

食品中動物用藥殘留量檢驗方法—  
海樂福精之檢驗

Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods—  
Test of Halofuginone

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於雞肉、雞肝中海樂福精 (halofuginone; ( $\pm$ -*trans*-7-bromo-6-chloro-3-[3-(3-hydroxy-2-piperidyl)acetyl]quinazolin-4(3*H*)-one)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 245 nm 波長之紫外光檢出器。
      - 2.1.1.2. 層析管：RP-18, 5  $\mu$ m, 內徑 4.0 mm  $\times$  25 cm。
    - 2.1.2. 攪拌均質機 (Homogenizer)。
    - 2.1.3. 振盪器 (Shaker)。
    - 2.1.4. 減壓濃縮裝置 (Rotary evaporator)。
  - 2.2. 試藥：甲醇、乙 及正己烷採用液相層析級；冰醋酸及醋酸銨採用化學試藥特級；海樂福精對照用標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 抽氣瓶：500 mL。
    - 2.3.2. 別區奈式漏斗 (Buechner funnel)：直徑 11 cm。
    - 2.3.3. 分液漏斗：250 mL。
    - 2.3.4.  $C_{18}$  過濾層析匣 (Sep-Pak  $C_{18}$  cartridge)：300 mg。
    - 2.3.5. 濃縮瓶：250 mL、500 mL。
    - 2.3.6. 濾膜：孔徑 0.45  $\mu$ m, nylon 材質。
  - 2.4. 0.25 M 醋酸銨緩衝溶液 (pH 4.3) 之調製：  
分別稱取醋酸銨 19.27 g 及量取冰醋酸 30 mL，溶於去離子水，使成 1 L，再以冰醋酸調成 pH 4.3。
  - 2.5. 0.125 M 醋酸銨緩衝溶液 (pH 4.3) 之調製：  
取 2.4 節之 0.25 M 醋酸銨緩衝溶液，與去離子水 1 : 1 (v/v) 稀釋後，再以冰醋酸調成 pH 4.3。
  - 2.6. 移動相溶液之調製：  
0.25 M 醋酸銨緩衝液：水：乙 = 3 : 12 : 5 (v/v/v) 之比例混勻後，用冰醋酸調成 pH 4.3，以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液。
  - 2.7. 標準溶液之配製：  
稱取海樂福精對照用標準品約 100 mg，精確稱定，以 0.25 M

醋酸銨緩衝液(pH 4.3)溶解並定容至 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。

## 2.8. 檢液之調製：

### 2.8.1. 萃取：

將檢體細切，以攪拌均質機均質後，精確稱取 5 g 置攪拌均質機中，加甲醇 30 mL，充分攪拌 1 分鐘後，抽氣過濾，預先在抽氣瓶中加入 0.5 mL 冰醋酸，殘渣再以甲醇 30 mL，同樣操作二次，最後再以甲醇 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，以甲醇 15 mL 分次洗濃縮瓶，移入分液漏斗中，加入經甲醇飽和之正己烷 50 mL，振盪 5 分鐘，取甲醇層，再加入經甲醇飽和之正己烷 50 mL，同樣操作二次，合併甲醇層，移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，以去離子水 30 mL 溶解，供作淨化用。

### 2.8.2. 淨化：

取 2.8.1. 節之淨化用溶液，注入預經甲醇 5 mL 復以去離子水 5 mL 潤洗過之 C<sub>18</sub> 過濾層析匣，以 0.125 M 的醋酸銨緩衝液(pH 4.3) 30 mL 沖洗，流出液棄之，再依次以 20% 甲醇 30 mL 及 30% 甲醇 6 mL 注入層析匣，流出液棄之，最後以甲醇注入層析匣沖提，收集前 6 mL 沖提液至刻度試管中，於 40°C 水浴中減壓濃縮至乾，以移動相溶液溶解並定容至 2 mL，供作檢液。

## 2.9. 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，求出檢體中海樂福精之含量(ppm)：

$$\text{檢體中海樂福精含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線或波峰面積求得檢液中海樂福精之濃度 (μg/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

層析管柱：RP-18，5 μm，內徑 4.0 mm × 25 cm。

紫外光檢出器：波長 245 nm。

移動相溶液：依 2.6 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 0.02 ppm。