

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－
Triclabendazole 及其代謝物之檢驗
Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods-
Test of Triclabendazole and its Metabolites

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽產品中 triclabendazole 及其代謝物 triclabendazole sulfoxide、triclabendazole sulfone、ketotriclabendazole 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)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Cosmosil 5C18 MS-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. 離心機(Centrifuge)：轉速可達 3,000 rpm 以上者。
 - 2.1.5. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.6. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.1.7. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.8. pH 測定儀(pH meter)。
 - 2.1.9. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.2. 試藥：乙腈、甲醇、正己烷及正丙醇均採用液相層析級；無水硫酸鈉、碳酸氫鈉、磷酸二氫鈉及鹽酸均採用試藥特級；triclabendazole、triclabendazole sulfoxide、triclabendazole sulfone 及 ketotriclabendazole 對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 塑膠離心管：50 mL。
 - 2.3.2. 褐色分液漏斗：250 mL。
 - 2.3.3. 濃縮瓶：250 mL。
 - 2.3.4. C18 固相萃取匣 (C18 solid phase extraction cartridge)：Bond Elut LRC C18，500 mg，10 mL，或同級品。
 - 2.3.5. 濾膜：孔徑 0.22 及 0.45 μ m，Nylon 材質。

2.4. 試劑之調製：

2.4.1. 0.1M 碳酸氫鈉溶液：

稱取碳酸氫鈉 8.4 g，以去離子水溶解使成 1 L，再以 0.1 M 鹽酸溶液調整 pH 值為 8.0。

2.4.2. 0.025M 磷酸二氫鈉溶液：

稱取磷酸二氫鈉 3.45 g 以去離子水溶解使成 1 L。

2.5. 移動相溶液之調製：

乙腈與 0.025M 磷酸二氫鈉溶液以 3:2 (v/v) 之比例混勻，以 0.45 μm 濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

取 triclabendazole、triclabendazole sulfoxide、triclabendazole sulfone 及 ketotriclabendazole 對照用標準品各約 5 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至 100 mL，作為標準原液。使用時分別精確量取上述各標準原液 0.2~10 mL，共置於 100 mL 容量瓶中，以移動相溶液定容，混勻，使濃度為 0.1~5.0 $\mu\text{g/mL}$ ，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，加入無水硫酸鈉 5 g 及乙腈 25 mL，攪拌均質 2 分鐘，移入離心管中，於 3,000 rpm 離心 5 分鐘，收集上澄清液。離心管中之沉澱物再以乙腈 25 mL 重複操作一次，合併上澄清液。上澄清液移入分液漏斗中，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 0.1 M 碳酸氫鈉溶液 5 mL 溶解，供淨化用。

2.7.2. 淨化：

取 2.7.1. 節供淨化用之溶液，注入預先以乙腈 5 mL、去離子水 5 mL 及 0.1 M 碳酸氫鈉溶液 5 mL 潤洗之 C18 固相萃取匣，原濃縮瓶再以去離子水 5 mL 清洗二次，洗液注入 C18 固相萃取匣，棄流出液。原濃縮瓶再以甲醇 4 mL 清洗，洗液亦注入 C18 固相萃取匣，收集沖提液，於 40°C 水浴以氮氣吹乾。殘留物再加入移動相溶液，以旋渦混合器震盪溶解並定容至 1 mL，經 0.22 μm 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 50 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及圖譜比較鑑別之，再依下列計算式求出檢體中各動物用藥之含量(ppm)：

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

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 295 nm。

移動相溶液：依 2.5 節所調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

- 附註：1. 本檢驗方法之最低檢出限量，triclabendazole、triclabendazole sulphoxide、triclabendazole sulphone 及 ketotriclabendazole 於肌肉組織為 0.02 ppm，於內臟組織為 0.04 ppm。
2. 檢體中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。
3. 以檢驗方法檢出時，應利用 LC/MS 等進行確認。