

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－己烯雌酚及 Hexestrol 之檢驗

Method of Test Veterinary Drug Residues in Foods-

Test of Diethylstilbestrol and Hexestrol

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽肉及其內臟中己烯雌酚
(diethylstilbestrol; 4,4'-(1,2-diethyl-1,2-ethenediyl)bisphenol)
及 hexextrol (4,4'-(1,2-diethyl-1,2-ethanediyl) bisphenol)
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：具有 229 nm 波長之紫外光檢出器。
 - 2.1.1.2. 層析管：C₁₈，5 μm，內徑 4.0 mm × 25 cm。
 - 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：甲醇、丙酮、乙腈、二氯甲烷及正己烷採用液相層析級；
中性氧化鋁(90 mesh)採用層析級；磷酸二氫鈉及磷酸氫二
鈉採用化學試藥特級；己烯雌酚及 hexextrol 對照用標準
品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 抽氣瓶：500 mL。
 - 2.3.2. 布赫納漏斗(Buchner funnel)：直徑 11 cm。
 - 2.3.3. 分液漏斗：250 mL。
 - 2.3.4. 氧化鋁管柱：內徑 0.8 cm × 4 cm，下端鋪一層聚乙烯墊片之
塑膠層析管柱，或同級品，內填充中性氧化鋁 500 mg，在管
柱上端再鋪玻璃棉。
 - 2.3.5. 濃縮瓶：250 mL、500 mL。

2.3.6. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，nylon 材質。

2.3.7. 刻度試管：具有磨砂口，10 mL。

2.4. 移動相溶液之調製：

乙腈與去離子水以 45：55 (v/v)之比例混勻後以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.5. 0.05M 磷酸緩衝溶液(pH 5.4)之調製：

分別稱取磷酸二氫鈉 7.1 g 及磷酸氫二鈉 6.0 g，各以去離子水 1000 mL 定容，配製成 0.05 M 磷酸二氫鈉溶液及 0.05 M 磷酸氫二鈉溶液，以 0.05 M 磷酸氫二鈉溶液調整 0.05 M 磷酸二氫鈉溶液，使 pH 值為 5.4。

2.6. 標準溶液之配製：

取己烯雌酚及 hexextrol 對照用標準品各約 100 mg，精確稱定，共置於容量瓶中，以甲醇定容至 100 mL，作為標準原液，使用時再以移動相溶液稀釋，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，加乙腈 30 mL，攪拌均質 1 分鐘後，抽氣過濾，殘渣再以乙腈 30 mL 同樣操作二次，最後再以乙腈 30 mL 清洗殘渣，合併濾液移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，以 0.05M 磷酸緩衝溶液：甲醇(1:2, v/v)溶液 50 mL 分次洗濃縮瓶，洗液移入分液漏斗中，加入正己烷 50 mL，振盪 3 分鐘，棄正己烷層，再以正己烷 50 mL 同樣操作二次，再加入二氯甲烷 50 mL，振盪 3 分鐘，收集二氯甲烷層，以二氯甲烷 50 mL 同樣操作二次，合併二氯甲烷層，移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，殘留物以去離子水：丙酮(5:95, v/v)溶液 0.3 mL 溶解，供作淨化用。

2.7.2. 淨化：

取 2.6.1.節之淨化用溶液，注入預先經去離子水：丙酮(5:95, v/v)

溶液 10 mL 潤洗過之氧化鋁管柱，以去離子水：丙酮(5:95, v/v) 溶液 4 mL 注入管柱沖提，收集沖提液至 10 mL 刻度試管中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，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，並分別依標準曲線求出檢體中己烯雌酚及 hexextrol 之含量(ppm)：

$$\text{檢體中己烯雌酚或 hexextrol 之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線或波峰面積求得檢液中己烯雌酚或 hexextrol 之濃度(μ g/mL)

V：檢體最後經淨化定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件：

紫外光檢出器：波長 229 nm。

移動相溶液：依 2.4.節所調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

備註：本檢驗方法之最低檢出限量為 0.01 ppm。