



## 肉品中磺胺劑殘留量檢測之探討

李拱熙 林阿洋

南部檢驗站

### 摘 要

本試驗之目的在探討行政院衛生署公告「食品中動物用藥殘留量檢驗方法—磺胺劑之檢驗」及臺灣區肉品發展基金會現行採用之「肉品中磺胺劑殘留分析—快速初檢方法(稀硫酸法)」，以薄層層析定性方法比較其差異性，並依動物用藥殘留標準 0.1 ppm 分別添加標準品做回收試驗，再以 HPLC 法測其回收率，結果兩種方法平均回收率分別為 80.2%、59.9%。

於八十三年十一月間在高雄市傳統市場隨機價購 70 件溫體豬肉檢體，依上述二種薄層層析法進行磺胺劑之檢驗，結果有三件檢體在兩種不同方法顯示磺胺二甲嘧啶(Sulfamethazine)均為陽性反應。依公告方法以 HPLC 定量結果其含量介於 0.46 ppm 至 0.70 ppm 之間，其餘檢體均未檢出。

### 前 言

養豬業者在飼養期中常基於動物疾病之治療或預防的目的而廣泛的使用磺胺劑等藥物，屢有所聞。尤其飼養者為了增進飼料效率，並促進生長，常採用低劑量長期使用之方法，因其安定性高又有組織移行性，若用法及用量不當或未能嚴格遵守屠宰前的停藥規定，則豬肉中就難免會造成磺胺劑的殘留問題，特別是磺胺二甲嘧啶最被重視，因它不但殘留率較高，又經老鼠試驗證實會引起甲狀腺濾泡性腺瘤<sup>(1)</sup>，故若長期超量食用，可能對人體器官也會造成不良影響，導致歐美日等國政府採取監管措施，以防杜可能造成的安全問題，我國也不例外，衛生署公告的動物用藥殘留標準<sup>(2)</sup>，磺胺劑的殘留量為 0.1 ppm 以下。

### 材料與方法

#### 一.材料

(一)市售品調查用檢體：83 年 11 月間在高雄市傳統市場隨機價購溫體豬肉檢體 70 件。

(二)試藥：氰甲烷(MERCK)、甲醇(ALPS)、正己烷(ROMIL)、乙酸乙酯(MERCK)、氯仿(MERCK)、醋酸(WAKO)、正丁醇(MERCK)均採 L.C. 級，氫氧化鈉(MERCK)，無水硫酸鈉(WAKO)採試藥特級，氧化鋁(Active 1、鹼性、1 CN Biomedicals)。

(三)標準品：正確稱取磺胺嘧啶(Sulfathiazol)、磺胺二甲嘧啶(Sulfamethazine)、磺胺二甲氧嘧啶(Sulfadimethoxine)、磺胺一甲氧嘧啶(Sulfamonomethoxine)、磺胺奎林(Sulfaquinoxaline)標準品各 100 mg，分別溶於丙酮使成 100 ml (1000 µg/ml)，再以移動相溶液稀釋至 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 ppm，供作標準溶液。

(四)器材及材料：均質攪拌機、離心機、振盪器、減壓濃縮裝置、PH Meter、紫外燈(具 365 nm 波長)、分液漏斗、展開槽、吹風機、毛細管、微量注射器及淨化管。

(五)展開溶媒：

(1) 氯仿：正丁醇(80:20)

肉品中磺胺劑殘留量檢測之探討

(2) 氯仿：三丁醇 (85:15)

(六) 矽膠薄層板：

Merck Silicagel 60 F 254 20 × 20 cm layer thickness 0.2 mm Art.5735, (plastic)

Whatman Silicagel 60 A 20 × 20 cm layer thickness 0.25 mm Catalog NO. 4866821, (glass)

(七) 發色液：

呈色法：先噴呈色液 (1%NaNo)，風乾後再噴呈色液 (0.4% NEDA)。在 TLC 板上呈現粉紅色圓點者，即為磺胺劑。

螢光法：直接以 0.01% Fluorescamine 丙酮溶液噴灑於已展開好的 TLC 板上，風乾後置於 365 nm 之紫外燈下，有螢光點者，即為磺胺劑。

(八) 移動相 (Mobile Phase) 溶液之調製：

以醋酸調去離子水之 PH 值使成 3.6 與氧甲烷以 80:20(v/v) 之比例混合均勻，抽氣後，作為移動相溶液。

(九) 儀器及分析條件：

液相層析儀：Waters Associates, Inc. Liquid Chromatograph

層析分離管：U-Bondpack C18, 300 × 3.9 mm 10 Micron

移動相：依 (八) 所調製之溶液

流速：1.4 ml/min

檢出器：UV (波長 267 nm)

積分器速度：1 cm/min

二. 定性及定量分析

(一) 定性：薄層層析方法

(1) 衛生署公告方法流程

- ↓ 豬肉檢體 10 gm 均質器中
- ↓ 加 Acetonitrile 100 ml 及無水硫酸鈉 500 gm，Mix 5 min 離心過濾。
- ↓ 殘渣再以 Acetonitrile 50 ml 萃取一次，合併 Acetonitrile 抽出液。
- ↓ 以經 Acetonitrile 飽和後之 N-Hexane 30 ml 洗三次。
- ↓ Acetonitrile 層以 35 ~ 40 °C 水浴減壓濃縮至 1 ml。

- ↓ 分別點在 Merck Silicagel 60F 254 及 Whatman Silica gel 60A 各二片，以展開溶媒 (1)、(2) 展開後以呈色法及螢光法作呈色反應。

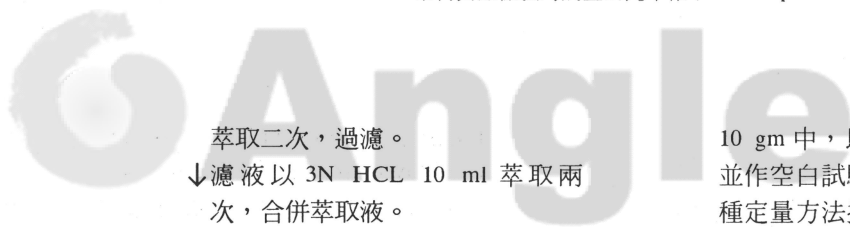
(2) 肉基會檢驗方法流程

- ↓ 豬肉檢體 4 gm。
- ↓ 加 0.01N 硫酸 50 ml，Mix 5 min。
- ↓ 離心分離 (3000 rpm, 5 min)。
- ↓ 取上層澄清液 + 氯仿 25 ml 於分液漏斗內振盪 5 min。
- ↓ 離心分離 (3000 rpm, 10 min) 取下層液。
- ↓ Whatman NO.4 濾紙無水硫酸鈉 5 gm 過濾。
- ↓ 減壓濃縮至乾 (40 °C)。
- ↓ 以甲醇 150 μl 定容。
- ↓ 分別點在 Merck Silicagel 60F 254 及 Whatman Silicagel 60A 各二片，以展開溶媒 (1)、(2) 展開後以呈色法及螢光法作呈色反應。

(二) 定量：高效液相層析方法

(1) 衛生署公告方法流程

- ↓ 豬肉檢體 10 gm，依定性方法調製檢液。
  - ↓ 以 85% 甲醇水溶液定容至 4 ml，注入氧化鋁淨化管內淨化。
  - 淨化：淨化管 300 mm × 15 mm (內徑)，底部以玻離棉充塞，取 6 gm 氧化鋁及 50 ml 甲醇混合均勻倒入，待氧化鋁沉澱後，將甲醇流出，再倒入 85% 甲醇水溶液 30 ml，清洗後備用。
  - ↓ 以甲醇：醋酸：去離子水 (30:0.4:70) 溶液 30 ml 溶離磺胺劑。
  - ↓ 收集溶離液於 65 °C 水浴中減壓濃縮至乾。
  - ↓ 精確量取液相層析移動相溶液 1 ml 溶解之，經濾膜過濾。
  - ↓ 作為 HPLC 之檢液。
- (2) 肉基會分析方法流程
- ↓ 豬肉檢體 10 g 置於離心管內。
  - ↓ 以氯仿：冰醋酸 98:2 溶液 40 ml



- 萃取二次，過濾。
- ↓濾液以 3N HCL 10 ml 萃取兩次，合併萃取液。
- ↓振盪 10 分鐘，靜置。
- ↓取上層，以正己烷 (N-Hexan) 30 ml 洗滌 (抽取油脂)。
- ↓振盪，靜置，取下層液。
- ↓調 PH 值於 6.3 ~ 6.5 之間 (先以 12N NaOH，再以 1N NaOH 或 3N 及 1N HCl 調)。
- ↓以乙酸乙酯 30 ml 萃取兩次，合併萃取液。
- ↓以適量無水硫酸鈉脫水去雜質過濾。
- ↓濾液 40 °C 減壓濃縮至乾。
- ↓取內部標準液 (Sulfathiazol 1 ppm) 1 ml 定容。
- ↓作為 HPLC 之檢液。

三標準曲線之製作：

精確量取一系列磺胺劑標準混合溶液 0.5、1、1.5、2、2.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，各 20  $\mu\text{l}$ ，依序注入高效液相層析儀，每一濃度作三重覆，由波峰所得平均面積及標準溶液之濃度繪製標準曲線。

四回收試驗：

- (一)分別取五種磺胺劑之標準液添加於空白樣品中，其用量依動物用藥殘留標準 0.1 ppm 及其半量 0.05 ppm 計算，依前述兩種薄層層析法定性之，做為回收試驗。
- (二)精確分別量取 1.0、2.0 ppm 濃度之標準混合液 1 ml，添加於均質後之檢體

10 gm 中，以均質機攪拌 3 分鐘，同時並作空白試驗。其餘試驗步驟依前述二種定量方法操作，以高效液相層析儀測之，算出回收率作三重覆，以確定其再現性。

結果與討論

一定性分析薄層層析法之檢討：

衛生署公告方法所採用的矽膠薄層板為 "Silica gel 60"，至於係採用何種品牌並無規定。今就市售兩種不同品牌之 TLC 板，以螢光法及呈色法分別探討五種磺胺劑之顯色情形。結果以 Merck 5735 之塑膠板採用螢光法為最理想之選擇，詳如表一。

衛生署公告法係取樣 10 gm，最後濃縮至 1 ml，而肉基會方法係取樣 4 gm，最後容量為 150  $\mu\text{l}$ ，今假設 TLC 薄層板之注射量為 20  $\mu\text{l}$ ，依磺胺劑殘留標準豬肉可食部份為 0.1 ppm 及其半量 0.05 ppm 計算，則兩種方法最後在 TLC 板上磺胺劑之總濃度有 2 倍之差異，見表二，採用公告法時，建議濃縮至 0.5 ml，以提高偵測感度。

衛生署公告方法之展開液為氯仿：正丁醇 = 80:20，肉基會之展開液為氯仿：三丁醇 = 85:15，今就兩種不同之 TLC 板，採用兩種不同之展開液，分析結果五種磺胺劑之 Rf 值如表三所示均有良好之分離效果並無明顯差異。

二定性分析薄層層析方法添加磺胺劑作回收

表一 磺胺劑以不同品牌不同方法薄層層析呈色對照表

標準品總量	Merck Silica gel 60F254		Whatman Silica gel 6A	
	螢光法	呈色法	螢光法	呈色法
10 ng	淡黃綠色螢光	不明顯	不明顯	不明顯
20 ng	鮮明黃綠色螢光	不明顯	不明顯	不明顯
30 ng	鮮明黃綠色螢光	不明顯	淡黃綠色螢光	不明顯
50 ng	鮮明黃綠色螢光	淡江色斑點	鮮明黃綠色螢光	不明顯
100 ng	鮮明黃綠色螢光	淡江色斑點	鮮明黃綠色螢光	淡紅色斑點

肉品中磺胺劑殘留量檢測之探討

表二 兩種定性薄層層析法磺胺劑取樣量之比較

	取樣量	磺胺劑含量	樣品中 磺胺劑總量	TLC板注射量	TLC板 磺胺劑總濃度
公告方法	10 gm	0.1 ppm	1000 ng/1 ml	20 $\mu$ l	20 ng
		0.05 ppm	500 ng/1 ml		10 ng
肉基會法	4 gm	0.1 ppm	400 ng/150 $\mu$ l	20 $\mu$ l	53 ng
		0.05 ppm	200 ng/150 $\mu$ l		27 ng

表三 五種磺胺劑在不同展開液之 Rf 值

Sulfadruugs (磺胺劑)	氯仿：正丁醇 (80:20)		氯仿：三丁醇 (85:15)	
	Merck	Whatman	Merck	Whatman
Sulfathiazol (磺胺噻唑)	0.55	0.62	0.35	0.56
Sulfamonomethoxine (磺胺一甲氧嘧啶)	0.71	0.75	0.55	0.69
Sulfamethazine (磺胺二甲嘧啶)	0.75	0.80	0.64	0.78
Sulfaquinoxaline (磺胺奎林)	0.84	0.86	0.67	0.80
Sulfadimethoxine (磺胺二甲氧嘧啶)	0.89	0.90	0.72	0.89

試驗之檢討：

衛生署公告之動物用藥殘留標準磺胺劑在豬肉可食部份為 0.1 ppm，今以兩種方法分別添加標準品作回收試驗比較之。公告方法：

10 g 肉 + 10  $\mu$ g/ml 磺胺劑  $\times$  100  $\mu$ l = 肉中含有 0.1 ppm 之磺胺劑

10 g 肉 + 10  $\mu$ g/ml  $\times$  50  $\mu$ l = 肉中含有 0.05 ppm 之磺胺劑

肉基會法：

4 g + 10  $\mu$ g/ml  $\times$  40  $\mu$ l = 肉中含有 0.1 ppm 之磺胺劑

4 g + 10  $\mu$ g/ml  $\times$  20  $\mu$ l = 肉中含有 0.05 ppm 之磺胺劑

結果衛生署公告法採用 Merck TLC 板對五種磺胺劑感度均很好，而肉品基金會

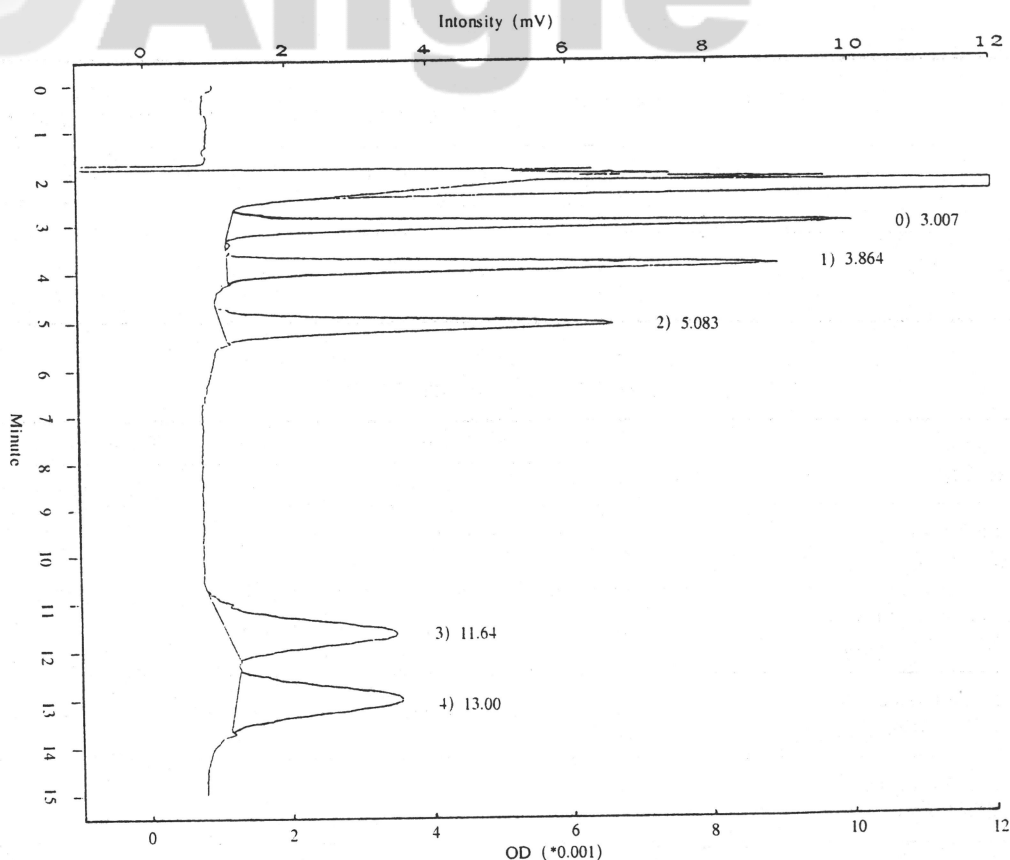
採用螢光法對五種磺胺劑回收感度也均很好。

三五種磺胺劑液相層析圖譜如圖一所示，其濃度均為 1 ppm，結果顯示分離效果相當良好。配置一系列濃度之標準混合液所得標準曲線如圖二至圖六，其線性關係良好。

四、豬肉中添加磺胺劑定量回收檢討：

衛生署公告方法平均回收率 Sulfathiazol(磺胺噻唑)為 84.2%，Sulfamethazine(磺胺二甲嘧啶)為 79.8%，Sulfamonomethoxine(磺胺一甲氧嘧啶)為 78.1%，Sulfadimethoxine(磺胺二甲氧嘧啶)為 82.5%，Sulfaquinoxaline(磺胺奎林)為 76.4%。見表四

肉基會方法平均回收率 Sulfathiazol(磺胺噻唑)為 50.2%，Sulfamethazine



圖一 磺胺劑 1 ppm 之混合標準圖譜

0. 磺胺噻唑 (Sulfathiazole)
1. 磺胺二甲嘧啶 (Sulfamethazine)
2. 磺胺一甲氧嘧啶 ((sulfamonomethoxine)
3. 磺胺二甲氧嘧啶 (Sulfadimethoxine)
4. 磺胺奎林 (Sulfaquinoxaline)

(磺胺二甲嘧啶) 為 70.5%，Sulfamonomethoxine(磺胺一甲氧嘧啶) 為 54.4%，Sulfadimethoxine(磺胺二甲氧嘧啶) 為 63.4%，Sulfaquinoxaline(磺胺奎林) 為 61.1%。見表四

五 衛生署公告方法，定性係以乙氧萃取，定量係依定性方法再淨化處理，步驟較少。肉基會分析方法，定性係以硫酸溶液溶離，氯仿萃取，而定量方法係以氯仿、冰醋酸溶液萃取，再以鹽酸溶液萃取，經去脂中和後，再以乙酸乙酯萃取流程較多。

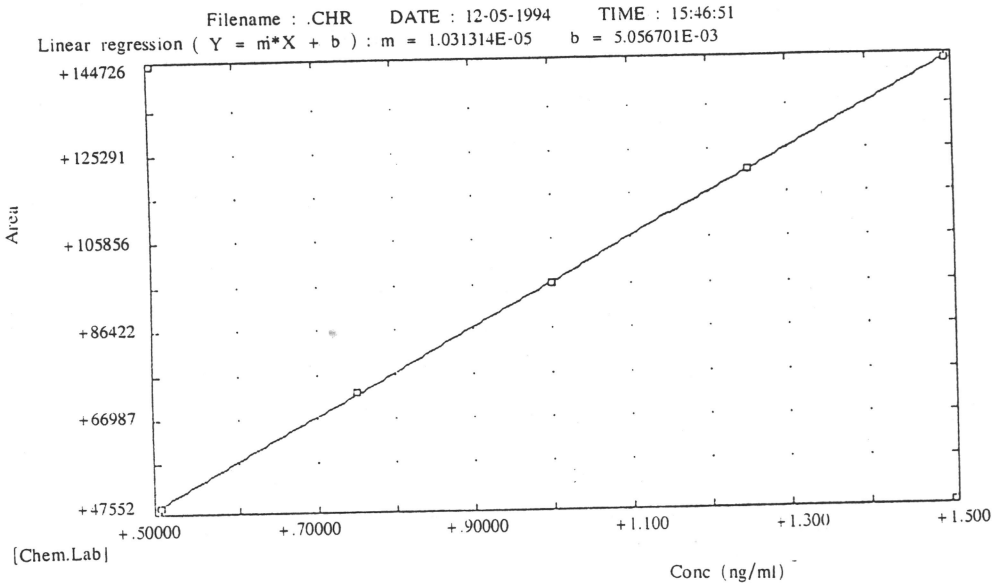
六 市售品之調查：

在高雄市傳統市場抽購 70 件檢體，依衛生署公告方法及肉基會方法分別定性篩檢，結果如表五所示，其中有三件檢體在兩種不同方法中 Sulfamethazine 呈陽性反應，再以公告之定量方法分析其殘留量，分別為 0.46，0.70，0.57 ppm。

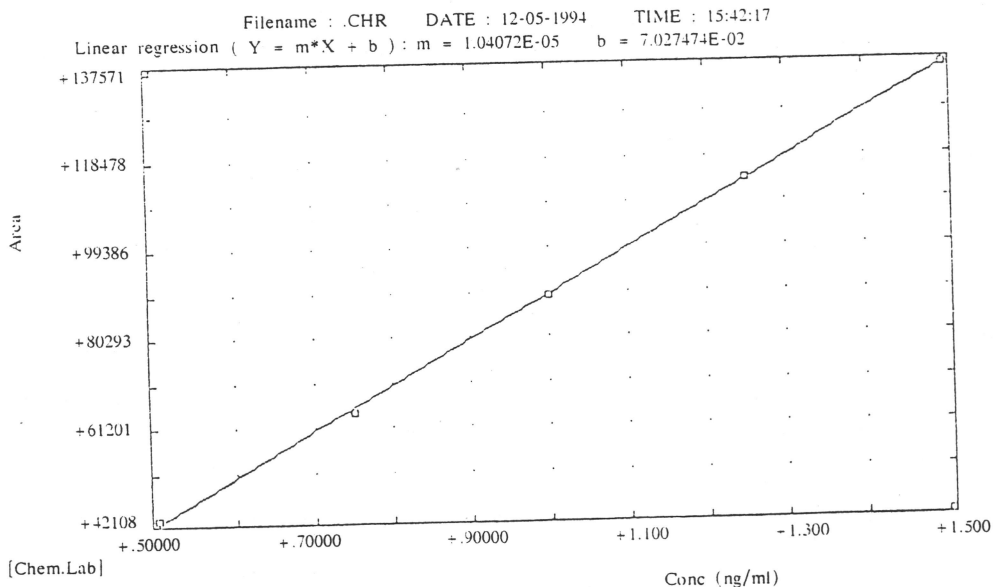
## 結 論

- 一 檢體需於新鮮狀況下儘速進行檢驗。
- 二 檢體宜取瘦肉部位，以免油脂過多，影響

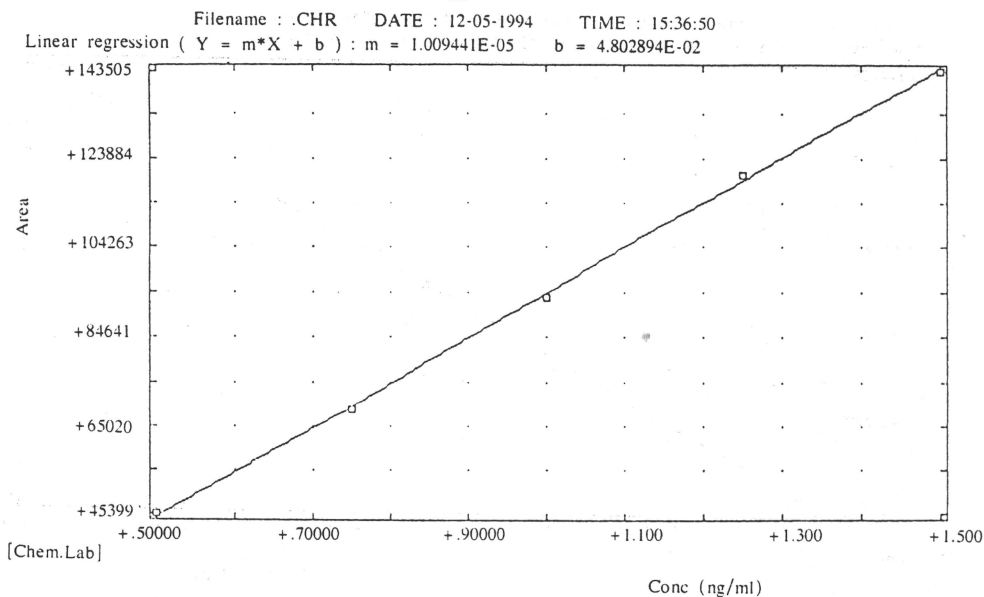
肉品中磺胺劑殘留量檢測之探討



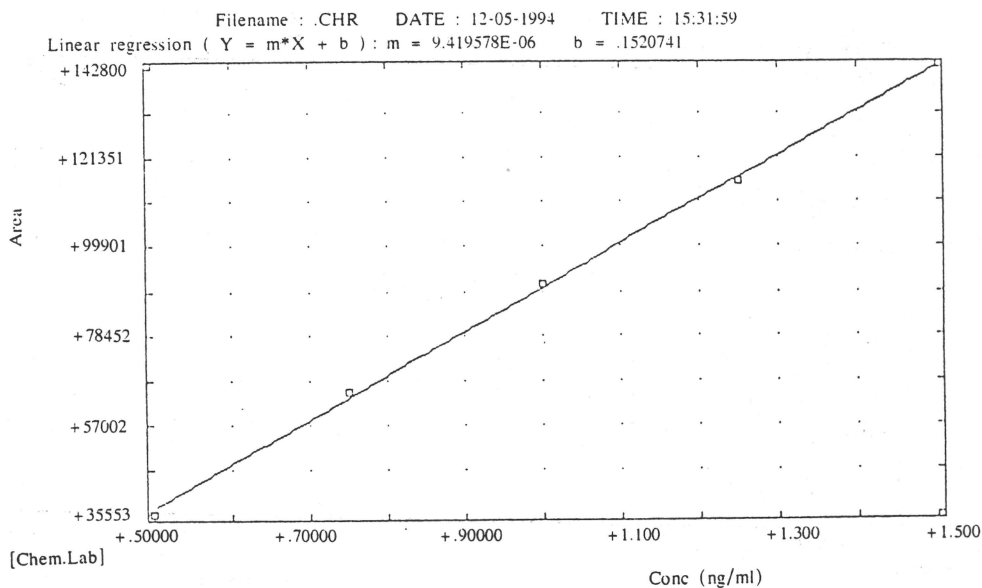
圖二 Sulfathiazol(磺胺噻唑)標準曲線圖



圖三 Sulfamethazine(磺胺二甲嘧啶)標準曲線圖

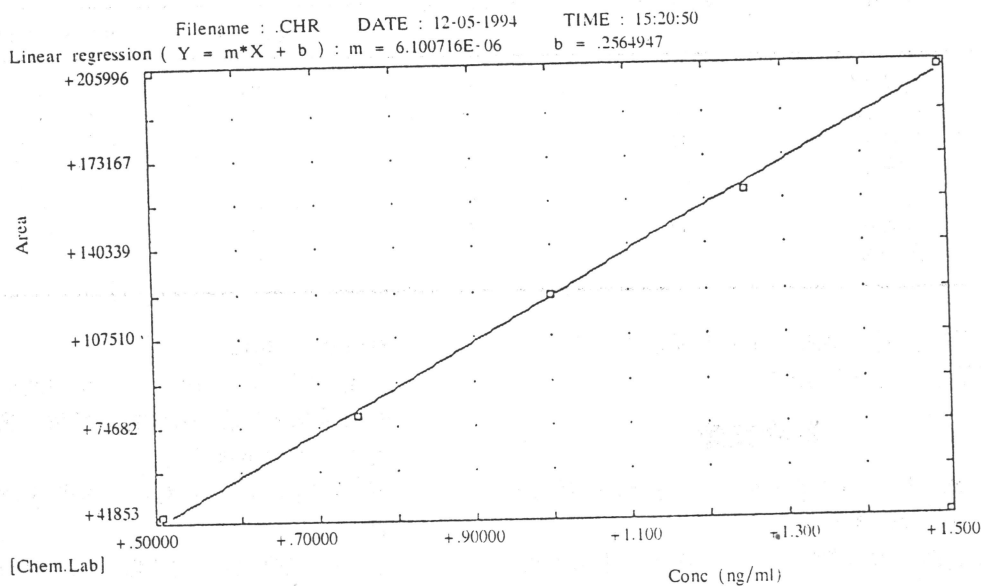


圖四 Sulfamonomethoxine(磺胺一甲氧嘧啶)標準曲線圖



圖五 Sulfadimethoxine(磺胺二甲氧嘧啶)標準曲線圖

肉品中磺胺劑殘留量檢測之探討



圖六 Sulfaquinoxaline(磺胺奎林)標準曲線圖

表四 豬肉檢體經不同方法添加磺胺劑回收試驗結果

Sulfadrgs(磺胺劑)	添加濃度 (ppm)	回收率 (%)		平均回收率 (%)	
		公告法	肉基會法	公告法	肉基會法
Sulfathiazol (磺胺噻唑)	1.0	89.3	50.7	84.2	50.2
	2.0	79.1	49.6		
Sulfamethazine (磺胺二甲氧嘧啶)	1.0	80.0	71.2	79.8	70.5
	2.0	79.5	69.7		
Sulfamonomethoxine (磺胺一甲氧嘧啶)	1.0	77.4	55.8	78.1	54.4
	2.0	78.7	52.9		
Sulfadimethoxine (磺胺二甲氧嘧啶)	1.0	82.9	55.5	82.5	63.4
	2.0	82.0	71.3		
Sulfaquinoxaline (磺胺奎林)	1.0	82.7	56.9	76.4	61.1
	2.0	70.1	65.2		

檢驗，因消費者現在都吃瘦肉，肥肉不吃。

三定性試驗之 TLC 板，以 Merck Silicagel 60F254 較 Whatman Silicagel 60A 敏感，

藥物食品檢驗局調查研究年報 (Ann. Rept. NLFD)

表五 高雄市市售豬肉中磺胺劑殘留量調查結果

地區	檢驗件數	檢出件數	磺胺劑殘留量	
			0.5 ppm 以下	0.5 ~ 1.0 ppm
三民區	10	0	0	0
鼓山區	10	0	0	0
左營區	10	0	0	0
苓雅區	10	3	1	2
前金區	10	0	0	0
新興區	10	0	0	0
鹽埕區	10	0	0	0

至於展開溶媒兩者並無明顯之差異性。  
四螢光法比呈色法敏感。

### 參考文獻

1. 鄭幸祥。肉品藥物殘留分析技術。現代畜殖，21-21(1990)。
2. 行政院衛生署。1987。動物用藥殘留標準。衛署食字第 658449 號公告。
3. EPSTEIN, L; P; RUSSELL, C. H; 1988. Influence of Heat and Cure Preservatives on Residues of Sulfamethazine, Chloramphenicol, and Cyromazine in Muscle Tissue. J Agric. Food Chem, 36:1009 ~ 1012.
4. 行政院衛生署。1991。食品中動物用藥殘留量檢驗方法—磺胺劑之檢驗。衛生署食用第 923750 號公告。
5. 陳景川等七名。肉製品磺胺劑殘留之調查。
6. 蔡佳芬、鄭秋真、周薰修。市售豬肉及雞肉中磺胺劑殘留量之調查。
7. 國立屏東專科學校水產養殖檢驗服務中心。肉品中磺胺劑藥物殘留檢驗。
8. 肉品發展基金會。載東發。血清、肉品中磺胺劑殘留快速初檢法。

肉品中磺胺劑殘留量檢測之探討



## DETERMINATION AND INVESTIGATION OF SULFADRUG RESIDUES IN MEAT

K.S.LEE AND A-YANG LIN

SOUTHERN DISTRICT LABORATORY

### ABSTRACT

The purpose of this experiment is to compare the "Investigation method for residual amount of medicine in food" announced by Department of Health, Executive Yuan, and "Fast screen test in analysis of residual sulfadrag in meat". First we compared their differences by using 2 thin layer chromatography methods, then recovery experiments according to standards for residual medicine in animals, 0.1 ppm, and measurements for the rate of recovery using HPLC method were used. The results show that the rates

of recovery for the two methods are 80.2%, 59.9%, respectively.

70 meat samples purchased randomly from Kaohsiung markets in Nov.1994 were analyzed. According to the two thin layer chromatography methods mentioned above. Three of the samples showed positive in Sulfamethazine residue analysis by both methods with amounts ranging between 0.46 ppm and 0.70 ppm as measured by HPLC. And the others showed negative results for both investigation methods.