

食品中動物用藥殘留量檢驗方法一

Zeranol、17 $\alpha$ -雌素二醇、17 $\beta$ -雌素二醇之檢驗

Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods-

Test of Zeranol, 17 $\alpha$ -Estradiol and 17 $\beta$ -Estradiol

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於牛肉、豬肉及雞肉中 zernol、17 $\alpha$ -雌素二醇(17 $\alpha$ -estradiol)、17 $\beta$ -雌素二醇(17 $\beta$ -estradiol)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 230 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 或同級品。
    - 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. 固相真空萃取槽(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
    - 2.1.6. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
  - 2.2. 試藥：甲醇、乙腈、正己烷及正丙醇採用液相層析級，醋酸級無水硫酸鈉採用試藥特級，zernol、17 $\alpha$ -雌素二醇及 17 $\beta$ -雌素二醇對照用標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 布赫納漏斗(Buchner funnel)：直徑 8 cm。
    - 2.3.2. 抽氣瓶：250 mL。
    - 2.3.3. 濃縮瓶：250 mL。
    - 2.3.4. C<sub>18</sub> 過濾層析匣(C<sub>18</sub> Sep-Pak cartridge)：400 mg。
    - 2.3.5. 濾膜：孔徑 0.45  $\mu$ m，Teflon 材質。
  - 2.4. 移動相溶液之調製：

乙腈及去離子水以 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. 標準溶液之配置：

取 zernol、17 $\alpha$ -雌素二醇及 17 $\beta$ -雌素二醇對照用標準品各約 10 mg，精確稱定，共置於 100 mL 容量瓶中，以甲醇溶解並定容至 100 mL，供作標準原液，避光儲存於冰箱內，使用時再以甲醇稀釋至 25~800 ng/mL，供作標準溶液。

## 2.6. 檢液之調製：

### 2.6.1. 萃取：

將檢體細切，以攪拌均質器均質後，取約 20 g，精確稱定，置於均質機中，加入無水硫酸鈉 20 g 及乙腈 50 mL，攪拌均質 3 分鐘，抽氣過濾，殘渣再以乙腈 50 mL，同樣操作一次，合併濾液於分液漏斗中，加入正己烷 50 mL，振盪 5 分鐘，收集乙腈層，置於濃縮瓶中，加入正丙醇 20 mL，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，殘留物以甲醇 1 mL 溶解，再以水 8 mL 清洗，合併洗液，並加水定容至 10 mL，供作淨化用。

### 2.6.2. 淨化：

將 C<sub>18</sub> 過濾層析匣依序注入水 5 mL、甲醇 10 mL、1% 醋酸溶液 5 mL 及水 5 mL 活化後，取 2.6.1 節淨化用液 10 mL 注入，以固相真空萃取槽抽氣過濾，流出液棄之，再以含 10% 甲醇溶液 5 mL 沖洗，流出液棄之，最後以 5 mL 甲醇沖提，收集沖提液並定容至 5 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 25  $\mu$ L，分別注入高效液相層析儀中，參照下列條件進行液相分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依另取之標準溶液按上述方法作出檢量線，求出檢體中 zernol、17 $\alpha$ -雌素二醇及 17 $\beta$ -雌素二醇(ppb)：

檢體中 zernol 或 17 $\alpha$ -雌素二醇或 17 $\beta$ -雌素二醇之含量(ppb)

$$= \frac{C \times V}{M}$$

C: 由檢量線或波峰面積求得檢液中 zernol 或 17 $\alpha$ -雌素二醇或 17 $\beta$ -雌素二醇之濃度(ng/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  $\mu$ m，內徑 4.0 mm  $\times$  25 cm。

紫外光檢出器：波長 230 nm。

移動相溶液：依 2.4.節所調製之溶液。

移動相溶液流速：0.7 mL/min。

備註：本檢驗方法之 zernol、17 $\alpha$ -雌素二醇及 17 $\beta$ -雌素二醇最低檢出量  
均為 7.5 ppb。