

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－左美素之檢驗
Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods-
Test of Levamisole

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於禽畜產品中左美素(levamisole)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 μm ，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2,000 rpm以上者。
 - 2.1.5. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.6. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.7. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.2. 試藥：乙酸乙酯及甲醇均採用液相層析級；鹽酸、氨水、氫氧化鉀、無水硫酸鈉及醋酸銨均採用試藥特級；左美素對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 塑膠離心管：50 mL。
 - 2.3.2. 分液漏斗：250 mL。
 - 2.3.3. 陽離子交換固相萃取匣(Cation exchange solid phase extraction cartridge)：Bond Elut LRC SCX，500 mg，10 mL，或同級品。
 - 2.3.4. 濾膜：孔徑0.22及0.45 μm ，Nylon材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 0.025 M醋酸銨溶液：
稱取醋酸銨1.93 g，以去離子水溶解使成1 L。
 - 2.4.2. 0.1 M鹽酸溶液：
取鹽酸9.5 mL，加去離子水使成1 L。
 - 2.5. 移動相溶液之調製：
甲醇與0.025 M醋酸銨溶液以45：55 (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：

取左美素對照用標準品約5 mg，精稱確定，以甲醇溶解並定容至100 mL，作為標準原液。使用時再以移動相溶液稀釋至0.025~1.0 µg/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、50%氫氧化鉀溶液1 mL及乙酸乙酯25 mL，攪拌均質2分鐘，移入離心管中，於2,000 rpm離心5分鐘，收集上澄清液。離心管中之沉澱物再以乙酸乙酯25 mL重複上述萃取步驟一次，合併上澄清液。上澄清液移入分液漏斗中，加入0.1 M鹽酸溶液20 mL，振盪5分鐘，靜置分層，收集0.1M鹽酸溶液層。乙酸乙酯層再以0.1 M鹽酸溶液20 mL重複操作一次，合併0.1 M鹽酸溶液層，供淨化用。

2.7.2. 淨化：

取2.7.1.節供淨化用之溶液，注入預先以甲醇10 mL、去離子水10 mL及0.1 M鹽酸溶液2 mL潤洗之陽離子交換固相萃取匣，再依序以0.1 M鹽酸溶液10 mL及甲醇10 mL清洗，棄流出液。最後以甲醇：氫水(96:4, v/v) 5 mL注入萃取匣沖提，收集沖提液於40°C水浴以氮氣吹乾。殘留物加入移動相溶液，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 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及圖譜比較鑑別之，再依下列計算式求出檢體中左美素之含量(ppm)：

$$\text{檢體中左美素含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中左美素之濃度(µg/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：

光二極體陣列檢測器：波長225 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於肌肉組織為0.005 ppm，於內臟組織為0.02 ppm。
2. 檢體中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。