

家禽產品中乃卡巴精殘留量調查

陳惠章 鄭守訓

南部檢驗站

摘 要

本計畫於95年2至4月間在台灣地區傳統市場及超市等地抽驗市售雞肉、雞內臟、烏骨雞肉及鵝肉檢體共40件，依據行政院衛生署89年2月22日衛署食字第89008985號公告之高效液相層析法分析乃卡巴精之殘留量。檢體以乙腈萃取，經過濾，並以正己烷除去油脂後減壓濃縮，再以鹼性氧化鋁管柱淨化，最後利用高效液相層析儀分析定量，並以液相層析串聯質譜儀確認。檢測結果，共有4件含量超過殘留標準0.2 ppm，與規定不符，不合格率10.0%。其中10件雞內臟中有3件殘留量介於1.08 ~ 5.60 ppm，與規定不符，不合格率30.0%；10件烏骨雞肉中有1件殘留量0.87 ppm，與規定不符，不合格率10.0%；另外10件鵝肉及10件雞肉均符合規定。本調查結果於95年8月9日發布新聞在案。

關鍵詞：乃卡巴精、鵝肉、雞肉、雞內臟、烏骨雞肉、高效液相層析法、液相層析串聯質譜法

前 言

動物用藥之使用，目的在防治家禽及家畜之疾病，進而促進家禽及家畜之生長而達到增產目的。近年來由於動物用藥之大量使用造成肉品殘留藥物之問題時有所聞，引起農政、衛生主管機關及一般消費者之關切⁽¹⁾。

動物用藥乃卡巴精係一合成抗菌劑⁽¹⁾，於齧齒動物，急性毒很低，但高劑量的毒性是因為phenylurea被乙醯化，導致在腎臟內引起沈澱結晶而傷害到腎臟⁽²⁾。依行政院農業委員會94年5月4日公告之『含藥物飼料添加物使用規範』⁽³⁾，該抗菌劑可添加於雞飼料，作為雞之球蟲病預防劑，使用量100~200 ppm，停藥期5日⁽³⁾。乃卡巴精係4,4-dinitrocarbanilide (DNC) 與2-hydroxy-4,6-dimethylpyrimidine (HDP) 之1:1錯合物 (complex)⁽¹⁾，其檢驗方法有Differential-pulse polarography、比色法、氣相層析法⁽¹⁾、高效液相層析法⁽⁴⁾、高效液相層析串聯質譜法⁽⁵⁻⁷⁾等。以Differential-pulse polarography及比色法檢測時，感度低、缺乏選擇性、再現性也差；氣相層析法之感度較佳，唯參考文獻較少，實驗過程必須進行加熱分解反應，步驟繁雜；高效液相層析法其感度及選擇性均相當不錯，再現性亦佳⁽¹⁾，因此行政院衛生署89年2月22日衛署食字第89008985號公告「食品中動物用藥殘留量檢驗方法-乃卡巴精之檢驗」⁽⁴⁾係採用高效液相層析法。

本計畫係因本局94年度研究調查計畫「雞肉及雞內臟中乃卡巴精殘留量之調查」，於40件檢體中，檢出雞肉1件及雞內臟6件含量超過殘留量標準，與規定不符，不合格率17.5%，故於95年度再針對市售家禽產品繼續研究調查，以了解乃卡巴精之殘留情形是否

改善，並於檢驗結果發現不合格產品時，立即追蹤源頭，提供農政單位處理，以確保家禽產品之安全，維護大眾健康。

材料與方法

一、檢體來源

本調查所使用之檢體係95年2月至4月間抽驗自基隆市、新竹縣、新竹市、苗栗縣、台中縣、台中市、雲林縣、嘉義縣、嘉義市、台南縣、台南市、高雄縣、屏東縣、花蓮縣、台東縣及澎湖縣等縣市之傳統市場及超市等。其中雞肉、雞內臟（包括肝、腮、胗、心）、烏骨雞肉及鵝肉檢體各10件，共計40件（如表一）。

二、試藥、材料及器具

(一)試藥

乃卡巴精 (nicarbazin) 對照標準品 (Sigma, U.S.A.)。甲醇 (BDH, England)、乙腈 (LAB-SCAN, Thailand)、正己烷 (LAB-SCAN, Thailand) 及鹼性氧化鋁 (70~230 mesh) (Merck, Germany) 均採用層析級。二甲基代甲醯胺 (Merck, Germany) 採用試藥級。

(二)材料

濾膜：孔徑0.22 μm ，Nylon材質 (ChromTech, U.S.A.)

(三)器具

1. 容量瓶：100 mL、50 mL、5 mL (Pyrex)
2. 分液漏斗：250 mL (Pyrex)
3. 濃縮瓶：500 mL (Pyrex)
4. 玻璃層析管柱：內徑1.0 $\times$ 長度20 cm (Pyrex)

表一、台灣地區各縣市衛生局送驗市售家禽檢體情形

地區別	縣市別	抽樣件數				
		雞肉	雞內臟	烏骨雞肉	鵝肉	合計
北部地區	基隆市	0	0	0	2	2
	新竹縣	2	0	2	0	4
	新竹市	2	2	0	0	4
中部地區	苗栗縣	2	0	0	2	4
	台中縣	2	0	0	0	2
	台中市	0	0	2	0	2
	雲林縣	0	2	0	0	2
	嘉義縣	0	0	0	2	2
	嘉義市	0	2	2	0	4
南部地區	台南縣	2	0	0	0	2
	台南市	0	0	2	0	2
	高雄縣	0	2	0	0	2
	屏東縣	0	0	0	3	3
	澎湖縣	0	0	0	1	1
東部地區	台東縣	0	0	2	0	2
	花蓮縣	0	2	0	0	2
	合 計	10	10	10	10	40

三、儀器與設備

(一)高效液相層析儀 (high performance liquid chromatograph) 系統：

1. 溶媒輸送系統：Shimadzu LC-10 ATVP pump (Shimadzu, Japan)
2. 光二極體陣列檢出器 (photodiode array detector)：Shimadzu SPD-M 10 A (Shimadzu, Japan)
3. 脫氣裝置：GASTORR GT-103 (Lab-Quatec, Japan)
4. 層析管：Lichrospher 100 RP-18, 粒徑5 μm , 內徑4 mm $\times$ 長度25 cm (Merck, Germany)
5. 積分器：SISC 32中文版3.1電腦積分器, 訊華公司

(二)液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS)：

1. Waters Micromass Quattro PremierTM MS System
2. 層析管：Cosmosil 5 C18-MS Waters, 粒徑5 μm , 內徑2 mm $\times$ 長度150 mm (Nacalai Tesque, Japan)。

(三)檢體萃取系統：

1. 攪拌均質器 (blender)：統領牌果菜調理機，

型號：WTI-168A，ROC。

2. 均質機 (homogenizer)：Nissei AM-3 (Nihons-eiki Kaisha, Japan)。

(四)減壓濃縮裝置 (rotary evaporator) 系統：

1. Buchi 461 Water Bath
2. Buchi RE 121 Rotavapor
3. Buchi 168 Vacuum/Distillation Controller
4. Sibata Circulating Aspirator WJ-20

(五)鹼性氧化鋁淨化管柱：內徑1.0 $\times$ 長度20 cm，下端鋪玻璃棉之玻璃層析管柱，內填充鹼性氧化鋁10 g，在管柱上端再鋪玻璃棉。

四、標準溶液之調製

取乃卡巴精對照標準品約100 mg，精確稱定，置於容量瓶中，以乙腈定容至100 mL，作為標準原液。使用時再以乙腈稀釋至0.2~4.0 $\mu\text{g/mL}$ ，供作標準溶液。

五、移動相溶液之調製

(一)高效液相層析用：

乙腈與去離子水以50：50 (v/v) 之比例混勻後以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液。

(二)高效液相層析串聯質譜用：

乙腈與去離子水以60：40 (v/v) 之比例混勻後以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液。

六、檢液之調製

(一)萃取

取檢體細切，以攪拌均質器均質後，取檢體約10 g，精確稱定，置於均質機中。加入乙腈50 mL，攪拌均質1分鐘後，抽氣過濾，殘渣再以乙腈50 mL同樣操作二次。最後再以乙腈30 mL清洗殘渣，合併濾液於分液漏斗中，加入以乙腈飽和之正己烷75 mL，振盪10分鐘。收集乙腈層，移入濃縮瓶中，於40℃水浴減壓濃縮至乾，以二甲基代甲醯胺5 mL溶解後，供淨化用。

(二)淨化

取六(一)節之淨化用溶液，注入預經二甲基代甲醯胺15 mL潤洗過之鹼性氧化鋁管柱內，俟管柱上部之二甲基代甲醯胺溶液將流盡時，再以二甲基代甲醯胺10 mL分二次清洗原濃縮瓶，洗液注入管柱，流出液棄之。再以甲醇15 mL注入管柱沖提，最初流出液6 mL棄之，最後收集之沖提液，於40℃水浴中減壓濃縮至3~4 mL，以移動相溶液溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

七、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光二極體陣列檢出器吸收圖譜比較鑑別之，再依下列計算式求出檢體中乃卡巴精之含量 (ppm)：

$$\text{檢體中乃卡巴精含量 (ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

V：檢體最後經淨化定容之體積 (mL)

C：由各標準曲線求得檢液中乃卡巴精之濃度 (μg/mL)

M：取樣分析檢體之重量 (g)

高效液相層析測定條件：

光二極體陣列檢出器：波長340 nm

移動相溶液：依五.(一)節所調製之溶液

移動相流速：1.0 mL/min

八、高效液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 確認

將檢出乃卡巴精之檢液以高效液相層析串聯質譜儀確認，比較標準品與檢體所得離子m/z 137及107波峰之滯留時間及其面積比之相對比率，若檢體的離子相對比率介於標準品的離子相對比率，在25%誤差範圍內⁽⁶⁾，即確認為檢體內含有乃卡巴精成分。

高效液相層析串聯質譜儀測定條件：

(一)進樣系統：

1. 層析管：Cosmosil 5C18-MS Waters (2.0 × 150 mm)

2. 移動相：依五.(一)節所調製之溶液

3. 溫度：30°C

4. 流速：0.2 mL/min

5. 注入量：5 μL

(二)質譜儀條件：

1. 離子源：電灑離子化負離子 (negative ion electrospray ionization, ESI)

2. 儀器參數：

(1)毛細管電壓：2.5 kV

(2)離子源溫度：80°C

(1)進樣錐電壓：30 V

(4)溶劑揮散溫度：150°C

(5)碰撞能量：40 eV

(6)樣品錐內氣體流速：100公升/小時

(7)溶劑揮散之氣體流速：500公升/小時

3. 偵測模式：多重反應偵測模式 (multiple reaction monitoring mode)

偵測離子：母離子為m/z 301，子離子為m/z 137及107

結果與討論

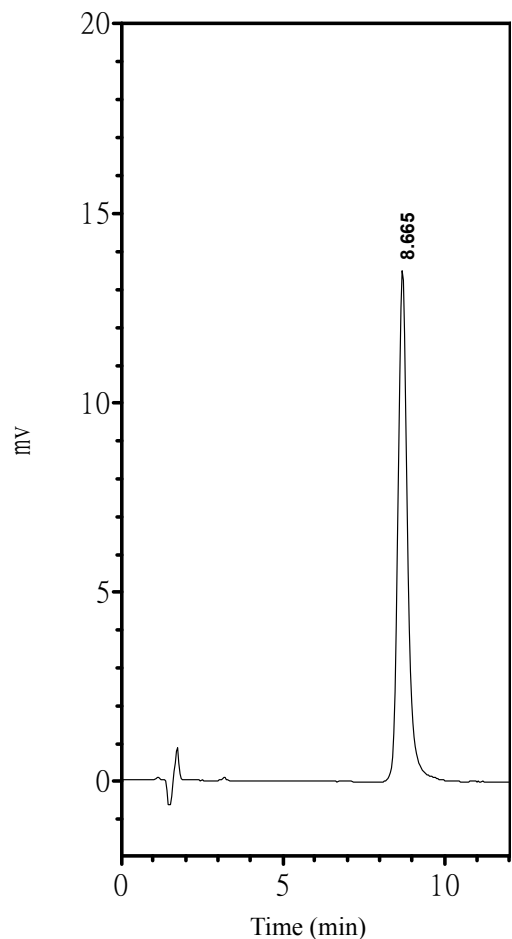
一、調查結果

依據行政院衛生署95年6月21日令「動物用藥殘留標準」，雞的肌肉、肝、腎、脂（含皮）中乃卡巴精含量必須在0.2 ppm以下⁽⁸⁾。依此標準，95年度之調查結果：於40件檢體中共有6件檢出乃卡巴精，佔15.0%，其中4件含量超過0.2 ppm，與規定不符，不合格率10.0%。於10件雞內臟之檢出率為40.0%（檢出4件，其中3件超過0.2 ppm），殘留量0.02~5.60 ppm，不合格率30.0%；10件烏骨雞肉之檢出率為20.0%（檢出2件，其中1件超過0.2 ppm），殘留量0.03~0.87 ppm，不合格率10.0%；10件鵝肉及10件雞肉之檢體均未檢出乃卡巴精，符合規定（如表二）。此4件不符規定檢體皆經

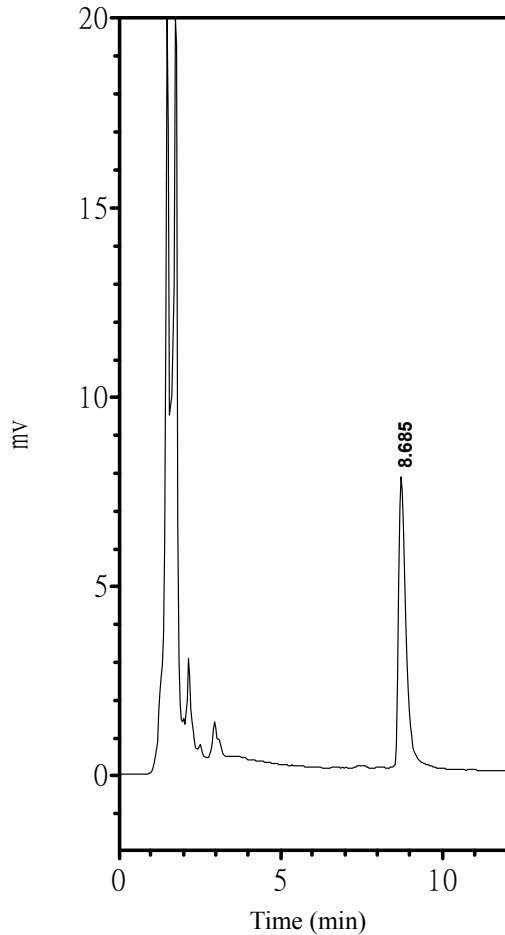
表二、台灣地區市售家禽檢體檢出乃卡巴精情形

檢體類別	抽樣件數	檢出件數 (%)	殘留範圍 (ppm)	不合格件數 (%)
雞肉	10	0 (0.0)	未檢出	0 (0.0)
雞內臟	10	4 (40.0)	0.02 ~ 5.60	3 (30.0)
烏骨雞肉	10	2 (20.0)	0.03 ~ 0.87	1 (10.0)
鵝肉	10	0 (0.0)	未檢出	0 (0.0)
合計	40	6 (15.0)	未檢出~ 5.60	4 (10.0)

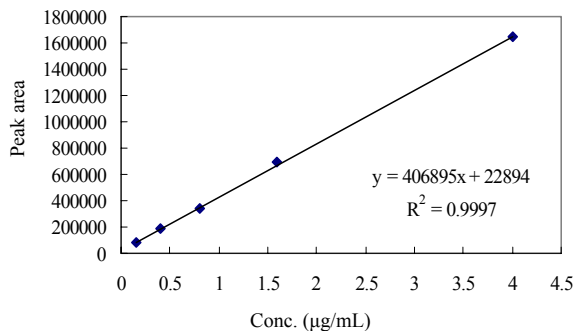
高效液相層析儀分析（如圖一、圖二）且經一系列乃卡巴精標準品所製作成的標準曲線（如圖三），求出檢體中乃卡巴精含量，再經光二極體陣列檢出器（如圖四）及高效液相層析串聯質譜儀確認（如圖五、六），結果確定檢出乃卡巴精含量範圍介於0.87~5.60 ppm，其中2件雞肝檢體檢出含量最高（如表三）。各



圖一、乃卡巴精標準品1.0 μg/mL之高效液相層析圖譜

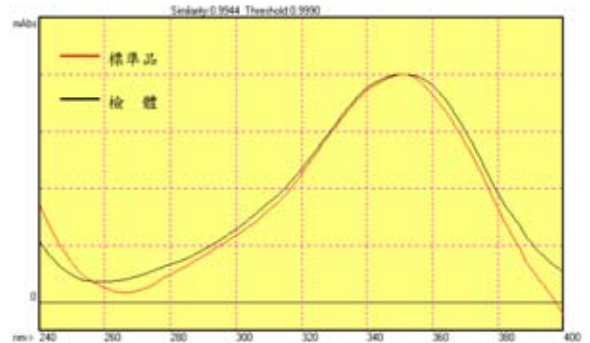


圖二、雞肝檢體檢出乃卡巴精之高效液相層析圖譜

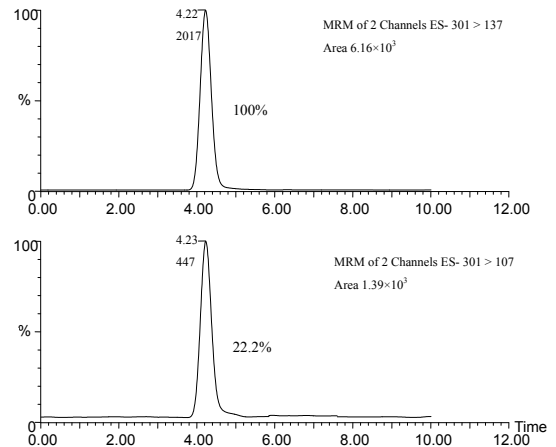


圖三、以高效液相層析法分析乃卡巴精之標準曲線

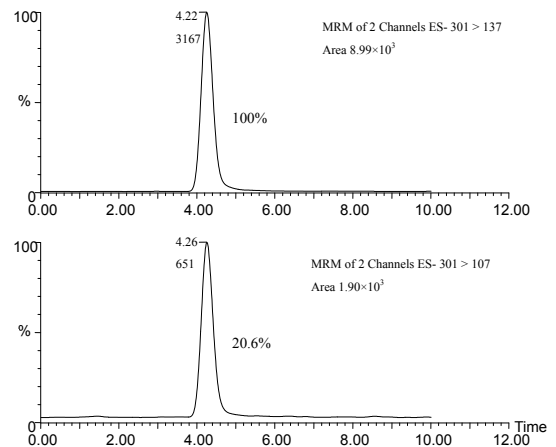
縣市檢驗結果，雲林縣符合規定件數1件，不符合規定件數1件；嘉義市符合規定件數3件，不符合規定件數1件；高雄縣不符合規定件數2件，其餘縣市送驗檢體皆合格（如表四、圖七）。



圖四、雞肝檢體檢出乃卡巴精之光二極體陣列檢出器分光光度掃描圖譜



圖五、乃卡巴精之高效液相層析串聯質譜層析圖



圖六、雞肝檢體檢出乃卡巴精之高效液相層析串聯質譜層析圖

表三、不合格檢體名稱及含量

檢體種類	抽驗縣市	含量（ppm）
烏骨雞肉	嘉義市	0.87
雞胗	雲林縣	1.08
雞肝	高雄縣	4.65
雞肝	高雄縣	5.60

二、國內外乃卡巴精殘留標準之比較

各國對於雞檢體中乃卡巴精含量訂有殘留標準，美國⁽⁹⁾及加拿大⁽¹⁰⁾為4 ppm，澳洲及紐西蘭為0.5 ppm⁽¹¹⁾，日本⁽⁹⁾、歐盟⁽¹²⁾及我國⁽⁸⁾則為0.2 ppm（如表五）較為嚴格。

三、80、94及95年度雞檢體中乃卡巴精殘留量調查之比較

本局於80年度進行雞檢體中乃卡巴精檢測方法之探討時，曾經抽樣檢驗市售雞肉、雞蛋及雞內臟共102件，其中檢出件數有29件，不論是80、94或95年度的調查結果，雞內臟檢出乃卡巴精的比率及含量皆屬最高，尤其是80年度有2件檢體含乃卡巴精量高達15.01~16.00 ppm⁽¹⁾，94及95年度調查，雞內臟雖然沒有檢出如此高含量，但各有1件檢體檢出，其含量分別為1.10及5.60 ppm（如表六），由此可知雞內臟中乃卡巴精殘留仍值得關切。

四、乃卡巴精之風險評估

乃卡巴精急性毒性低，其主要副作用包括胎兒骨骼生長遲緩且異常彎曲、腎水腫。依據聯合國農糧組織及世界衛生組織之評估，其ADI值（每日安全攝取量）為400微克(μg)/kg體重⁽²⁾，若以體重60公斤的人計算，即每人每日安全攝取量為24 mg，而本計畫雞肝檢體殘留量為5.6 ppm，若每日所食用之雞肝，依每日飲食指南⁽¹³⁾（成人均衡飲食建議量）約120 g，則乃卡巴

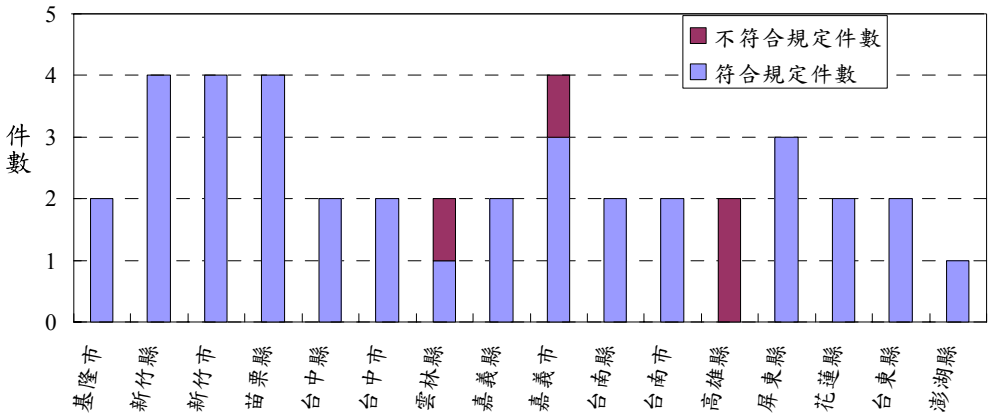
表四、台灣地區各縣市衛生局送驗市售家禽檢體中乃卡巴精殘留檢驗結果分布情形

地區別	送驗衛生局	符合規定件數	不符合規定件數
北部地區	基隆市	2	0
	新竹縣	4	0
	新竹市	4	0
中部地區	苗栗縣	4	0
	台中縣	2	0
	台中市	2	0
	雲林縣	1	1
南部地區	嘉義縣	2	0
	嘉義市	3	1
	台南縣	2	0
	台南市	2	0
	高雄縣	0	2
	屏東縣	3	0
東部地區	澎湖縣	1	0
	台東縣	2	0
	花蓮縣	2	0
	合計	36	4

精之攝取量為120 g × 5.60 ppm = 672 μg，尚不足ADI的1/30，故無安全顧慮。目前國際趨勢為避免因用藥殘留而衍生寄生蟲抗藥性的問題，我國農委會已採取相同措施。

五、規定不符檢體之後續追蹤及改善情形

經檢驗結果與規定不符之檢體，本站立即以檢驗



圖七、各縣市送驗檢體之件數及乃卡巴精檢驗結果之比較

表五、各國於雞檢體中訂定之乃卡巴精殘留標準

國別	殘留標準 (MRL) (ppm)
美國	4.0
加拿大	4.0
澳洲	0.5
紐西蘭	0.5
日本	0.2
歐盟	0.2
中華民國	0.2

註：殘留標準以雞的肌肉、肝、腎、脂（含皮）計算

結果速報單傳真至本局第五組、衛生署食品衛生處及原抽驗衛生局，並請衛生局依法儘速進行後續處理。其中嘉義市的烏骨雞肉檢體經查供貨來源係屏東縣，屏東縣衛生局函請業者限期改善，並移請屏東縣家畜疾病防治所持續監控養禽場用藥情形，以確保食肉安全。雲林縣的雞胗檢體，經查供貨來源係南投縣，南投縣政府以處分書通知雞農因違反「動物用藥品管理法」第32條之3第4項之規定，並依同法第40條第1項第11款處以罰鍰。高雄縣的2件雞肝檢體，供貨來源分別係雲林縣及彰化縣，雲林縣及彰化縣政府亦分別以處分書通知雞農因違反「動物用藥品管理法」第32條之3第4項之規定，並依同法第40條第1項第11款處以罰鍰。

結 論

為了提供優良雞產品，養雞業者在飼養過程會使用特定動物用藥品，以提高飼料利用率，以及預防或治療動物疾病，但為了使藥物殘留符合規定，則應確實遵守動物用藥品相關規定，除了必須考慮年齡、劑

量等之外，還必須遵守停藥期，如此才能確保雞產品安全衛生。本調查結果顯示，禽類之內臟藥物殘留問題較嚴重，消費者應留意內臟藥物殘留之問題。消費者選購時，應避免選購來路不明的產品，盡量選擇優良產品如CAS或經屠宰衛生檢查者，以確保飲食的安全與衛生。

參考文獻

1. 蘇淑珠、徐敏銓、楊仕喜、蘇柳青、鄭秋真、周薰修。1993。雞肉、雞蛋及雞肝中乃卡巴精之殘留分析。食品科學，20(3): 239-249。
2. World Health Organization. International programme on chemical safety world health organization. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. [http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/ v041je13.htm].
3. 行政院農業委員會。2005。含藥物飼料添加物使用規範。行政院農業委員會94.5.4農授防字第0941472332號令。
4. 行政院衛生署。2000。食品中動物用藥殘留量檢驗方法-乃卡巴精之檢驗。89.2.22衛署食字第89008985號公告。
5. Yakkundi, S., Cannavan, A., Elliott, C. T., Lovgren, T. and Kennedy, D. G. 2001. Development and validation of a method for the confirmation of nicarbazin in chicken liver and eggs using LC-electrospray MS-MS according to the revised EU criteria for veterinary drug residue analysis. Analyst 126(11): 1985- 1989.
6. Matabudul, D. K., Lumley, I. D. and Points, J. S. 2002. The determination of 5 anticoccidial drugs (nicarbazin, lasalocid, monensin, salinomycin and narasin) in animal livers and eggs by liquid chromatography linked with tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Analyst 127(6): 760-768.

表六、本局94及95年度家禽產品中乃卡巴精殘留之調查結果統計

檢體類別	年度	件數	檢出件數 (%)	不符規定件數	殘 留 量 (ppm)			
					0.02	1.01	4.01	5.01
					1.00	2.00	5.00	6.00
鵝肉 ¹	94	—	—	—	—	—	—	—
	95	10	0 (0.0)	0	0	0	0	0
雞肉	94	10	3 (30.0)	1	3	0	0	0
	95	10	2 (20.0)	0	2	0	0	0
烏骨雞肉	94	12	5 (41.7)	0	5	0	0	0
	95	10	2 (20.0)	1	2	0	0	0
雞內臟 ²	94	18	8 (44.4)	6	7	1	0	0
	95	10	4 (40.0)	3	1	1	1	1

1. 95年度增列鵝肉之抽驗

2. 94年度包括肝、睪丸、肫、腸、心，95年度包括肝、胗、肫、心

7. Dubois, M., Pierret, G. and Delahaut, P. 2004. Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyst Technol. Biomed. Life Sci.* 813(1-2): 181-189.
8. 行政院衛生署。2006。動物用藥殘留標準。95.6.21 衛署食字第0950404849號令。
9. 陳景川。2005。台灣地區水產品藥物殘留檢測現況。2005農畜禽水產食品中動物用藥殘留分析研討會論文集。
10. Canadian Department of Justice. Food and Drug Regulations. Part 2 Bilingual aggregate format -- different amounts of food -- table III veterinary drugs. [http://laws.justice.gc.ca/en/F-27/C.R. C.-c.870/124280.html].
11. New Zealand Food Safety Authority. Australia New Zealand Food Standards Code: Maximum residue limit (MRL) update. New Zealand. [http://www.nzfsa.govt.nz/policy-law/legislation/food-standards/nz-food-standards-2005-mrl.pdf].
12. Richard, Y. and Alison, C. Too hard to swallow- the truth about drugs and poultry. [http://www.soilassociation.org/web/saweb.nsf/0/eff999544438cd73380256ae500390dd6/\$FILE/SAtoohardtoswallow.pdf].
13. 食品資訊網 [http://food.doh.gov.tw/chinese/health/health_2_1.htm]。

Survey on Nicarbazin Residue in Poultry Products

HWI-CHANG CHEN AND SHOU-HSUN CHENG

Southern Regional Laboratory

ABSTRACT

Nicarbazin, widely used against coccidiosis in chicken, may pose adverse effects on human. The maximum residue limit of nicarbazin in chicken meat and offal was set at 0.2 ppm as of its promulgation in June 2006 by the Department of Health (DOH). A survey was conducted to investigate nicarbazin residue in goose meat, black-bone chicken meat, chicken meat and offal from food markets in Taiwan from February to April, 2006. A total of 40 samples were collected and analyzed by a standard HPLC method proclaimed by DOH in 2000. The detection limit was 0.02 ppm. HPLC/tandem mass spectrometry was used to make further confirmation. The results indicated that 10.0% of samples, including one black-bone chicken meat and 3 chicken offal samples, violated the regulation. The black-bone chicken meat samples was detected with nicarbazin of 0.87 ppm and those 3 chicken offal samples with nicarbazin residues ranging from 1.08 to 5.60 ppm. Ten goose meat samples and ten chicken meat samples were all in compliance with the regulation. The survey denoted that application of nicarbazin in farm should be monitored for food safety.

Key words: nicarbazin, chicken meat, chicken offal, black-bone chicken meat, goose meat, HPLC, HPLC/tandem mass spectrometry