

## 飼料添加北里黴素(Kitasamycin)及泰黴素(Tylosin)在畜產品中殘留試驗研究

李新進\* 林士鈺 邱士炎

台灣省家畜衛生試驗所

為探討肉豬飼料中添加北里黴素100ppm、泰黴素110ppm、及肉雞飼料中添加北里黴素11ppm及泰黴素1,100ppm飼餵豬雞一個月，停藥6~8天，從停藥起到結束，每天宰殺豬、雞，取肉及臟器組織，以圓筒平板法(cylinder plate methods)操作，檢驗其殘留結果：

北里黴素添加於肉豬飼料中，除了停藥第0天於肉、肝及腎有0.16、0.48及0.40mcg/g殘留，停藥第1天於肝、腎有0.16及0.11mcg/g殘留外，添加於肉雞飼料中，除了停藥第2天於肉及組織有0.1~0.4mcg/g(ml)殘留，停藥3天於肝有0.1mcg/g殘留外，其餘到停藥第8天於肉及臟器組織均測不出殘留。

泰黴素添加肉豬飼料，除了停藥0天於肝及腎有0.30及0.26mcg/g殘留外，添加於肉雞飼料，除了停藥第3天於肉、肝及砂囊有0.1、0.6及0.1mcg/g，停藥第4天於肝有0.2mcg/g外其餘到停藥第6天於肉及臟器組織均測不出殘留。

北里黴素(kitasamycin以下簡稱KT)及泰黴素(tylosin以下簡稱TS)為我國政府公佈之飼料添加物<sup>(1)</sup>，KT可單獨使用，亦可和可利斯汀(colistin)混合使用，以促進長，改進飼料利用效率，預防控制豬黴漿菌性肺炎及細菌性腸炎，停藥期7日。TS亦可單獨使用或和磺胺二甲

噻啉(sulfamethazine)合併使用，以促進生長，改進飼料效率，預防豬赤痢，控制細菌性肺炎，並維持增重效果，添加量800ppm以上，停藥5日。有關這二種抗生素之檢驗，國內之研究報告有傅氏<sup>(2)</sup>(日本厚生省檢查法)與楊氏<sup>(3)</sup>均使用cylinder plate methods方法來操作，國外

\* 抽印本索取作者

台灣省家畜衛生試驗所

亦使用cylinder plate來檢驗<sup>(5,6, 10,11)</sup>，但必先經過一系列之萃取濃縮過程，而齊藤等<sup>(7)</sup>係使用微生物自析法 ( bioautography )，星野等<sup>(8)</sup>係用HPLC方法來操作，這二種方法用以鑑別藥物是殘留檢驗中最好之方法。

## 材料與方法

### 1. 試藥及試液：

除蛋白質溶液：

0.5%偏磷酸 ( metaphosphoric acid )：  
 甲醇 ( 8:2 )。

磷酸緩衝液 ( PH:6.0PBS )：

磷酸氫一鉀 (  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ) 13.3 gm溶於蒸餾水900 ml於一瓶，另取氫氧化鉀6.2 gm溶於100 ml蒸餾水於另一瓶後二瓶混合調PH到  $8.0 \pm 0.1$ 。

北里黴素標準品：

內含kitasamycin 950.5 mcg/mg 向昭元化成公司購買。

北里黴素原料：

內含kitasamycin 88 gm ( 力價 ) /kg 向昭元化成公司購買。

泰黴素標準品：

內含tylosin 920.5 mcg/mg 向昭元化成公司購買。

泰黴素原料：

內含tylosin phosphate 220 gm ( 力價 ) /kg 向昭元化成公司購買。

標準品溶液：

取KT及TS標準品適量，以甲醇溶解配成1,000 mcg/ml之原液，使用時，取原液以PH:8.0之PBS稀釋到每ml含3.2、1.6、0.8、0.4及0.2 mcg/ml並以0.8 mcg/ml為校正濃度。

展開液：

(1)乙醇：水 ( 4:1 )

(2)正丁醇：醋酸：水 ( 10:1:2 )

TLC plate:

(1)Siligel gel不含螢光200 x 200 x 0.2 mm merck 5748號。

(2) Cellulose 200 x 200 x 0.2 mm merck 5552號。

培養基：

(1)細菌移植，保存培養基No.1 merck 5272號。

(2)抗生素分析用種層及基層培養基No.11 merck 5269號。

細菌：

*Sarcina lutea* ATCC 9341

細菌懸浮液：

細菌經接種於移殖培養基於  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  恆溫箱16-18小時取出，以0.85%食鹽水溶出菌苔，並稀釋之，經分光光度計使用580nm波長測定0.6吸光值。

Amberlite XAD-2管柱：

參照(10)文獻方法。

其他抗生素及標準溶液：

取四環素 ( Oxytetracycline 以下簡稱OTC ) 氯四環素 ( Chlortetracycline 以下簡稱CTC ) 林可黴素 ( Lincomycin 以下簡稱Lin ) 各以pH:6.0PBS配成1000mcg/ml原液及史黴素 ( Spiramycin 以下簡稱SP )，枯草菌素 ( Bacitracin 以下簡稱BA )，孟寧素 ( Monensin 以下簡稱MO )，沙利黴素 ( Salinomycin 以下簡稱SA )，觀黴素 ( Spectinomycin 以下簡稱SPE ) 及拉薩羅 ( Lasalocid 以下簡稱LA ) 各以甲醇配成1000mcg/ml原液，使用時再配成適當之含量。

2. 生物自析法 ( bioautography methods )：

參照(4)文獻方法。

3. 動物試驗：

豬試驗：

體重約50 kg豬26頭，分成三組，第一組18頭飼餵空白飼料添加KT 100ppm，試驗一個月，停藥8天。第二組6頭飼餵空白飼料添加TS 110ppm，試驗一個月，停藥3天。第三組二頭飼餵無添加藥物之空白飼料，各組豬於停藥第0天開始到結束，每天宰殺2頭，取心、肝、胃、腎、肉、血清及尿液供試驗檢體。

雞試驗：

體重1.5-2.0kg之肉雞70隻分三組，第一組36隻，飼餵空白飼料添加KT 11ppm，試驗一個月，停藥8天。第二組28隻飼餵空白飼料添加TS 1100ppm，試驗一個月，停藥7天，第三組4隻飼餵無添加藥物之空白飼料，各組於試驗中每隔10天各宰殺3隻，以及試驗一個月後停藥，各組於停藥第0天開始到結束，每天宰殺3隻，取心、肝、砂囊、肉、腎及血清供試驗檢體。

4. 檢體操作方法：如流程圖。

5. 圓筒平板操作法：

悉依(11)內方法為之。

6. 生物自析法：

悉依(4)內方法為之。

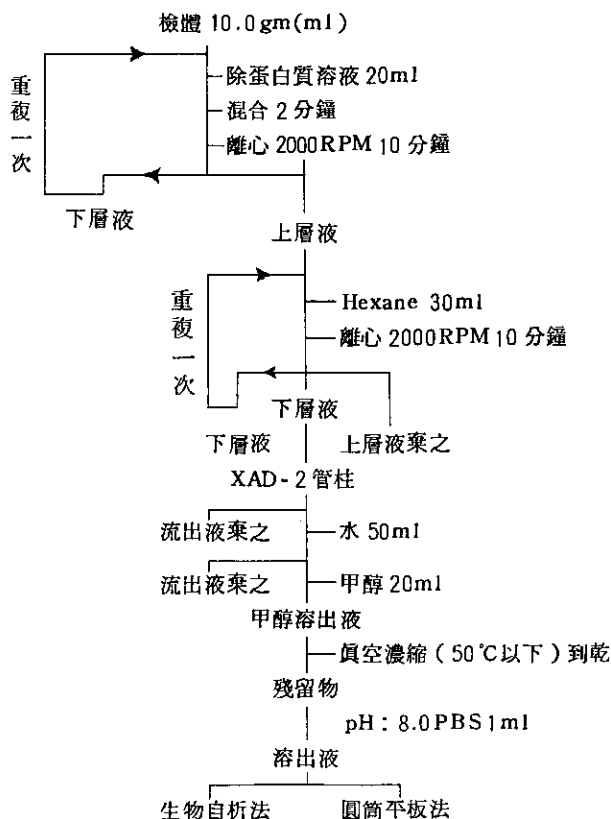
7. KT及TS回收試驗：

取空白檢體10gm或10ml，分別加入KT及TS 0.1及0.3 mcg/g (ml)以下照檢體操作法。

8. KT及TS含量計算：

萃取時檢體各取10 gm或10 ml，經處理最後以1 ml。pH: 8.0 PBS溶液溶出操作，相當於濃縮10倍，檢體濃縮液與校正濃度同時用圓筒平板法操作，所得抑制圈直徑與標準曲線對照找出含量，除10再除回收率即得檢體含量 (mcg/g)

檢體操作流程圖：

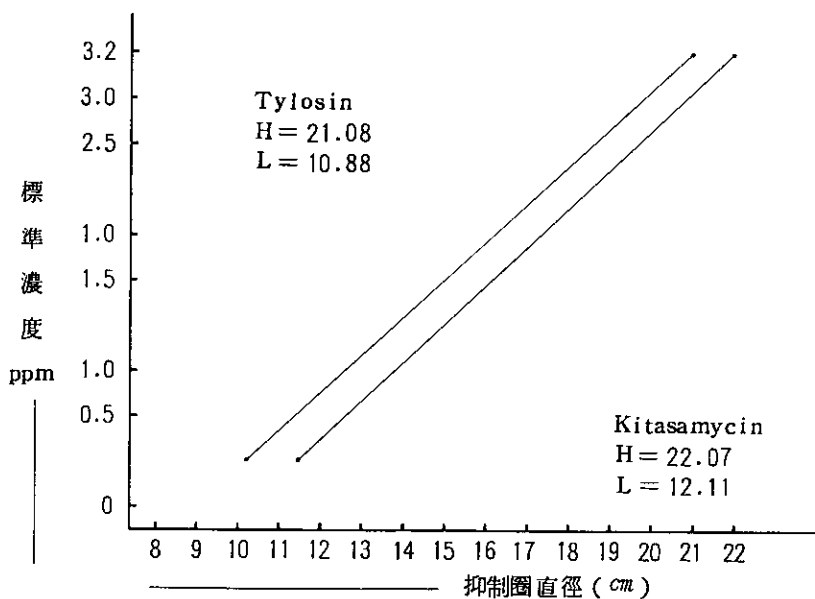


## 結 果

mcg/ml為校正濃度以*Sarcina lutea* (ATCC 9341)為菌種，培養於 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 恆溫箱18小時，取出測量之抑制圈，如圖二，以抑制圈為橫軸，標準濃度為縱軸做成曲線如圖一。

KT及TS標準曲線：

取KT及TS標準原液以pH:8.0 PBS稀釋到每ml含3.2, 1.6, 0.8, 0.4及0.2 mcg，並以0.8



圖一 北里黴素及泰黴素之標準曲線

KT及TS於豬肉、雞肉及組織之回收率： 加入KT及TS標準液各0.1及0.3 mcg/g(ml)，  
取空白豬肉、雞肉及組織各10 gm(ml)分別 經與檢體操作法同樣進行，其結果如表一、表二。

表一 KT及TS於豬肉及組織之回收率

抗生素	添加量 mcg/g (ml)	回收率 %				
		肉	肝	腎	血清	尿液
KT	0	—	—	—	—	—
	0.1	92.5	95.3	92.5	84.0	83.0
	0.3	90.0	90.0	87.0	70.0	70.0
TS	0	—	—	—	—	—
	0.1	90.0	86.0	77.0	61.0	70.0
	0.3	91.0	74.0	85.0	70.0	75.0

\* —：未檢出

由表一之數據得知KT及TS於豬肉及組織之平均回收率，肉、肝、腎、血清及尿液依序為91.25%，88.1%，77.0%及76.5%和90.5%，80.0%，81.0%，65.5%及72.5%。

由表二數據得知KT及TS於雞肉及組織之平均回收率，肉、肝、砂囊、及血清依序為91.7%，82.4%，81.3%及75.0%和88.5%，82.0%，

81.5%及76.0%。

大豬飼料分別添加KT 100 ppm及TS 110 ppm，試驗一個月後停藥8天及7天，停藥從第0天起到結束，每天宰殺豬二頭取肉、肝、腎、血液及尿液各10 gm(ml)，依照檢體流程操作，其結果如表三及表四。

表二 KT及TS於雞肉及組織之回收率

抗生素	添加量 mcg/g (ml)	回收率 %			
		肉	肝	砂囊	血清
KT	0	—	—	—	—
	0.1	90.0	85.0	90.5	82.5
	0.3	93.5	79.8	72.5	67.5
TS	0	—	—	—	—
	0.1	93.0	89.0	97.0	83.0
	0.3	84.0	75.0	76.0	69.0

\* —：未檢出

表三 KT於豬尿、血清及各臟器組織之含量及殘留量

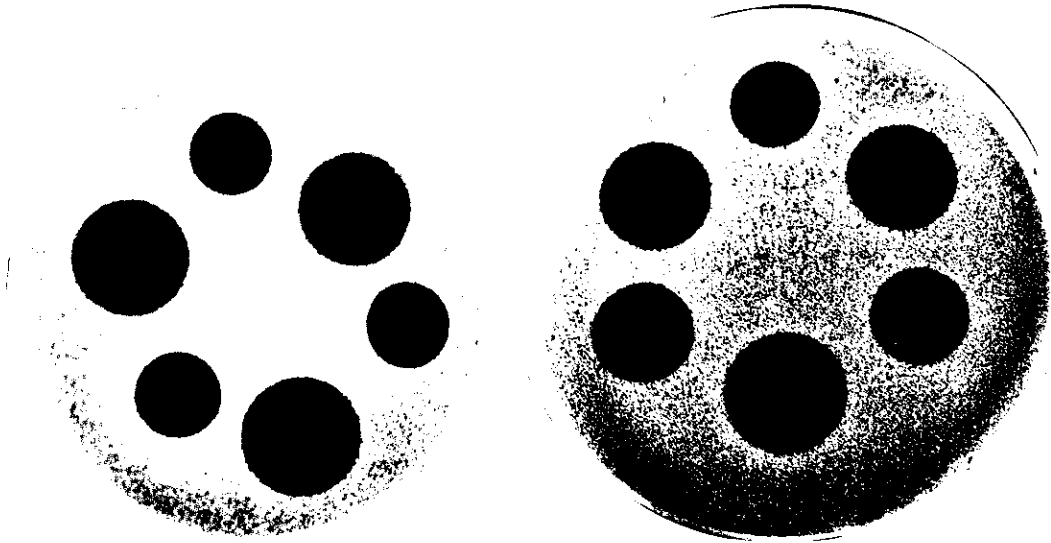
單位：mcg/g (ml)

停藥天數	尿	血清	肉	肝	腎
0	2.08	0.48	0.16	1.46	0.40
1	0.69	0.16	—	0.40	0.11
2	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—

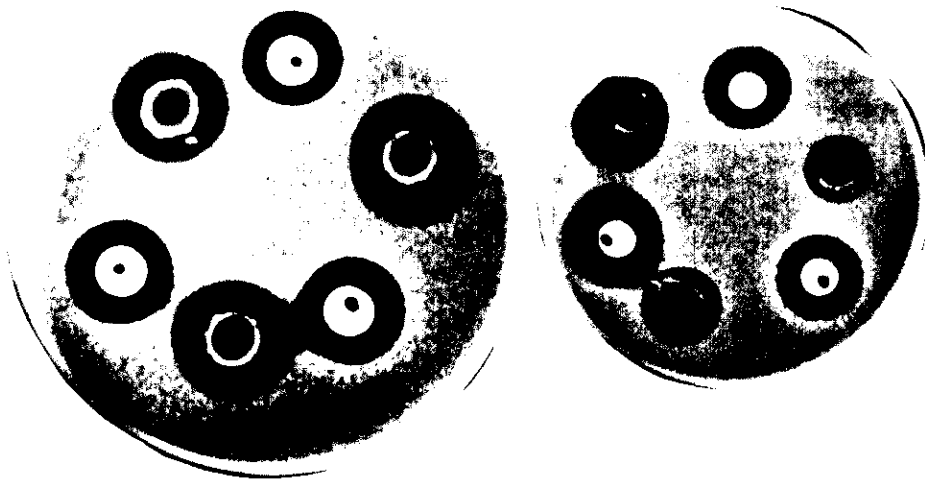
\* 表中數字係二頭平均值

—：未檢出

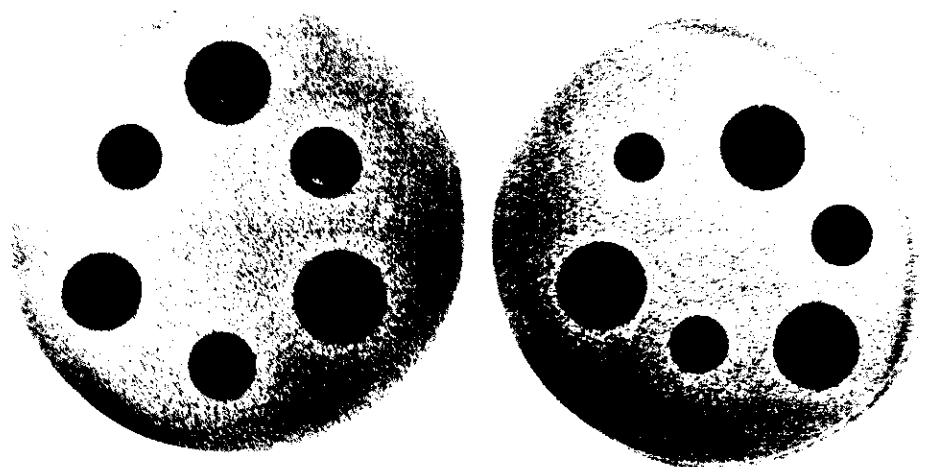
- \* 表中數字係二頭平均值  
- : 未檢出



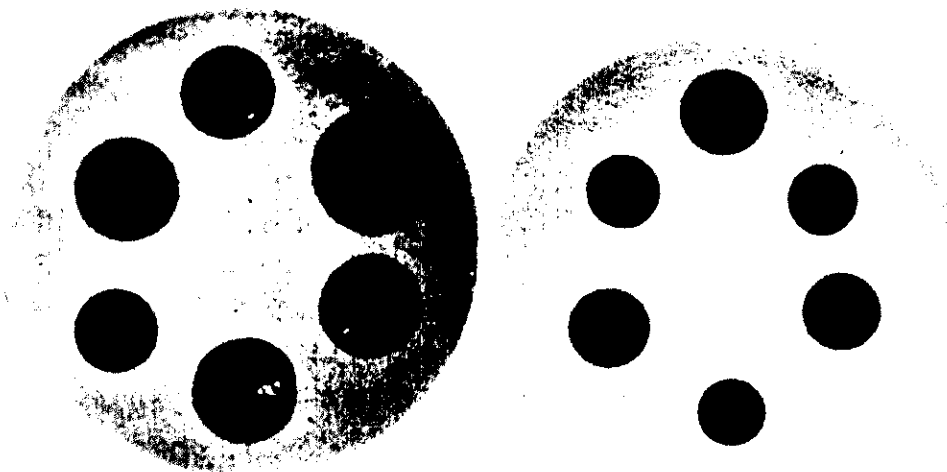
圖二 標準曲線之抑制圖，左圖為北里黴素，右圖為泰黴素。



圖三 北里黴素及泰黴素於試驗中豬尿之抑制圖  
左圖為北里黴素（未停藥），右圖為泰黴素（停藥一天）



圖四 北里徽素於豬肝中之殘留，左圖停藥0天，右圖停藥1天



圖五 泰徽素於雞肝中之殘留，左圖停藥0天，右圖停藥1天

表四 TS於豬尿、血清及各臟器組織之含量及殘留量

停藥天數	單位：mcg/g (ml)				
	尿	血清	肉	肝	腎
0	2.06	0.30	—	1.92	0.26
1	0.38	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—

\* —：未檢出  
表中數字是二頭平均值

KT及TS於試驗中所排放之尿液，不必經由萃取，即可直接操作而測出對細菌之抑制圖，如圖三，但停藥後即須經由萃取濃縮萃取才可測得。由表三之結果知KT於停藥後第0天尿、血清、肉、肝、腎均可測出殘留，如圖四。停藥1天僅尿、血清、肝及腎可測得微量之殘留，停藥二天以後即無法測出殘留。由表四之結果知TS於停藥第0天僅尿、血清、肝及腎可測得微量之殘留，停藥第1天僅尿可測出含量其餘以及停藥2天以後即無法測出殘留。

大雞飼料分別添加KT 11 ppm及TS 1100 ppm，於試驗中宰殺之雞隻及試驗一個月後停藥8天及7天，從停藥0天起到結束，每天宰3隻雞，取肉、肝、砂囊及血液各10 gm(ml)，依照檢體操作，其結果如表五及表六。

由表五之結果KT停藥第2天於各組織臟器，及第3天肝尚有微量殘留第4天以後即無法測出殘留。由表六之結果知TS停藥到第3天組織尚有0.1 ppm以上之殘留，停藥4天肝 (0.2 mcg/g) 殘留。可見TS於高劑量添加於飼料使用時至少須停

藥5天以上才可出售。

KT及TS於豬肉中冷凍保存 (-20°C + 1°C) 含量之消長：

取KT及TS各以1及3 mcg/g添加於空白豬肉中，於冷凍保存6個月，每月取出檢測，其結果如表七，由表七結果知KT及TS保存6個月後其力價消失20.2%及17.8%。

KT及TS於豬肉中加熱試驗：

取空白豬肉分別添加KT及TS各1及3 mcg/g，經加熱煮沸10分鐘及油炸後再行測定，結果顯示加熱煮沸及油炸後均測不出殘留，可見加熱處理會使KT及TS消失力價。

可能干擾物質測定：

為瞭解本試驗使用之方法，對於常用抗生素添加物OTC, CTC, SP, MO, LIN, BA, SA, SPE及LA亦做同樣試驗其結果如表八，由表八之結果知，會影響本試驗之抗生素有CTC, OTC, SP, BA及LIN等，因此今後對畜產品中，引用本方法檢驗KT及TS時須和生物自析法(Bioautography)同時操作，以免造成誤判。



表五 KT 於雞肉、血清及各臟器組織之殘留量

單位：mcg/g (ml)

停藥天數	肉	肝	砂 囊	血 清
未停藥 10 天	0.3	1.0	0.3	1.0
未停藥 20 天	0.4	1.3	0.6	1.1
未停藥 30 天	0.4	1.3	0.6	0.5
0	0.2	0.6	0.2	0.4
1	0.1	0.5	0.1	0.2
2	<0.1	0.4	<0.1	—
3	—	<0.1	—	—
4	—	—	—	—
5	—	—	—	—
6	—	—	—	—
7	—	—	—	—
8	—	—	—	—

\* —：未檢出  
表中數字係三隻平均值

表六 TS 於雞肉、血清及各臟器組織之殘留

單位：mcg/g (ml)

停藥天數	肉	肝	砂 囊	血 清
未停藥 (10 天)	7.3	30.0	7.3	25.8
未停藥 (20 天)	8.3	36.5	8.5	33.5
未停藥 (30 天)	8.4	38.5	8.5	36.8
0	3.0	15.5	3.1	13.8
1	0.9	3.2	0.9	2.1
2	0.3	1.1	1.3	0.6
3	0.1	0.6	0.1	0.2
4	—	0.2	—	—
5	—	—	—	—
6	—	—	—	—

\* —：表未檢出      \*：表中數字係三隻平均值

表七 KT及TS於豬肉組織中冷凍保存(-20℃±1℃)含量之消長

單位：mcg/g

藥物名稱	添加量 mcg/g	保 存 天 數						
		0	30	60	90	120	150	180
KT	1	1.00	0.98	0.96	0.93	0.90	0.88	0.82
KT	3	2.98	2.91	2.80	2.70	2.68	2.55	2.32
TS	1	1.00	0.99	0.95	0.95	0.92	0.90	0.84
TS	3	1.00	2.96	2.80	2.76	2.70	2.67	2.44

\*：表中數字是三個檢體之平均值

表八 其他抗生素以本試驗方法之分析

抗 生 素	空白豬肉添加量mcg/g	抑制圈產生
羥四環素 (OTC)	0.5	+
羥四環素 (OTC)	1	+
氯四環素 (CTC)	0.5	+
氯四環素 (CTC)	1	+
史黴素 (SP)	0.5	+
史黴素 (SP)	1	+
孟寧素 (MO)	0.5	-
孟寧素 (MO)	1	-
林可黴素 (LIN)	0.5	+
林可黴素 (LIN)	1	+
枯草菌素 (BA)	0.4*	+
枯草菌素 (BA)	1.2*	+
沙利黴素 (SA)	0.5	-
沙利黴素 (SA)	1	-
觀黴素 (SPE)	0.5	-
觀黴素 (SPE)	1	-
拉薩羅 (LA)	0.5	-
拉薩羅 (LA)	1	-

\*：unit

## 討 論

畜產品藥物殘留試驗最感困擾的是前處理過程，本試驗最初曾使用除蛋白質用試液<sup>(7)</sup>，因操作時間太長而放棄，再改用磷酸加甲醇萃取，也因磷酸本身對細菌有很強之抑制作用，稍微處理不完全而殘存則會造成誤差，最後才使用目前方法以偏磷酸加甲醇<sup>(8)</sup>來除蛋白質，結果時間較短又能提高回收率。

北里黴素及泰黴素均屬於巨環類(Macrolite)抗生素，對於革蘭(Grams)陰性及陽性細菌感受性均很高，使用 *Sarcina luteus* 菌(ATCC 9341)來分析<sup>(3,5,6,7,10)</sup>，其感度為0.5  $\mu\text{g/g}$ 。

畜產品殘留抗生素之檢查，一般均使用篩選法<sup>(2)</sup>操作，對於使用之細菌其感度在0.5  $\mu\text{g/g}$ 以上者均可直接進行<sup>(3,5)</sup>，但篩選出來陽性者只能說明該檢體含有抗菌物質，而不能證明是何種抗生素，若要進行追蹤須使用薄層析法(TLC Method)及微生物自析法(Bioautography)進行定性及量分析。本實驗對此亦做各種抗生素之對照操作，以免檢驗時造成誤判。

抗生素於畜產品中之殘留，經加熱後是否仍會造成衛生上之污染，尚未有人提出報告，但筆者曾做過部分抗生素，如四環素、林可黴素、觀黴素、孟寧素<sup>(4)</sup>及本試驗所使用之泰黴素、北里黴素經加熱(煮沸及油炸)處理，均會使抗生素生物力價消失。

## 參考文獻

1. 行政院農業委員會，1991，飼料添加物使用準則，1-14, 1-31台北，台灣。
2. 傅祖慧.1982.日本，美國及我國的畜水產品殘留抗生物質檢查法，台灣區肉品基金會印行13-15。
3. 楊清白、陳樂民、曾弘智.1982.九種抗生素飼料添加物在亞熱帶台灣對肉雞育成添加效果及其在體內殘留，中華農學會報118期72-82。
4. 李新進、楊揚輝、邱仕炎.1989.飼料添加孟寧素(Monensin)在雞肉及雞蛋中殘留試驗，台灣省家畜衛生試驗所，研究報告No:25.59-64。
5. 吉村治郎、野村浩正、近藤邦熊、未澤昭一.1978.筋肉内注射またけ經口投與したキタサマイシン豚體內にける分佈の殘留。Ann. Rep. Nat. Assay. Lab. No: 15 49-56。
6. 吉村治郎、伊藤治、近藤邦雄、未澤昭一、名倉清一.1978.飲水投與したマクロライド系抗生物質的雞卵中の殘留Ann. Rep. Nat. Vet. Assay. Lab. No: 15 43-48。
7. 齊藤文一、藤崎尚子、鈴木昌二、高須一重、丹野憲二、內部博泰.1983.ブタ組織中殘留マクロライド系抗生物質的分析法，食衛誌，Vol: 24. No: 2.130-135。
8. 星野庸二、堀江正一、能勢憲英、岩崎久.1984.高速液體クロマトグラフィによる食肉中のテトラサイクリン系抗生物質及びマクロライド系抗生物質定量，食衛誌，Vol: 25 No: 5. 430-435。
9. 柴由重孝.1985.動物用醫藥品，飼料添加物の畜水產品への殘留とその分析法，畜產生物科學安全研究所編，東京近代社237-240。
10. Mrlter green lauridsen, Carl lund and Merete jacobsen. 1988. Determination and Depletion of Residues of Carbadox, Tylosin, and Virginiamycin in Kidney, Liver, and Muscle of Pigs in feeding Experiments. J. ASSOC. OFF, ANAL. CHEM. (VOL 71, No.5. 1988) 921-925.
11. Microbiology Laboratory Guidebook January. 1974.6-8。

## The Residue of Kitasamycin and Tylosin in Animal Products

S.J. Lee\*, SY. Lin and S.Y. Chiu.

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

### SUMMARY

Experiments were conducted to investigate the residue of kitasamycin (100 ppm) and tylosin (110 ppm) fed to pigs, and kitasamycin (11 ppm) and tylosin (1100 ppm) fed to broilers. The feeding experiments lasted for 1 month. Pigs or broilers were slaughtered after one to six or eight days of withdrawal period. Tissues were sampled and undergone extraction condensation and then assayed by microbiological cylinder plate methods.

In the experiment of kitasamycin fed to pigs, there were 0.16, 0.48 and 0.40 mcg/g of drug residue in meat, liver and kidney, respectively on day 0 of withdrawal period, 0.16 and 0.11 mcg/g resided in liver and kidney on day 1. When fed to broilers, 0.1-0.4 mcg/g (ml) of kitasamycin resided in meat tissue on day 2 of withdrawal, 0.1 mcg/g of kitasamycin resided in liver and days. No drug activity could be detected from meat and tissues on day 8 of withdrawal.

In the experiment of tylosin fed to pigs, liver and kidney had 0.30 and 0.26 mcg/g of tylosin on day 0. In the case of broilers, meat, liver and gizzard had 0.1, 0.6 and 0.1 mcg/g of tylosin on day 3 of withdrawal period, liver had 0.2 mcg/g of tylosin on day 4. No drug activity could be detected from meat and tissues on day 6 of withdrawal.

---

\*Corresponding author

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