：檢體經淨化後定容之體積 (mL)

M：取樣分析檢體之重量 (g)

高效液相層析測定條件：

光二極體列陣檢出器：波長260 nm（那利得酸），波長286 nm（piromidic acid）。

螢光檢出器：激發波長327 nm/放射波長367 nm（歐索林酸及氟滅菌），激發波長295 nm/放射波長446 nm（大安氟喹啉羧酸及恩氟喹啉羧酸），激發波長278 nm/放射波長442 nm（sarafloracin）。

移動相溶液：依2.5節所調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

- 備註：1.本檢驗方法之最低檢出限量為：歐索林酸，0.01 ppm；大安氟喹啉羧酸，0.0006 ppm；恩氟喹啉羧酸及sarafloracin，0.002 ppm；那利得酸、piromidic acid及氟滅菌，0.02 ppm。
- 2.檢體中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。

