

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－害獲滅之檢驗

Method of Test Veterinary Drug Residues in Foods - Test of Ivermectin

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於豬肉、豬肝、牛肉及羊肉中害獲滅(ivermectin)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：螢光檢出器(Fluorescence detector)。
 - 2.1.1.2. 層析管：RP-18，5 μm ，內徑 4.6 mm \times 15 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.3. 試管振盪器(Vortex)。
 - 2.1.4. 固相真空萃取槽(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.1.5. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.2. 試藥：乙腈及甲醇採用液相層析級；三乙胺(Triethylamine)、三氟乙酐 (Trifluoroacetic anhydride) 及 N-甲基咪唑 (N-methylimidazole)採用試藥特級；鹼性氧化鋁(70~230 mesh)；害獲滅對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 抽氣瓶：250 mL。
 - 2.3.2. 布赫納漏斗(Buechner funnel)：直徑 8 cm。
 - 2.3.3. 濃縮瓶：250 mL。
 - 2.3.4. 褐色試管：10 mL。
 - 2.3.5. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，nylon 材質。
 - 2.3.6. C₁₈ 過濾層析匣(Sep-Pak C₁₈ cartridge, 500 mg)：將乙腈 5 mL 慢慢滴入 C₁₈ 過濾層析匣，待全部滴完後，以含 0.1%三乙胺之 30%乙腈水溶液 5 mL 清洗，備用。
 - 2.3.7. 氧化鋁層析管柱：乙腈 20 mL 與氧化鋁 5 g 混合均勻倒入內徑 1.0 cm，長 30 cm 之玻璃管柱，待氧化鋁沉澱後，將乙腈滴完，再以乙腈 10 mL 清洗備用。

2.4. 移動相溶液之調製：

取甲醇 980 mL 加水至 1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.5. 試劑之調製：

2.5.1. 含 0.1% 三乙胺之 30% 乙腈水溶液：

乙腈 30 mL 加入三乙胺 0.1 mL，以去離子水定容至 100 mL。

2.5.2. 衍生化試劑：

A. N-甲基咪唑與乙腈以 1：1 (v/v) 之比例混合。

B. 三氟乙酐與乙腈以 1：2 (v/v) 之比例混合。

2.6. 標準溶液之配製：

取害獲滅對照標準品約 10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，使用時再以甲醇稀釋，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 萃取及淨化：

將檢體細切，以攪拌均質器均質後，精確稱取檢體 5 g，置於攪拌均質器中，加乙腈 20 mL，攪拌均質三分鐘後，倒入附有濾紙之布赫納漏斗內，抽氣過濾入抽氣瓶中。殘渣再以乙腈 20 mL，同樣操作二次。合併濾液注入氧化鋁層析管柱中，收集流出液，待流乾後，以乙腈 10 mL 注入層析管柱沖提，收集沖提液，合併流出液及沖提液，移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾。殘留物以乙腈 10 mL 溶解，加入去離子水 23 mL 及三乙胺 33 μ L 混合均勻，注入 C₁₈ 過濾層析匣，棄流出液，將過濾層析匣以固相真空萃取槽抽乾後，以乙腈 6 mL 注入層析匣沖提，收集沖提液至褐色試管中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾。

2.7.2. 衍生化反應：

加入衍生化試劑 A 200 μ L 於 2.7.1. 節之褐色試管中，以試管振盪器振盪十秒鐘溶解殘留物，再加入衍生化試劑 B 300 μ L，振盪反應十秒鐘後，以乙腈定容至 2 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.7.3. 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，參照下述條件進行液相層析分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依標準曲線求出檢體中害獲滅之含量(ppm)：

$$\text{檢體中害獲滅之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線或波峰面積求得檢液中害獲滅之濃度 (μ g/mL)

V：檢液最後定容之體積(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：RP-18，5 μ m，內徑 4.6 mm \times 15 cm

紫外光檢出器：激發波長 360 nm，放射波長 465 nm

移動相溶液：依 2.4.節所調製之溶液

流速：1.2 mL/min。

備註：本檢驗方法之最低檢出限量為 0.01 ppm。