

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－安保寧之檢驗

Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods - Test of Amprolium

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於雞肉及雞肝中安保寧[amprolium;1-(4-amino-2-propyl-5-pyrimidylmethyl)-2-picolinium chloride]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。
 - 2.1.1.2. 層析管：RP-18，5 μm ，內徑 4.6 mm $\times$ 25 cm 或同等級。
 - 2.1.1.3. 溶媒輸送系統：具移動相溶液及後置反應溶液之輸送系統。
 - 2.1.1.4. 後置反應裝置(Post-column reactor)。
 - 2.1.1.4.1. 恆溫槽：可加熱至 30°C。
 - 2.1.1.4.2. 反應管路：內徑 0.5 mm，長度 4 m，不鏽鋼材質。
 - 2.1.2. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.3. 振盪器(Shake)。
 - 2.1.4. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.2. 試藥：

乙晴、甲醇、正己烷及二氯甲烷均採用液相層析級；醋酸、二乙胺(diethylamine)、二辛基硫琥珀酸(diethyl sulfosuccinate, DOSS)、乙醇、氫氧化鈉、鐵氰化鉀、磷酸二氫鈉及磷酸氫二鈉均採用試藥特級；安保寧對照用標準品。
 - 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. 酸性氧化鋁過濾層析匣(Sep-Pak alumina A cartridge)：2 g 或同等級。
 - 2.3.5. 濃縮瓶：50 mL，500 mL。
 - 2.3.6. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，nylon 材質。
 - 2.4. 試液之調製：
 - 2.4.1. 0.05 M 磷酸緩衝溶液之調製：

配製 0.05 M 磷酸氫二鈉溶液，以 0.05 M 磷酸二氫鈉溶液調整 pH 至 8.0。
 - 2.4.2. 5 mM DOSS 溶液之調製：

稱取 DOSS 0.44 g，加乙醇 3 mL 溶解，以 0.05 M 磷酸緩衝溶液定容至

200 mL。

2.4.3. 移動相溶液之調製：

稱取 DOSS 1.78 g，以乙腈 450 mL 溶解，加入二乙胺 3 mL 及醋酸 10 mL，以水定容至 1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.4.4. 後置反應溶液之配製：

稱取氫氧化鈉 70 g 及鐵氰化鉀 1.2 g，以水溶解並定容至 1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作後置反應溶液。

2.5. 標準溶液之配製：

取安保寧對照標準品約 100 mg，精確稱定，以水溶解，並定容至 100 mL，供作標準原液，再以乙腈稀釋配製成 0.2~2.0 µg/mL，供作標準溶液。

2.6. 檢液之調製：

2.6.1. 萃取：

將檢體細切，以均質機均質後，精確稱取檢體 10 g，置於攪拌均質器中，加入乙腈 50 mL，攪拌均質 3 分鐘後，抽氣過濾，殘渣再以乙腈 50 mL 同樣操作二次，合併濾液移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾。濃縮物以正己烷 50 mL 分次溶解，置於分液漏斗中，加入 0.05 M 磷酸緩衝溶液 50 mL，振盪 5 分鐘。靜置分層後，取水層移入另一分液漏斗，再加入正己烷 50 mL，同樣再操作二次。於水層加入二氯甲烷 50 mL，以手輕輕上下搖晃分液漏斗十次，以避免乳化，靜置分層後，棄二氯甲烷層，再加入二氯甲烷 50 mL，振盪 2 分鐘，靜置分層後，棄二氯甲烷層，同樣再操作一次，取水層。於水層加入 5 mM DOSS 溶液 2 mL，振盪 2 分鐘，加入二氯甲烷 50 mL，以手輕輕上下搖晃分液漏斗十次，以避免乳化，靜置分層後，收集二氯甲烷層，於水層加入二氯甲烷 50 mL，振盪 2 分鐘，收集二氯甲烷層，同樣再操作二次，合併二氯甲烷層，移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾。

2.6.2. 淨化：

2.6.1 節之雞肉檢體濃縮物直接以乙腈溶解並定容至 1 mL，以濾膜過濾，供作檢液。雞肝檢體濃縮物則以二氯甲烷 1 mL 溶解，注入預先以二氯甲烷 10 mL 潤洗過之酸性氧化鋁過濾層析匣，原濃縮瓶再以二氯甲烷 3 mL 清洗三次，注入層析匣，流出液棄之，最後以甲醇 10 mL 注入層析匣沖提，收集沖提液，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，以乙腈溶解並定容至 1 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.7. 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，並依另取之標準溶液按上述方法作出檢量線，求出檢體中安保寧之含量(ppm)：

$$\text{檢體中安保寧含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線或波峰面積求得檢液中安保寧之濃度(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：RP-18，5 μm，內徑 4.6 mm × 25 cm

螢光檢測器：激發波長 368 nm，放射波長 470 nm

移動相溶液：依 2.4.3 節所調製之溶液

後置反應溶液：依 2.4.4 節所調製之溶液

移動相及後置反應溶液流速：1.0 mL/min

後置反應槽溫度：30°C

備註：本檢驗方法之最低檢出限量為 0.005 ppm。