

雞肉中磺胺類藥物殘留調查

李新進* 鄭秀蓮 楊喜金

台灣省家畜衛生試驗所生物研究系

摘要 自 83 年 8 月至 84 年 4 月於本省 9 縣市（台北縣市、雲林縣、嘉義縣市、台南縣、高雄縣市及屏東縣）之肉品市場採集 606 件雞肉檢體，供磺胺類藥殘留檢查，以瞭解省產雞肉中藥物殘留情形。檢體經攪碎，稱重，以溶劑萃取後經高效能液相層析儀測定各種雞常用磺胺劑之殘留量，結果，磺胺塞唑 31 件含量均在 0.05 ppm 以下、磺胺二甲嘧啶 9 件，0.1 ppm 以下 5 件、0.1~0.5 ppm 4 件，磺胺一甲氧嘧啶 5 件，0.1 ppm 以下 4 件、0.1~0.5 ppm 1 件，磺胺二甲氧嘧啶 4 件，0.1 ppm 以下 2 件、0.1~0.5 ppm 2 件，磺胺奎林 7 件，0.1 ppm 以下 2 件、0.01~0.5 ppm 2 件、0.5~1 ppm 2 件 1 ppm 以上 1 件。

依衛署公告^[2]，動物用藥殘留量，磺胺類為 0.1 ppm，這和本次調查之結果，省產雞肉超過 0.1 ppm 為 12 件，估計總檢出率之 1.98% (12/606)，可見省產雞肉殘留磺胺類藥物不高。

關鍵字：磺胺二甲氧嘧啶，磺胺二甲嘧啶，磺胺一甲氧嘧啶，磺胺奎林，磺胺塞唑

緒言

磺胺類藥物為盛行一時之化學制菌藥，由於價廉且制菌範圍廣，常被用於畜禽各種細菌性疾病之治療，目前部份磺胺類藥物已列為我國飼料添加物使用準則之項目^[1]以治療畜禽細菌性腸炎和改善飼料效率。磺胺類藥物可用於動物用藥中之注射劑^[6]，治療用散劑、錠劑及飼料添加物。由於經常使用，造成部份細菌已產生抗藥性，因而在飼料添加物使用準則中規定不可單獨使用，必須和其它藥劑如四環素 (OTC) 或氯四環素 (CTC) 合併使用^[1]。又因為飼料添加物在雞體內之吸收比豬少，而排泄則比豬快^[7]，故停藥期磺胺二甲氧嘧啶為 5 天，而磺胺奎林為 10 天，不像其它磺胺劑於豬隻之使用停藥期為 15 天^[1]。

磺胺類藥物於畜產品之殘留，檢驗方法有高效能液相層析法 (HPLC 法) [3, 4, 6, 7, 8, 11, 12, 14, 15, 16, 18] 可定性及定量之測定，薄層色層法 (TLC 法) [3, 4, 10, 11, 13]，前者可進行定性及定量分析，

後者只能作定性之定分析。以另一種酵素免疫測定法 (ELISA 法) ^[17] 則只能作某一種磺胺類藥物之定性及定量之測定。本次調查所使用之方法是依據上述文獻所使用之 HPLC 法 TLC 法來試驗。

材料與方法

儀器與設備

1. 高效液相層析儀：KRATOS 牌
2. 紫外光燈：GAMAG REPROSTAR II UV 366 nm 及 254 nm
3. 攪碎器：西德百靈牌 (BRAUN) 食物料理機
4. 減壓濃縮裝置：BUC HI 牌 ROTAVAPOR-R
5. PH-meter：HANNA 牌 HI8520
6. 離心機：KUBOTA 5100
7. 玻璃展開槽：22 CM × 22 CM × 7 CM

試藥

1. 標準溶液：

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

精確稱取適量之磺胺二甲氧嘧啶 (Sulfadimethoxine ; SDM)，磺胺二甲嘧啶 (Sulfamethazine ; SMZ)，磺胺一甲氧嘧啶 (Sulfamonomethoxine ; SMM)，磺胺塞唑 (Sulfathiazole ; STZ) 以甲醇溶解，而磺胺奎林 (Sulfaquinoxaline ; SQX) 先以 1 ml 1N NaOH 溶解，再各以甲醇定量為 1,000 μ l/ml 之原液，取此原液，再以甲醇分別稀釋成 0.5、1.0、2.5 及 5 μ g/ml 之標準溶液。

2. 3 N 鹽酸液：取鹽酸 264 ml 加水到 1,000 ml 即得。
3. 12 N 氫氧化鈉液：取氫氧化鈉 480 g 加水到 1,000 ml，冷卻即得。

雞肉採樣處理及萃取

雞肉樣品採取：

於 83 年 8 月至 11 月及 84 年 2 月至 4 月份赴南部地區 (高雄縣市、屏東縣、台南縣)、中部地區 (嘉義縣市、雲林縣) 及北部地區 (台北縣市)，共 9 縣市之肉品市場，採集 606 件雞肉樣品，樣品裝入塑膠袋中，於冷藏方式攜回實驗室於 -20°C 凍結保存。

檢品前處理及萃取：

雞肉解凍後取胸肉除去脂肪，攪碎，每 10 公克稱重包裝，置 -20°C 凍結保存。本實驗所用萃取方法參考^[3, 6, 14]等修改進行。萃取時，取出凍結之檢體，以氯仿：冰醋酸 (98 : 2, v/v) 萃取三次 (20 ml、15 ml、15 ml)，合併氯仿：冰醋酸萃取液，以 3 N 鹽酸萃取三次每次 5 ml，合併鹽酸萃取液再以氯仿洗一次，丟棄氯仿洗液，鹽酸萃取液以正己烷 (n-Hexane) 洗二次，每次 30 ml，丟棄正己烷洗液，鹽酸萃取液以 12 N 氫氧化鈉溶液調 pH 為 6.5 ± 0.1 ，再用乙酸乙酯萃取三次 (20 ml、15 ml、15 ml)，合併乙酸乙酯萃取液通過 10 g 之無水硫酸鈉，以真空濃縮機於 50°C 以下濃縮到乾。

檢體之分析

濃縮至乾之檢體，以甲醇 0.2 ml 溶解，移入 1 ml 之離心管，以 10,000 r.p.m 離心 10 分鐘後，取出依文獻^[3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11]之方法進行 TLC 法及 HPLC 法之操作。

TLC 法條件：

TLC 板：Silica gel 60 MERCK 5553
 移動相：氯仿：第三丁醇 (80 : 20 v/v)
 呈色液：0.01 % Fluorescamine 丙酮液
 點樣量：40 μ l

HPLC 法條件：

檢測器：KRATOS 牌 Spectroflow 733 型
 輸液系統：KRATOS 牌 Spectroflow 400 型
 注入器：KRATOS 牌 Spectroflow 480 型
 積分儀：SIC Chromatocorder 11
 管柱：Hypersil 5 C18 3.9 \times 300 mm
 檢測波長：280 nm
 流速：1.5 ml/min
 移動相：氯甲烷：1 % 冰醋酸 (20 : 80 V/V)
 注入量：40 μ l

回收率試驗

取以 TLC 法測定不含磺胺類藥物之雞肉，進行空白試驗及分別添加 SDM、SMZ、SMM、STZ 及 SQX 等五種磺胺劑，添加量為 0.05、0.1、0.2 μ g/g，再依照檢體之萃取及操作方法進行測試以求出回收率。

結果

取磺胺類藥物標準液以甲醇稀釋到 100 μ g/ml 及 500 μ g/ml 之濃度，各以 40 μ l 點入 TLC 板，經展開後各磺胺類藥物之 Rf 值 (表一)，層析圖 (圖一)。

表一 磺胺類藥物薄層層析之 Rf 值

磺 胺 劑	Rf 值
磺胺塞唑 (STZ)	0.30
磺胺一甲氧嘧啶 (SMM)	0.60
磺胺二甲嘧啶 (SMZ)	0.64
磺胺二甲氧嘧啶 (SDM)	0.75
磺胺奎林 (SQZ)	0.70

Rf 值：磺胺類藥 (檢品) 呈現高度 / 移動相 移動高度

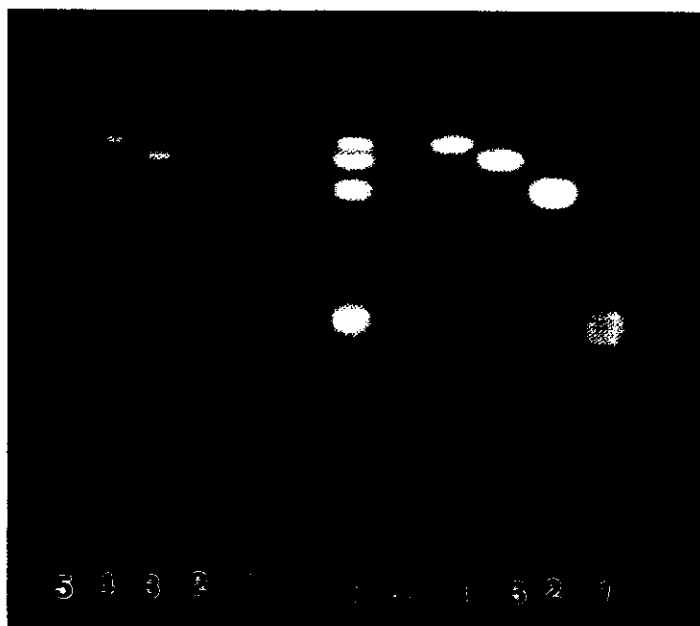
回收率試驗

空白雞肉檢體中，分別添加磺胺塞唑、磺胺一甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶及磺胺奎林等標準液各 0.05、0.1、0.2 ppm 之濃度，依檢體操作方法進行，以 HPLC 儀器檢測之結果如表二，層析圖譜如圖三及圖四。

表二之數據平均回收率磺胺塞唑、磺胺一甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶及磺胺奎林各依序為 77.4、77.9、74.6、80.2 及 80.3。

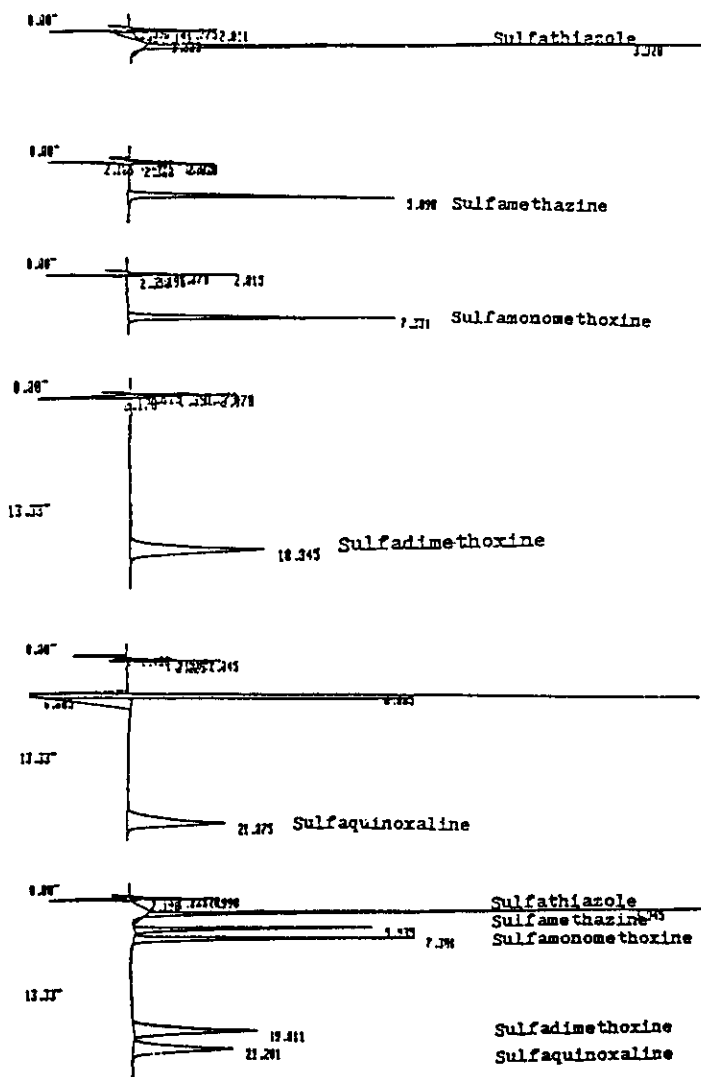
檢體測定

本次調查從 83 年 8 月至 11 月及 84 年 2 月至 4 月份赴全省北、中、南地區共採到 606 件雞肉檢體，裝於塑膠袋存放於冰箱攜回實驗室，經前處理及萃取工作，再進行薄層色層分析 (TLC) 篩選，陽性者再以高效能液相層析儀 (HPLC) 檢查各種磺胺類藥物之殘留量，其結果如表三、表四，層析圖譜如圖五及圖六。



圖一 磺胺類藥物標準液之薄層層析圖 (含量左 100 ppm, 右 500 ppm)

1. Sulfathiazole 2. Sulfamonomethoxine 3. Sulfamethazine
4. Sulfadimethoxine 5. Sulfaaquinoxaline 6. Mix of 1, 2, 3, 4, 5

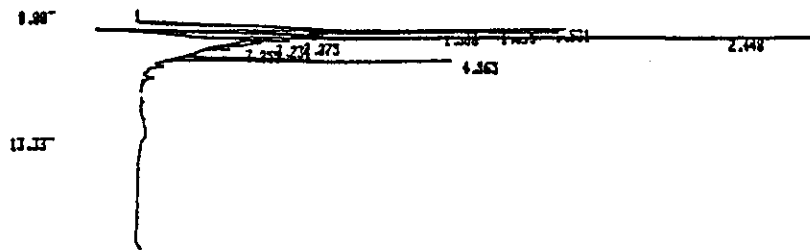


圖二 各種磺胺類藥物標準液於高效液相層析圖譜 (2.5 μg/ml)

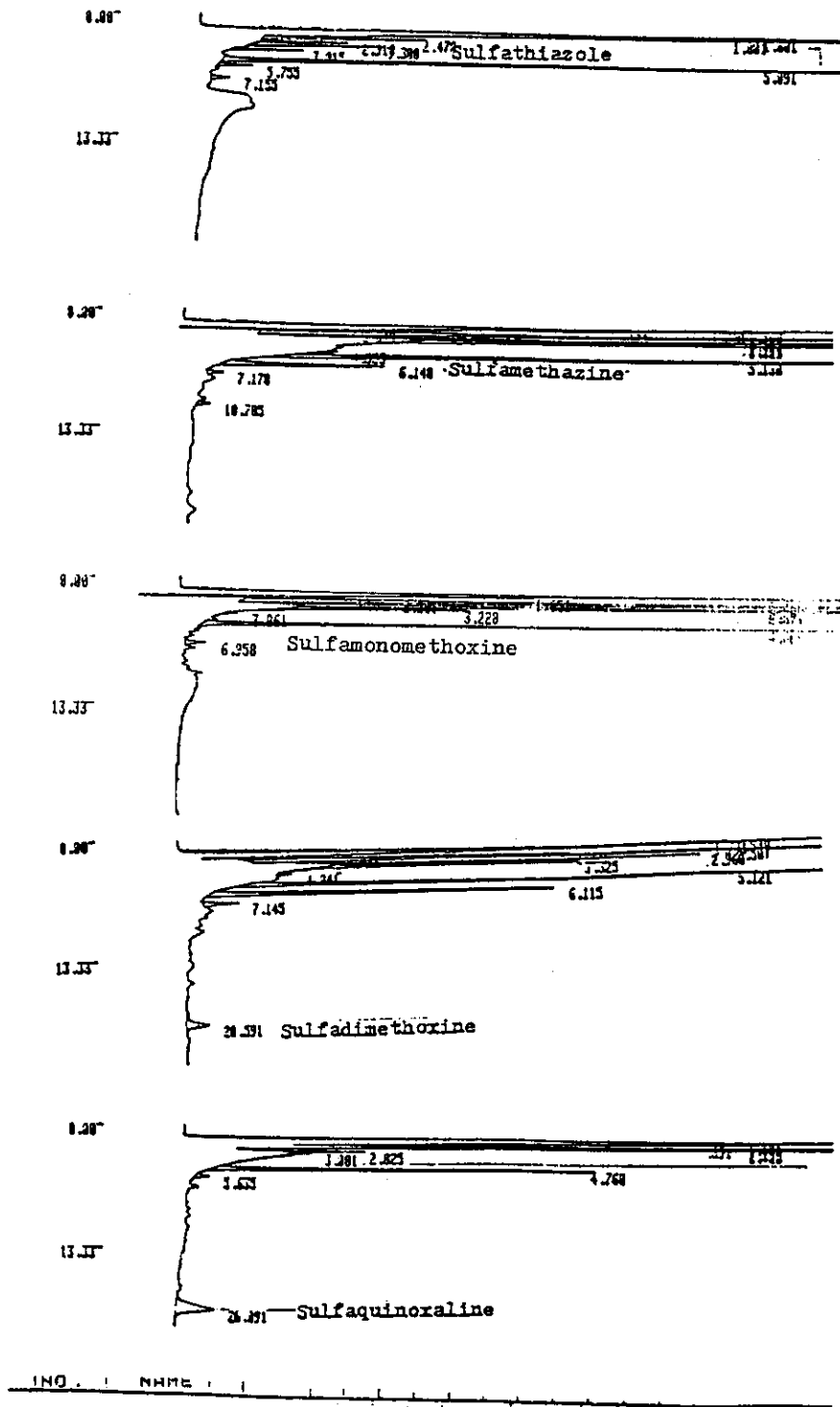
表二 雞肉添加磺胺劑之回收率

磺 胺 劑	添 加 量 ppm	平均回收率 %
磺 胺 塞 唑	0.05	79.6
	0.1	74.9
	0.2	77.6
平 均		77.4
磺 胺 一 甲 氧 嘧 啶	0.05	79.5
	0.1	76.5
	0.2	77.9
平 均		77.9
磺 胺 二 甲 嘧 啶	0.05	79.2
	0.1	74.7
	0.2	69.7
平 均		74.6
磺 胺 二 甲 氧 嘧 啶	0.05	83.2
	0.1	77.5
	0.2	79.9
平 均		80.2
磺 胺 奎 林	0.05	76.8
	0.1	83.4
	0.2	80.4
平 均		80.3

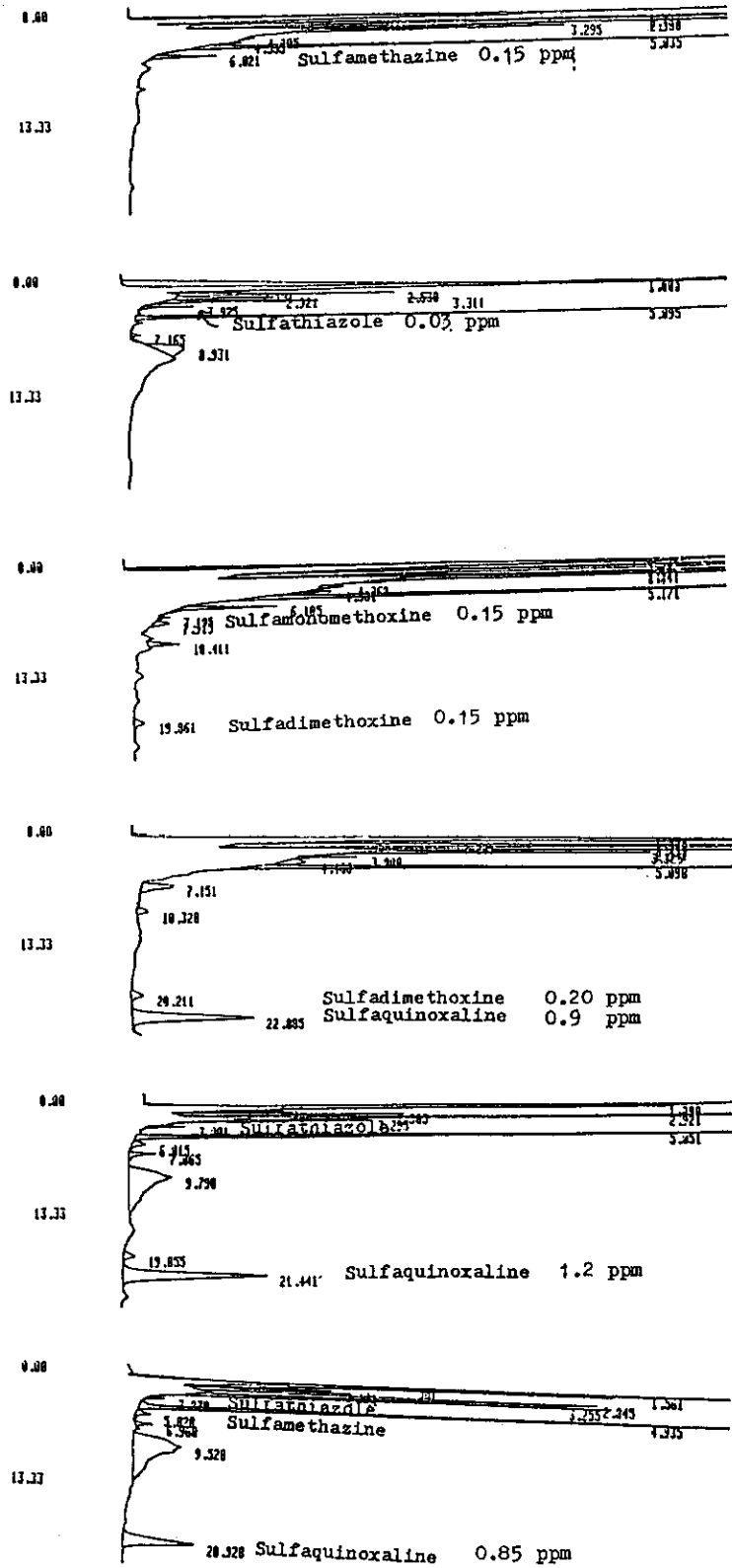
註：平均回收率為重覆三次操作之數據



圖三 雞肉空白試驗之液相層析圖譜



圖四 空白雞肉添加 0.1 ppm 各種磺胺類藥物之液相層析圖譜



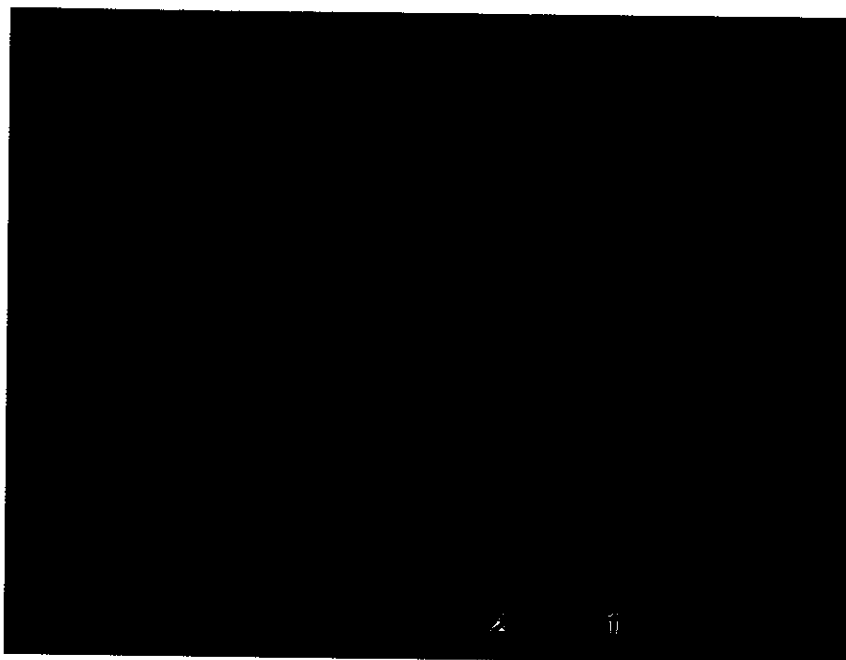
圖五 雞肉檢體中殘磺胺類藥物之液相層析圖譜

表三 各區雞肉抽樣數量及殘留件數表

區 域	抽樣數量 (件)	殘 留 件 數	%
北 區	160	8	5.0
中 區	178	10	5.6
南 區	268	22	8.2
合 計	606	40	6.6

表四 雞肉各種磺胺類藥物之殘留量

磺 胺 劑	殘 留 量 (PPM)					合 計
	0.05 以下	0.05~0.1	0.1~0.5	0.5~1	1 以上	
磺 胺 塞 唑	31					31
磺胺二甲噁啉	2	3	4			9
磺胺一甲噁啉		4	1			5
磺胺二甲噁啉	1	1	2			4
磺 胺 奎 林		2	2	2	1	7
合 計	34	10	9	2	1	56



圖六 雞肉檢體中殘留磺胺類藥物之薄層色析儀圖譜

1. Sulfamethazine 2. Mix of sulfa-drugs

討 論

各種磺胺類藥物之 TLC 圖譜如表一及圖一，其最低檢測限度為 0.05 ppm。磺胺類藥物依所使用之移動相不同而其 Rf 值也不同，依照 G. KNUPP^[13] 於 1986 年之報告，移動相以氯仿：第三丁醇：石油苯 (40~60°C) 1:1:1 時之結果，其 Rf 值，STZ、SMZ、SDM 及 SQZ 分別為 0.37、0.61、0.81 及 0.77 但卻缺乏 SMM，而戴之報告以三丁醇：氯依 (15:85, V/V) 為移動相其 Rf 值分別為 0.30、0.64、0.73、0.67 及 SMM 為 0.58，與本試驗幾乎一致。磺胺類藥物以 TLC 法操作後，最後須噴螢光劑呈色再用螢光燈於波長 254 nm 或 366 nm 判定其感度較噴亞硝酸鈉和 0.4% NEDA 法為高^[5]，但需於噴後一小時內判定為之，而噴亞硝酸鈉和 0.4% NEDA 法不需用螢光燈，肉眼即可判定 (磚紅色) 且可保存較長 (一星期) 時間。

用 TLC 法操作處理雞肉檢體，目前有快速之方法，即戴^[10] 所發表之方法，該方法為目前肉品發展基金會用來檢驗各種禽畜產品殘留磺胺類藥物之方法，不但可節省操作時間亦可節省大量有機溶劑，但該方法唯一缺點就是若處理不當或技術不夠熟練，於操作過程中脂肪排除不乾淨，則 TLC 之進行及感度會影響很大。本次調查試驗亦曾引用此方法來篩選，並與標準品液對照，其感度亦很好，於 0.05 ppm 殘留之磺胺類藥物亦可檢出。

各種磺胺類藥物於 HPLC 層析圖之滯留時間 (RT) 隨不同之移動相，壓力及流速而改變，即使在同一條件下，也會因輸入之電壓高低而稍微變化，一般 RT 值越長變化也越大。在本次試驗中，各種磺胺類藥物之 RT 值 STZ 約 3.945 分 (3.705 分~4.068 分)，SMZ 約 5.935 分 (5.648 分~6.148 分)，SMM 約 7.031 分 (6.831 分~7.301 分)，SDM 約 19.011 分 (17.105 分~20.591 分) 及 SQX 約 21.202 分 (21.055 分~22.651 分)，其圖譜如圖二。於此次調查之件數中，TLC 陽性者於 HPLC 均能清楚檢出，唯一會引起困擾者為部份陽性者，如 STZ 之 RT 值與雞肉中其他物質之雜訊接近，甚至會有重疊現象，而造成判定上的錯誤，補救方法為與 TLC 對照 RF 值以及重新跑一次 HPLC，如此比較會獲得正確判定。

藥物殘留檢驗方法，常以回收率之高低來取捨，本試驗各種磺胺劑之回收率在 77.6~80.3 之間 (表 2)，依藥檢局蔡報告^[3] 雞肉為 96.0~102.5

%，劉報告^[6] 豬肉為 52.8%、豬腎為 79.85%，Tomoo NAGATA 報告^[16] 雞肉為 79.9%、雞後腿肉為 93.7%，跟本次調查結果很接近。

本次所調查之雞肉，北、中、南三區分別抽樣 160 件、178 件、及 168 件 (表 3) 殘留磺胺類藥物者依序為 8 件 (5%)、10 件 (5.6%)、22 件 (8.2%)，而全部有 40 件檢體殘留磺胺類藥物，殘留率為 6.6%，由表 4 之雞肉殘留磺胺類藥物種類，以目前常用之磺胺藥五種做為調查對象，其他磺胺藥或許仍有殘留，只是沒有列為調查種類而已，由數據知，SQX 有 5 件、SMZ 有 4 件、SMM 有 1 件及 SDM 有 2 件等 12 件超過 0.1 ppm 外，其餘有部份均在衛生署所公佈動物用藥殘留標準 0.1 ppm^[2] 以下。在所檢測之殘留，大部份僅殘留一種磺胺類藥物，只有少部份有二種或三種磺胺類藥物殘留，如圖十所示。因而殘留件數 56 件比表三只殘留 40 件高，就是這個原因。

參考文獻

1. 行政院農業委員會，飼料添加物使用準則。2-19, 2-20, 1991。
2. 行政院衛生署公告，動物用藥殘留標準。1987。
3. 李新進、鄭秀蓮、楊喜金，豬肉中磺胺劑殘留調查，八十二年度試驗研究報告書 206-217, 1993。
4. 李新進、林士鈺、楊揚輝、邱仕炎，飼料添加氯四環素及磺胺二甲噁啉於畜產品殘留試驗，台灣省畜衛所研告 26: 69-8, 1990。
5. 經濟部商品檢驗局，肉品中殘留藥物研習會資料，1986。
6. 劉朝鑫、郭宗甫、陳雨新、彭玄桂、黃暉煌，磺胺二甲噁啉肌肉注射後豬血清濃度及組織殘留試驗，中華獸醫雜誌。15-4: 335-339, 1989。
7. 劉朝鑫，飼料添加物與畜產品中的藥物殘留，藥物食品檢驗局調查年報。5: 36-39, 1987。
8. 劉朝鑫、劉義防、彭玄桂，Pyrimethamine 與 Sulfadimethoxine 餵飼蛋鴨後在雞蛋中分佈，台大農學院報告。27-2: 51-57, 1987。
9. 蔡佳芬、鄭秋真、周薰修，豬肉、雞肉及其內臟中磺胺劑殘留量分析方法之探討，藥物食檢局研報 9: 310-320, 1991。

10. 戴東發，尿、血清、飼料及肉品中磺胺劑殘留快速初檢出，現代肉品。13：16-17，1989。
11. 鄭幸祥，豬肉中殘留磺胺二甲嘧啶檢驗法之比較，現代肉品。10：14-17，1988。
12. Bane DP, Kniffen TS and Hall WF, Sulfamthazine Residue in swine : Comparison of on-farm monitoring method. Preventive Veterinary Medicine 7 : 303 - 309, 1988.
13. Knupp G, Pollmann, H, Jonas D, An Improved HPLC Method for the Rpid Identification and Quantification of Sulfonaamides, Chromatographia Vol 22 No : 1 - 6, 21 - 24, 1986.
14. TERADA H, ASANOMA MSH, TSUBOUCHI H, ISHLHARAT and TSUBOUCHL Y, Studies on Analysis of Residuaal Synthetic Antibacterials in Foods(1) Determination of Sulfonamaides by HPLC. EISEI KAGAAKU 29(4) : 226 - 231, 1983.
15. NAGATA T and SAEKL M, Simultaneous Determination of 17 Antibacterials in Chicken Tissue by HPLC J. Pood Hyg. Soc. Japan Vol 29 - 1 : 13 - 20, 1988.
16. NAGATA T, SAEKL M, WAKI M, KATAOKA M and SHLKANO S, Sulfamonomthoxine Residue studies in Chicken Tissue, J. Food Hyg. Soc. Japan Vol 31 - 2 : 159 - 165, 1990.
17. RANDECKER VW, REAGEN JA, ENGET RE, SODERBERG DL and MCNEAL JE, Serum and Urine as Predictors of Sulfamethazine Levels in Swine Muscle, Liver and Kideny, JOURNAC of FOOD PROTECTION, Vol 50 - 2 : 115 - 121, 1985.
18. HORL Y, Systematic Analysis of Synthetic Antibacterials in Chicken Muscxles Eggs by HPLC, J, Food Hyg. Soc. Japan Vol 24 - 5 : 447 - 453, 1983.

Residue Study of Sulfa drugs in Chicken

S. J. Lee*, S. L. Jeng and S. C. Yang

Taiwan Animal Health Research Institute. Taiwan, R. O. C.

SUMMARY 606 sample of chicken were collected from markets of nine counties in Taiwan during the period of August 1994 to April 1995 for analysis of sulfa drugs residues. After homogenized and weighed, tissue sample were extracted with solvent and determined by HPLC for residues of several sulfa drugs frequently used in chicken. The investigated concentrations and the numer of positive sample for various sulfa drugs were as follows : Sulfathiazole below 0.05 ppm (5) ; Sulfamethazine below 0.1 ppm (5), between 0.1 to 0.5 ppm (4) ; Salfadimethoxine below 0.1 ppm (3), between 0.1 to 0.5 ppm (2) ; Salfaquinoxaline below 0.1 ppm (2), between 0.1 to 0.5 ppm (2), between 0.5 to 1 ppm (2), above 1 ppm (1).

There were 12 cases investigated in chicken to be above 0.1 ppm which was the allowed residual concentration of sulfa drug in normal products according to the official regultions of Department of Health. The detection percentage was estimated to be 1.98 % (12/606). On the basic of the findings of our survey, we concluded that the situation in residue of sulfa drug in chicken in Taiwan was acceptable.

Key words: *Sulfadimethoxine Sulfamethazine Sulfamonomethoxine Sulfquinoxaline Sulfathiazole*

*Corresponding author

Taiwan Animal Health Research Institute. Taiwan, R. O. C.