

氯黴素於豬肉中殘留檢測技術之建立

郭美月* 劉敏主 林士鈺

台灣省家畜衛生試驗所動物藥品檢定分所

摘要 豬肉中氯黴素 (Chloraphenicol; CP) 之殘留，以高效液相層析 (HPLC) 法檢測，在碳 18 分離管、移動相為甲醇：水=45：55，檢測波長 280 nm 之條件下，CP 標準品分析濃度為 0.2, 0.5, 0.1 $\mu\text{g/ml}$ ，分離效果良好，再現性分別為 98.2%、98.9% 及 99.4%。豬肉中添加 0.025 ppm、0.05 ppm 及 0.1 ppm，其平均回收率為 61.5%、60.9% 及 65.1%。

關鍵詞：氯黴素、高效液相層析儀，殘留，動物組織

緒言

氯黴素是一種從 *Streptomyces Venezuela* 分離出之廣效性抗生素，廣泛的使用在動物之呼吸道及腸道感染，唯經長期使用易導致造血機能障礙而引起再生不良性貧血^(5,6)，如使用不當造成畜產品之殘留，將影響消費者之健康，目前美國禁止使用在肉用動物上⁽⁶⁾，在我國則不能當飼料添加物使用⁽¹⁾。為了瞭解氯黴素在畜產品中之殘留情形，著手進行這項調查，期能提供農政單位正確的管理方向，減少畜產品之殘留。

材料與方法：

1. HPLC 之條件

儀器為 Waters Model 6000A 型，Pump 美製，Model 440 UV 偵測器。280 nm 束光片，U6K 注射系統及 Data Module 積分器。感度 0.02 AUFS。分離管柱為 Nucleosil 5C18 200 x 8 x 4 mm，移動相為 Methanol：Water = 45：55，流速為 0.7 ml/min，樣本液，分析量為 80 μl ，檢測波長為 280 nm。

2. 試驗材料設備

- (1) 碎肉機：BrAnm 牌 Multiquick 200 型。
- (2) 離心機：Kokusan H103 型。
- (3) 可加熱磁棒攪拌器 Laboratory Stirrer/HOT Plate：Model PC-320。

(4) 全自動真空濃縮機：CSavant instrument INC, Model A160。

(5) Extrelut Cartridge-20ml：(Merck) Art NO. 11737

(6) 甲醇 (Methanol) 為 LC 級，二氯甲烷 (Dichloromethane) 為分析級，蒸餾水。

(7) 藥物標準品：Chloramphenicol 為 USP 級標準品。

3. 檢量線，精確稱取 CP 標準品 20 mg 置於 20 ml 褐色容量瓶中加入甲醇至刻度，即得 1000 $\mu\text{g/ml}$ 之原液，取適當原液用水稀釋成 0.2 $\mu\text{g/ml}$ ，0.5 $\mu\text{g/ml}$ ，1 $\mu\text{g/ml}$ 等三種濃度，分別注入 HPLC 中，分析定量得峰高值，以濃度對峰高值經直線迴歸分析法製作標準曲線。

4. 抽出率試驗，取適當不同濃度之 CP，分別加入預先磨碎 10 G 之空白豬後腿肉中，使其殘留量分別是 0.025 ppm，0.05 ppm，0.1 ppm 加入蒸餾水 40 ml 萃取，過濾，取濾液 20 ml 注入 Extrelute Cartridge 內，15 分鐘後以 70 ml Dichloromethane 沖提，沖提液以全自動真空濃縮機在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下濃縮至乾，以 0.5 ml 之水定容，取 80 μl 注入 HPLC 中分析定量。

結果

HPLC 分析條件及檢量線。CP 在 Nucleosil 5C18 逆相分離管柱及 45% 甲醇之移動相，波長

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

280 nm 下可得對稱性良好之波峰 (圖一)。CP 標準液三種濃度 0.2, 0.5, 1 $\mu\text{g/ml}$ 重複四次注入 HPLC 分析所得峰高值之變異係數為 1.8 %, 1.1 % 及 0.6 %。CP 標準液濃度對 HPLC 分析峰高值所作之迴歸直線方程式為 $Y = -0.00346 + 0.21247 X$, 其相關係數 (r) 為 0.99995 (表一)。

抽取率試驗, 本試驗主要參考 Aerts (5) 所用之方法改良者。肉中 CP 以水抽出後, 利用 Extrelute Cartridge 淨化, 再以二氯甲烷沖提, 沖提液蒸乾後以水 0.5 ml 定容, HPLC 分析結果肉中添加 CP 0.025 ppm, 0.05 ppm 及 0.1 ppm 其回收率分別為 61.53 %, 60.9 %, 65.1 %。相對標準偏差為 6.3 %, 3.6 % 及 2.8 % (表二)。

討論

本試驗抽出率試驗結果之層析圖 (圖二) 不明波峰很多, 基線不穩定。此乃殘留試驗為了提高檢

出界限樣品注入量增加所引起之現象, 但依據層析圖 (圖二) 可知不會干擾 CP 之檢。出如依 Aerts (4) 等之報告以苯甲酸 (Toluene) 去雜質, 前述之情形可獲得改善, 但回收率降低 (55.1 % (4) 筆者等追試結果為 50 %), 而且在 45 分鐘前後有一大波峰出現, 延遲檢出時間。為了節省時間省略此步驟後, 回收率分別提升為 61.5 %, 60.0 %, 65.1 % (表二)。依據日本畜產生物科學安全研究所編之資料 (3) 畜產品之殘留量在 1 ~ 2 ppm 時, 其回收率應在 70 % 以上。本報告之檢出濃度僅 0.025 ~ 0.1 ppm 間, 回收率 60.9 % 應可接受。又依據 Allen (5) 等之報告, 肉中殘留量從 10 ~ 66 ppb 之回收率分別為 45 % ~ 89 % 間, 故本報告所開發之方法其回收率尚可應用在肉品中殘留 CP 之檢測上, 應可精確檢出, 建議以此法對全省之水, 畜產品進行 CP 之殘留調查, 以便對全省殘留情形有所了解, 俾供農業主管機關施政之參考。

表1. CP三種濃度之波峰複驗性及檢量線

0.2c	0.5	1
0.945a	2.390	4.715
1.8 %b	1.1 %	0.5 %

檢量線 $Y = -0.00346 + 0.21247 X$

相關性 $r = 0.99995$

a. 四次峰高平均值

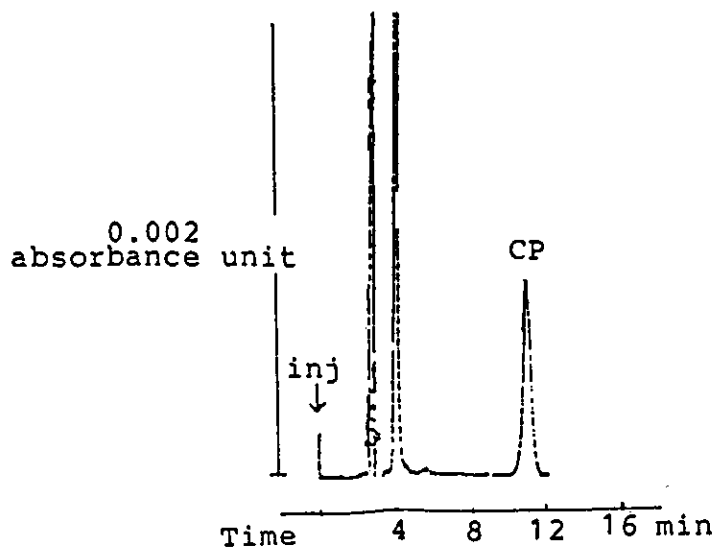
b. 相對標準偏差

c. 濃度, 單位為 $\mu\text{g/ml}$

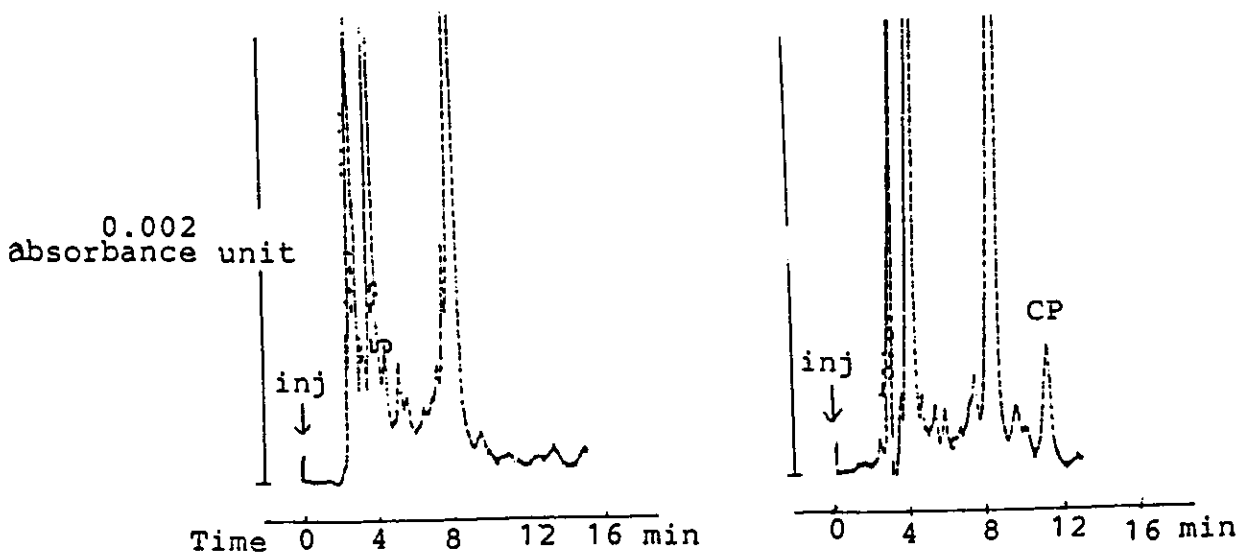
表2. 豬肉中添加 CP 之回收率

添加量	檢 出 率			回收率 \pm RSD%
	1	2	3	
0.025ppm	61.5	65.4	57.7	61.53 \pm 6.3
0.05 ppm	60.8	58.8	63.1	60.9 \pm 3.6
0.1 ppm	63.3	65.0	67.0	65.1 \pm 2.8

RSD: 相對標準偏差



圖一、CP 標準品 0.5 ppm 之層析圖



圖二、空白豬肉及添加 0.05 ppm CP 之層析圖

參考文獻

1. 行政院農委會，飼料添加物使用準則，(77)農牧字第 7050080 A 號公告，3, 1988。
2. 呂車鳳、楊昌珩、陳雨新, 氯黴素投與吳郭魚後以高效液相層析法檢測確認其殘留。中華獸醫誌 18 (4) : 261-268。
3. 畜產生物科學安全研究所編。5, 1985, 動物用醫藥品，飼料添加物の畜・水産物への殘留とその分析法。近代出版。日本。
4. Aerts RML, Hrnk JK, and Geaiena AW. Liquid Chromatographic determination of chloramphenicol residues in meat, J Assoc. Off. Anal Chem 72 (4) : 570- 576, 1989.
5. Allen EH. Review of chromatographic methods for chloramphenicol residues in milk, eggs and tissues from food producing animals. J Assoc Off Anal Chem 68 (15) : 990-999, 1985.
6. Krystyna T. Kevin MH, David PA, and Arthur LA. Simple LC method for determination of chloramphenicol in dquine, canine, and feline serum. J Chromatographic Science 26 : 533-536, 1988.

Development of Chloramphenicol Residue Determination Method in Porks

*M. Y. Kuo, M. C. Liu and S. Y. Lin

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health
The Branch Institute of Animal Drugs Inspection

SUMMARY A high performance Liquid Chromatographic method for determination of chloramphenicol (CP) residue in Pork had been developed. Using this method, a good separation of CP standard Solution at concentration of 0.2, 0.5, 0.1 ug/ml could be obtained. The recovery were 98.2 %, 98.9 % and 99.4 %, respectively, The average recovery of Chloramphenicol added to Pork at level of 0.025, 0.05, 0.1 PPM were 61.5 %, 60.9 %, 65.1 %, respectively.

Key words: *Chloramphenicol, High Performance Liquid Chromatography, Residue Animal Tissues*