

牛肉、豬肉暨雞肉中甲磺氯黴素之殘留分析

陳石松* 蔡佳芬 胡美珍 楊仕喜 周薰修

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘 要

利用高效液相層析法分析牛肉、豬肉及雞肉中甲磺氯黴素之檢驗方法業已建立。甲磺氯黴素以乙腈自檢體中均質萃取過濾，再以經乙腈飽和之正己烷脫脂後，濃縮至乾，再以矽酸鎂過濾層析管柱淨化，利用高效液相層析儀分析定量。所使用之層析管柱為 Cosmosil C18，移動相為乙腈:水(20:80)，以紫外光檢出器於 226 nm 進行檢測。於檢體中添加甲磺氯黴素 0.05、0.1 及 0.15 ppm 時，其回收率於牛肉、豬肉及雞肉中分別為 74.5 ~ 96.6%，76.8 ~ 94.4% 及 73.9 ~ 95.6%，變異係數在 0.08 ~ 5.12% 之間，本方法在此三種檢體中之最低檢出量可達 0.01 ppm。本計畫於民國八十二年三月至八十二年五月間於全省抽驗市售牛肉、豬肉及雞肉檢體各 20 件，結果均未檢出。

關鍵詞：甲磺氯黴素，高效液相層析法。

Method for the Analysis of Residual Thiamphenicol in Beef, Pork and Chicken

Syr-Song Chen, Chia-Fen Tsai, Mei-Chen Wu,
Shyh-Shii Yang and Shin-Shou Chou

National Laboratories of Food and Drugs, Department of Health, Executive Yuan, Taipei, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

A high-performance liquid chromatographic (HPLC) method for the determination of thiamphenicol residues in beef, pork and chicken has been developed. Thiamphenicol was extracted from samples with acetonitrile. After filtration, degreasing with acetonitrile saturated n-hexane and concentration, then was cleaned up with Florisil cartridge chromatography. Finally, the aliquot was quantitated by a reverse phase C18 column, acetonitrile-water mobile phase and UV detector at 226 nm. Recovery studies were performed at 0.05, 0.1 and 0.15 ppm fortified levels in beef, pork and chicken, respectively. Recoveries were between 74.5 ~ 96.6 % for beef, 76.8 ~ 94.4 % for pork and 73.9 ~ 95.6 % for chicken. Coefficients of variation were in the range of 0.08 ~ 5.12 %. All limitation of detection was 0.01 ppm. No any thiamphenicol residue was found in twenty samples of beef, pork and chicken sold in Taiwan market from March to May of 1993.

Key Words: Thiamphenicol, High Performance Liquid Chromatography

前 言

動物用藥使用之目的，主要在於家禽家畜疾病之預防與治療，或添加於飼料中餵養家禽家畜，以促進生長而達到增產之目的。近年來由於動物用藥大量使用，甚至濫用造成肉品殘留有過量藥物之問題時有所聞⁽¹⁻²⁾，引起一般消費大眾之關切。爲了維護國民之健康，須加強肉品之衛生安全管理，對於肉品中藥物殘留分析方法之建立應是當務之急。

甲磺氯黴素 (Thiamphenicol)，D(+)-threo-1-(4-methylsulphonylphenyl)-2-dichloroacetamido-1,3-propanediol；分子量：356.23，其化學結構式爲 $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$ ，爲白色粉末，極易溶於水，溶於乙醇，熔點爲 $164.3 \sim 166.3^\circ C$ ⁽³⁾。甲磺氯黴素 (Thiamphenicol) 係屬合成抗菌劑，用於家禽家畜等細菌性疾病 (如沙門氏菌、立克次體等革蘭氏陰、陽性菌) 之治療用劑。日本已於七十八年將該藥劑列入進口牛肉、豬肉及雞肉中藥物殘留檢驗項目之一。目前我國尚未准許家禽家畜飼養業者使用該抗菌藥物，而行政院衛生署公告之肉類中『動物用藥殘留標準』⁽⁴⁾ 亦規定該藥物於肉類中不得檢出。

甲磺氯黴素的分析方法經查文獻有微生物學分析法 (Bacteriological Assay)⁽⁵⁾、比色法 (Colorimetry)⁽⁶⁾、氣相層析法 (Gas Chromatography, GC)^(7,8)、氣相層析質譜法 (Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis, GC-MS)⁽⁹⁻¹¹⁾ 及高效液相層析法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)^(12,13)。經由 Kunin 及 Finland 所敘述的微生物學分析法⁽⁵⁾，乃利用 cup-plate 法用牛敗血病桿菌 (*Pasteurella boisepticus*) 及卵黃色八疊菌 (*Sarcina lutea*) 當成測試生物，此法當有其他抗菌劑與甲磺氯黴素併用時，則可能造成誤判。依照 McChesney et. al. 的比色法⁽⁶⁾，是由甲磺氯黴素的鹼性水解所組成，在 pH 7.5 時與高碘酸鹽氧化，測定對位-甲基磺酸基苯醛 (*p*-methyl sulphonylbenzaldehyde) 當成是其對位-硝基苯肼 (*p*-nitrophenylhydrazine) 的鹼性鹽類，此法耗時且靈敏度不佳。氣相層析法^(7,8) 主要是檢測血漿及尿液中的甲磺氯黴素的含量，將生物流體加入乙酸乙酯萃取，經無水硫酸鈉脫水後，再以直接法 (Direct method) 或三甲矽烷基醚法 (Trimethylsilyl ether method) 衍生化後，注入氣相層析儀偵測。血漿之氣相層析法其直接法的回收率在 92 ~ 99 % 之間，三甲矽烷基醚法的回收率在 95 ~ 101 % 之間。而尿液之氣相層析法其直接法的回收率在 92.6 ~ 103.2 % 之間，三甲矽烷基醚法的回收率在 96.6 ~ 100 % 之間。當濃度超過 10 ppm 時，建議採用直接法，濃度在 10 ppm 以下時，三甲矽烷基醚法似乎是較好的。氣相層析質譜法⁽⁸⁻¹⁰⁾ 是將檢體 (血漿、尿液及經均質化的組織) 用乙酸乙酯萃取，以無水硫酸鈉脫水，氮氣吹乾，殘留物以甲醇溶解，移入試管中，並吹氮氣至乾，殘留物加入 Sil-Prep 試劑反應後，注入氣相層析質譜儀。此法是較比色法及微生物學分析法更具選擇性、更快速且更靈敏的方法，其最低檢出量爲 0.2 ~ 0.4 ppm，此方法可應用在人類及動物體內甲磺氯黴素藥物動力學及新陳代謝的研究。高效液相層析法⁽¹¹⁻¹⁴⁾ 可適用於組織、血清及腦脊髓液的含量分析，檢體經乙腈萃取，加入經乙腈飽合之正己烷進行脫脂，濃縮至乾，加入正己烷溶解，經矽酸鎂過濾層析管柱 (Florisil cartridge) 淨化處理，濃縮後以移動相溶液溶解後，於高效液相層析儀偵測。其層析管柱爲 Zorbax ODS，移動相爲甲醇:水 (1:9)，偵測波長爲 UV 230 nm。此法步驟比氣相層析法簡易，且不費時，不需經衍生化，其最低檢出量爲 5 ng。

本研究針對牛肉、豬肉及雞肉中甲磺氯黴素抗菌劑參考 Tomoko Nagata 等之檢驗法⁽¹²⁾，以高效液相層析儀進行分析探討。並對市售牛肉、豬肉及雞肉殘留甲磺氯黴素之現況進行調查分析。所得結果除可建立牛肉、豬肉及雞肉中甲磺氯黴素之殘留檢驗方法外，並可將市售牛肉、豬肉及雞肉殘留甲磺氯黴素之現況，提供農政、衛生主管機關輔導農民及加強肉品之衛生安全管理，以維護國民之健康。

材料與方法

一、檢體來源：

本計畫所使用之牛肉、豬肉及雞肉檢體係 82 年 3 月至 5 月間於臺灣省分北、中、南、東四區，購自各生鮮超市及傳統市場，其中牛肉、豬肉及雞肉各 20 件，共計 60 件。

二、裝置：使用 Hitachi 高效液相層析儀 (Hitachi L-6200 Intelligent Pump and Hitachi L-4250 UV Detector)。

三、器具：矽酸鎂過濾層析管柱(Sep-pak Florisil cartridge)購自美國 Waters 公司。

四、試藥

甲磺氯黴素(Thiamphenicol)購自美國 Sigma 公司，乙腈、正己烷、甲醇、丙酮、乙酸乙酯及無水硫酸鈉購自德國 E. Merck 公司，正丙醇購自德國 Riedel-deHaen 公司，乙醚購自英國 BDH 公司。

五、標準溶液之配製

精確稱取甲磺氯黴素標準品 10 mg，加甲醇溶解定容至 100 ml，配製成 100 μ g/ml 標準原液，再以甲醇稀釋配製成 0.1、0.25、0.5、0.75、1.0、1.5 及 2.0 μ g/ml 之標準溶液。

六、矽酸鎂過濾層析管柱之預備

將矽酸鎂過濾層析管柱，先以甲醇 5 ml 潤濕，流去甲醇至將流盡為止，重覆一次後，再用乙醚 5 ml 潤濕，流去乙醚至將流盡為止，重覆一次，備用。

七、移動相溶液之製備

乙腈及水以 20: 80 (v/v)之比例混合，以孔徑 0.45 μ m 之濾膜過濾，濾液再置於超音波槽中振盪脫氣後備用。

八、檢液之製備：

參考 Tomoko Nagata 等之檢驗法牛肉檢體絞碎均質後(豬肉及雞肉亦同)，精確稱取檢體 10 g 置於均質攪拌器中，加 5 g 無水硫酸鈉及乙腈 50 ml，均質 3 分鐘，以布區奈氏漏斗抽氣過濾，殘留物再同前述步驟操作一次，最後將二次濾液合併約 100 ml。置於分液漏斗中，加入經乙腈飽和之正己烷溶液 100 ml，振盪 10 分鐘後靜置，取乙腈層，移入濃縮瓶中，加入 10 ml 正丙醇，於 40 $^{\circ}$ C 水浴中減壓濃縮至乾，將 5 ml 正己烷，加到濃縮瓶中，把殘留物溶解倒入備妥之矽酸鎂過濾層析管柱內，俟管柱內之沖提液將流盡時，復以乙醚 6 ml 分兩次洗濃縮瓶，洗液再倒入原過濾層析管柱內，捨棄流出液，再以乙腈: 乙醚(1:1, v/v)溶離液 6 ml 溶解原濃縮瓶內之殘留物，溶解液再倒入原過濾層析管柱內，收集溶離液，於 40 $^{\circ}$ C 水浴中減壓濃縮至乾，殘留物以移動相溶液溶解並定容至 1 ml，經 0.45 μ m 濾膜過濾後，供作定量用檢液。

九、定量操作

1. 高效液相層析條件

層析管: Cosmosil C18 (5 μ m), 4.6 I. D. $\times$ 250 mm。

檢出器: 紫外光檢出器 226 nm

移動相溶液: 乙腈:水(20: 80, v/v)。

流速: 1 ml/min。

注入量: 20 μ l。

2. 標準曲線之製作

取含甲磺氯黴素 0.1、0.25、0.50、0.75、1.00、1.50 及 2.00 $\mu\text{g/ml}$ 七種濃度之標準溶液，精確量取標準溶液各 20 μl ，分別注入液相層析儀，每一濃度作三重覆，由波峰所得平均面積對標準溶液之濃度作圖繪製成標準曲線。

3. 鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各 20 μl ，分別注入液相層析儀，就檢液所得波峰之滯留時間，分別與標準溶液比較鑑別之。並由檢液所得之波峰面積，與標準曲線比較，求出檢液中甲磺氯黴素之濃度，再以下式換算成檢體中甲磺氯黴素之含量：

$$\text{檢體中甲磺氯黴素含量(ppm)} = I \times C / W$$

I: 檢液體積(ml)

C: 檢液中甲磺氯黴素之濃度($\mu\text{g/ml}$)

W: 檢體重量(g)

十、添加回收試驗

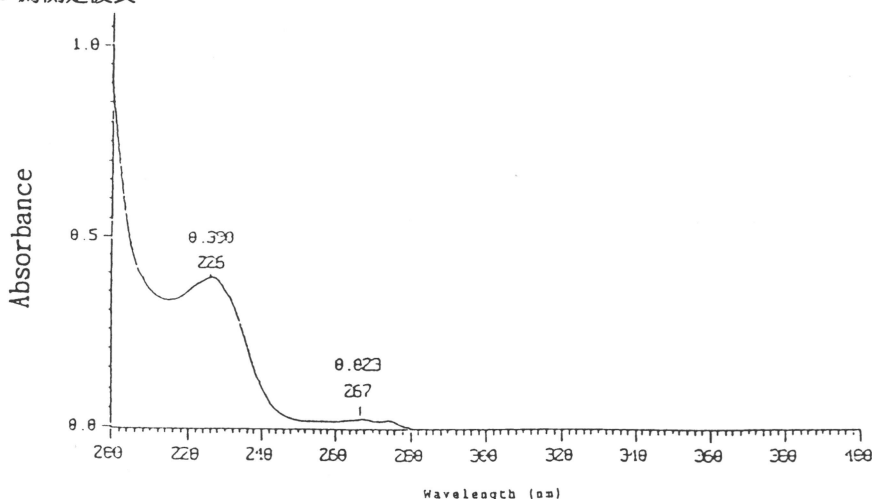
取絞碎均質之牛肉、豬肉及雞肉檢體各 10 g，分別添加 0.5、1.0 及 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 濃度之甲磺氯黴素標準溶液 1 ml，各作三重覆，並作空白試驗，依前述方法製備成檢液並加以分析。

結果與討論

一、高效液相層析測定條件之研究

1. 偵測波長之試驗

取標準溶液以移動相溶液稀釋成 10 $\mu\text{g/ml}$ 之濃度，以分光光度計於波長 200 ~ 400 nm 之間進行掃描，其結果如圖一，發現於 226 nm 處有最大吸收，故於以高效液相層析儀分析時，採用 226 nm 為測定波長。



圖一、甲磺氯黴素標準品溶於移動相溶液之紫外線區域吸收圖譜

Fig 1. Absorption spectrum of thiamphenicol in acetonitrile/water (2:8)

2. 層析管柱之試驗

經比較 Lichrospher RP18 endcapped, Spherisorb ODS2 及 Cosmosil C18 等液相層析管柱之分離效果, 以 Cosmosil C18 之效果較佳, 其所得圖譜波峰較無拖尾現象。另於 Cosmosil C18 上進行移動相溶液之選擇試驗, 依文獻上使用之移動相系統甲醇: 水, 以不同比例調配作測試, 結果均無法使甲磺氯黴素之波峰與檢液中雜訊有明顯之分離效果。再選用乙腈: 水以不同比例調配作測試, 結果發現以 20:80 (v/v) 比例之系統可得最好之層析圖譜及較高之敏感度。

二 溶媒萃取之研討

1. 乙腈、甲醇及丙酮之萃取回收率比較

經查文獻及比較甲磺氯黴素及數種溶媒之性狀, 選擇乙腈、甲醇及丙酮三種溶媒進行豬肉中添加甲磺氯黴素之萃取回收率比較。於豬肉檢體中添加甲磺氯黴素 $1 \mu\text{g}$, 以三種萃取溶媒分別依前述檢液製備之步驟, 再以前述之液相層析條件進行分析探討, 其結果如表一所示。

表一 豬肉中甲磺氯黴素之溶媒萃取回收率比較

Table 1: Recovery of thiamphenicol in pork by three different extracting solvents

溶媒	雞肉檢體 (g)	添加量 (μg)	萃取液濃縮 狀況	萃取率(%)
乙腈	10	1	可濃縮至乾	96.7
甲醇	10	1	無法濃縮至乾	54.1
丙酮	10	1	無法濃縮至乾	37.8

由表一之萃取效果及萃取率可以明顯看出, 以乙腈為萃取溶媒時甲磺氯黴素之回收率最高, 可達 96.7%; 丙酮之萃取率只有 37.8%, 而甲醇之萃取率亦僅有 54.1%。另在脫脂操作方面, 乙腈之萃取液加入經乙腈飽和之正己烷溶液即可進行溶媒分配萃取淨化, 並可濃縮至乾; 而甲醇與丙酮二溶媒與檢體均質後, 不易過濾且易吸水, 其萃取液各加入經溶劑飽和之正己烷進行溶媒分配萃取淨化後, 再進行減壓濃縮時, 均無法濃縮至乾, 形成濃稠混濁狀之液體, 不利於後續操作步驟之進行。

2. 乙腈之分段萃取試驗

選定乙腈為萃取溶媒後, 取豬肉檢體 10 g 添加甲磺氯黴素 $1 \mu\text{g}$, 將乙腈 100 ml 以一段萃取及分二段萃取作比較, 每段萃取液加入經乙腈飽和之正己烷進行脫脂淨化步驟, 再經液相層析條件進行分析探討, 結果發現分二段萃取的萃取效果較一段萃取效果佳, 而將分二段萃取後之殘渣再以 50 ml 乙腈萃取, 並同前之操作步驟進行分析, 結果未檢出甲磺氯黴素。因此檢體中所含之甲磺氯黴素只需以乙腈 100 ml 分二段萃取, 就可以萃取完全。

三、溶媒脫脂淨化之探討

採用乙腈飽和之正己烷各以一次及分二次脫脂淨化作比較, 發現以二次並未比以一次直接進行脫脂淨化效果佳。故直接以 100 ml 乙腈所飽和之正己烷, 進行溶媒脫脂淨化, 省時方便且不影響回收率。

四、管柱層析淨化之探討

1. 矽膠過濾層析管柱

以正己烷: 乙酸乙酯(9:1, v/v)溶離液 10 ml, 分五段各 2 ml 溶離, 收集之溶離液, 以液相層析條件進行分析探討。結果發現利用正己烷: 乙酸乙酯(9:1, v/v)溶液溶離時, 有一些黃色雜質與甲磺氯黴素一併溶出, 其淨化效果差。提高極性改用正己烷: 乙酸乙酯(4:1, v/v)溶液 6 ml 溶離, 每 0.5 ml 溶離液收集一次, 結果仍無法將雜質與甲磺氯黴素分離, 顯示矽膠過濾層析管柱無法將甲磺氯黴素與雜質分離。

2. 碳 18 過濾層析管柱

以矽膠過濾層析管柱之操作流程處理, 其結果亦同矽膠過濾層析管柱, 無法得到良好之淨化效果。

3. 中性氧化鋁過濾層析管柱

先將中性氧化鋁過濾層析管柱以 4 ml 正己烷潤濕, 流去正己烷至流盡為止, 備用。取正己烷: 乙酸乙酯(9:1) 18 ml, 加至濃縮瓶中, 將殘留物溶解倒入備妥之氧化鋁過濾層析管柱, 分成 3、4、4、4 及 3 ml 五段溶離, 分別濃縮至乾, 以甲醇溶解定容至 1 ml, 以液相層析條件進行分析探討, 發現甲磺氯黴素並未被分離出, 但層析圖譜的雜質較少, 而改用正己烷: 乙酸乙酯 (1:9, v/v)溶液溶離, 其溶離情形亦無太大之改變。顯示甲磺氯黴素對中性氧化鋁之吸附力太強。

4. 鹼性氧化鋁過濾層析管柱

以中性氧化鋁過濾層析管柱之淨化過程操作, 其結果無法得到較佳之淨化效果。

5. 矽酸鎂過濾層析管柱

先以正己烷 5 ml 加入過濾層析管柱, 收集溶離液濃縮至乾, 以移動相溶液溶解經 0.45 μ m 濾膜過濾後, 定容至 1 ml, 以液動相層析條件進行分析, 發現並未將甲磺氯黴素沖提出, 再以乙醚 6 mL 分二次溶離過濾層析管柱, 收集溶離液濃縮後同前之操作, 結果亦未將甲磺氯黴素沖提出。復以乙腈: 乙醚(1:1, v/v)溶液溶離, 結果可將甲磺氯黴素溶離出來, 以 0.5 ml 分段收集得知, 收集至 6 ml 可將其完全溶離出。若提高極性以乙腈: 乙醚(2:1, v/v)溶液溶離, 則甲磺氯黴素與雜質一起出來, 淨化效果差, 因此選擇乙腈: 乙醚(1:1, v/v)為溶離液。

綜合以上淨化部份之比較探討得知, 以乙腈 100 ml 分二段萃取, 經乙腈飽和之正己烷 100 ml 作溶媒脫脂淨化, 而層析法之沖提淨化部份, 層析管採用矽酸鎂過濾層析管柱, 溶離液採用乙腈: 乙醚(1:1, v/v) 6 ml, 即為一理想之淨化法。

五、濃縮方法之選擇

另比較經減壓濃縮及吹氮氣對檢液之影響, 結果發現以氮氣直接吹乾時, 不但回收率減少, 且雜訊增多, 故以減壓濃縮來處理溶離液為宜。

六、標準曲線之製作

依標準曲線製作方法所得之標準曲線。其線性回歸係數為 0.9999, 線性良好, 顯示甲磺氯黴素濃度於 0 ~ 2 μ g/ml 時, 其濃度與波峰面積可成正比例之關係。

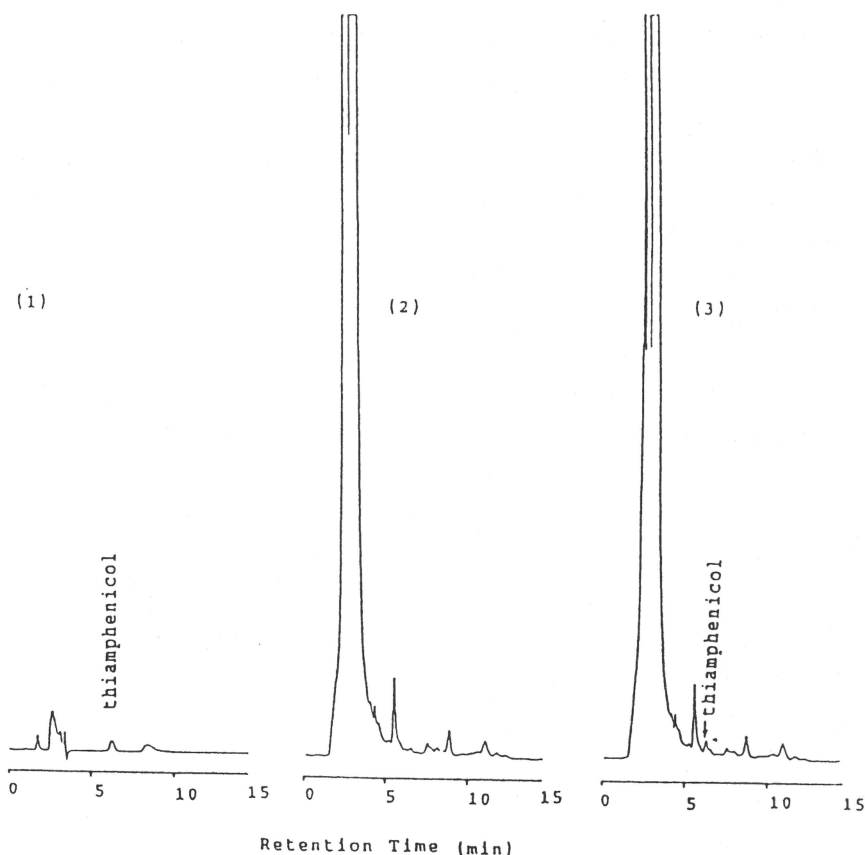
七、偵測極限及檢出限量之試驗

將甲磺氯黴素各種濃度之標準溶液, 分別以前述液相層析條件進行分析探討, 經測試結果其偵測極限為 2 ng。將牛肉、豬肉及雞肉檢體添加各種濃度之標準溶液, 經本實驗方法檢測, 當標的物

波峰之高度為雜訊之三倍時，其檢體中甲磺氯黴素之含量定為檢出限量。經測試結果牛肉、豬肉及雞肉檢體中甲磺氯黴素之檢出限量為 0.01 ppm。

八、添加回收試驗

牛肉、豬肉及雞肉檢體絞碎後各取 10 g，分別添加 0.05、0.1 及 0.15 μ g/g 濃度之甲磺氯黴素標準溶液 1.0ml，進行添加回收試驗，其液相層析圖譜如圖二～四，其結果如表二所示，牛肉之平均回收率為 74.1 ~ 96.6%，變異係數 0.08 ~ 5.12%；豬肉為 76.8 ~ 94.4%，變異係數 0.33 ~ 2.82% 及雞肉為 73.9 ~ 95.6%，變異係數 1.45 ~ 2.96%。由回收率結果中明顯發現於低濃度時，對添加回收率較低，僅達 75% 左右，但於 0.1 ppm 以上時其回收率便趨向穩定。故於低濃度檢測時應以回收曲線來加以校正。



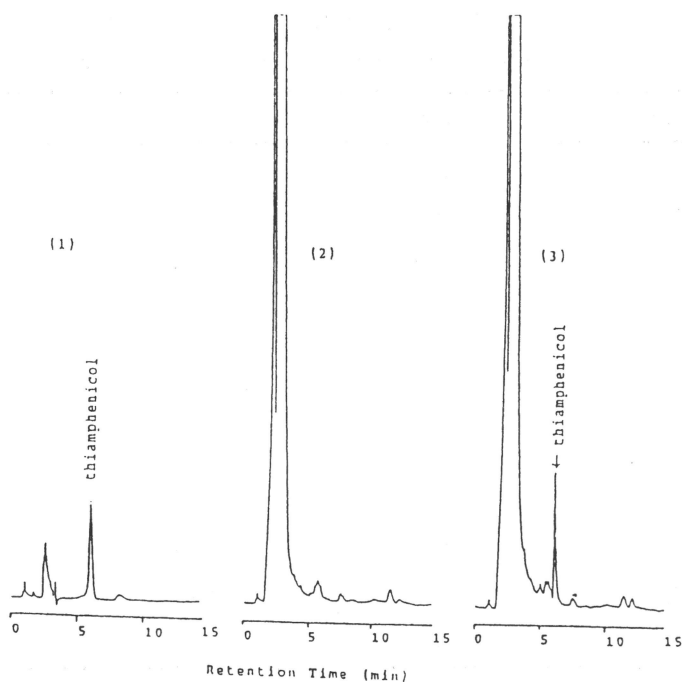
圖二、牛肉中添加甲磺氯黴素回收試驗之液相層析圖

Fig 2. Chromatograms of thiamphenicol spiked into beef at 0.1 ppm level

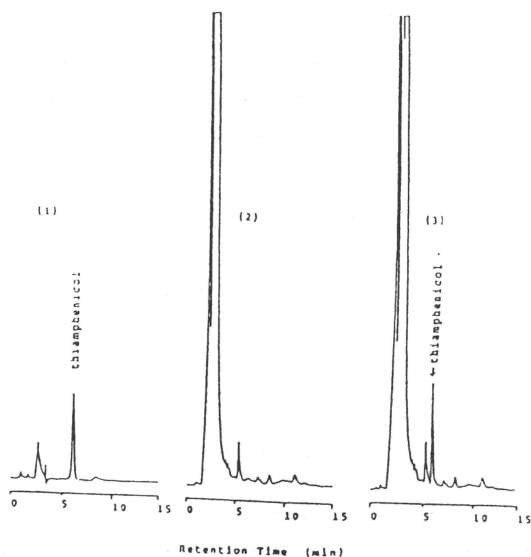
(1) standard: 1.0 μ g/ml.

(2) blank of beef.

(3) beef spiked with thiamphenicol at the 0.1 ppm level.



圖三、豬肉中添加甲磺氯黴素回收試驗之液相層析圖
 Fig 3. Chromatograms of thiamphenicol spiked into pork at 0.1 ppm level
 (1) standard: 1.0 μ g/ml. (2) blank of pork.
 (3) pork spiked with thiamphenicol at the 0.1 ppm level.



圖四、雞肉中添加甲磺氯黴素回收試驗之液相層析圖
 Fig 4. Chromatograms of thiamphenicol spiked into chicken at 0.1 ppm level
 (1) standard: 1.0 μ g/ml. (2) blank of chicken.
 (3) chicken spiked with thiamphenicol at the 0.1 ppm level.

表二 牛肉、豬肉及雞肉中甲磺氯黴素之回收率

Table 2: Recovery of thiamphenicol spiked in beef, pork and chicken samples

檢體種類	添加量(ppm)	回收率 ^a (%)	變異係數(C.V.,%)
牛肉	0.05	74.5	2.72
	0.10	93.7	0.08
	0.15	96.6	5.12
豬肉	0.05	76.8	2.82
	0.10	89.5	1.31
	0.15	94.4	0.33
雞肉	0.05	73.9	1.45
	0.10	88.7	2.96
	0.15	95.6	2.70

a: 三重覆之平均回收率

九、市售牛肉、豬肉及雞肉中甲磺氯黴素之殘留分析

自全省分北、中、南、東四區分別抽購牛肉、豬肉及雞肉檢體各 20 件，共計 60 件，經本實驗方法檢測均未檢出。依我國現行『動物用藥殘留標準』⁽⁴⁾之規定，甲磺氯黴素不得殘留於禽畜肉產品中，日本食品衛生法亦規定不得檢出，美國 FDA 規定在未烹調之牛肉、豬肉及雞肉中亦不得檢出。而在我國『飼料添加物使用規範』⁽¹⁵⁾中，亦無甲磺氯黴素直接添加於飼料使用之規定，因此其並非為經常性使用之藥物可能是此次檢測結果均未檢出的原因。

結 論

利用高效液相層析法分析牛肉、豬肉及雞肉中甲磺氯黴素之檢驗方法業已建立。於檢測濃度低於 0.05 ppm 時，應以回收曲線來加以校正。市售牛肉、豬肉及雞肉中甲磺氯黴素之殘留分析調查結果均未檢出。

參 考 文 獻

1. 劉純妃、蔡佳芬、鄭秋真、周薰修. (1991). 豬肉中歐來金得(Olaquinox)與雞肉中歐美德普(Ormetoprim)殘留量檢驗方法之探討與殘留量之調查. 行政院衛生署藥物食品檢驗局調查研究年報. 9: 267.
2. 劉純妃、鄭秋真、周薰修. (1990). 雞肉及雞肝中滴克奎諾(Decoquinat)殘留分析之檢討及應用. 行

- 政院衛生署藥物食品檢驗局調查研究年報. 8: 230。
3. Windholz, M., Budavari, S., Blumetti, R.F. and Otterbein, E.S. (1984) The Merck Index Tenth Edition. p. 9135.
 4. 行政院衛生署動物用藥殘留標準. (1987) 衛署食字第 658449 號公告.
 5. Kunin, C. M. and Findland, M. (1960) The microbiological assay. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103: 246.
 6. McChesney, E. W., Shekosky, J. M., Eckert, H. W. and Koss, R. F. (1960) The colorimetric method. J. Am. Pharm. Assoc. 49: 28.
 7. Aoyama, T. and Iguchi, S. (1960) Determination of thiamphenicol in biological fluid by gas chromatography. J. Chromatogr. 43: 243.
 8. 厚生省環境衛生局乳肉衛生課ナイカルバツソ(改良法). (1983) 畜水産食品中の残留物質検査法・第二集の 4: 12.
 9. Nakagawa, T., Masada, M. and Uno, T. (1975) Gas chromatographic-determination and gas chromatographic --mass spectrometric analysis of chloramphenicol, thiamphenicol and their metabolites. J. Chromatogr. 111: 355.
 10. Plomp, T. A. and Maes, R. A. A. (1976). A rapid gas chromatographic determination of thiamphenicol in plasma and amniotic fluid. J. Chromatogr. 121: 243.
 11. Lawrence Felice, El Hassane Abdennbi and Muhammed Ashraf. (1988) Determination of thiamphenicol in bovine plasma by liquid chromatography. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71(6):1156.
 12. Tomoko Nagata, Masanobu Saeki, Hiroyuki Nakazahiko, Masahiko, Fujita and Eigo Takabatake. (1985) Determination of residual thiamphenicol in chicken by high performance liquid chromatography. 日本食衛誌. 26(1): 46.
 13. 徐敏銓. (1992) 乃卡巴精、助孕酮動物用藥之殘留分析研究. 中國文化大學應用化學研究所碩士論文.
 14. Meulemans, A., Manuel, V., Mohler, J., Roncornoi, A. and Vulpillat, M. (1981) Determination of thiamphenicol in serum and cerebrospinal fluid with high-performance liquid chromatography. J. Liq. Chromatogr. 4(1): 145.
 15. 行政院農業委員會。(1985) 飼料添加物使用規範, 行政院農業委員會. 74.10.9. 農牧字第 65041 號公告.

(Received 01/03/97'; Revised 07/04/97'; Accepted 07/18/97')