

飼料添加氯四環素及磺胺二甲嘧啶於 畜產品中殘留試驗

7-5-11

李新進 林士鈺 楊揚輝 邱仕炎

台灣省家畜衛生試驗所

為探討大豬飼料中同時添加氯四環素 (Chlortetracycline, CTC), 磺胺二甲嘧啶 (Sulfamethazine, SMZ) 各 110 ppm 及大鷄飼料分別添加 CTC 220 ppm, 磺胺奎林 (Sulfaquinoxaline, SQ) 500 ppm, 依照飼料添加物使用準則規定添加, 是否會殘留, 以及殘留之檢驗方法, 其結果如下:

檢驗方法:

CTC 以圓筒平板法操作, 以 PBS 萃取, 離心後用枯草桿菌 (ATCC 6633 菌) 測定, 而 SME 及 SQ 用高效能液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 操作, 取檢體以 0.01N 硫酸均質, 用氯仿萃取, 蒸乾後再用甲醇溶解, 注入 HPLC 測定, 可檢出 0.1 及 0.02 ppm 以上殘留。

殘留情形:

CTC 添加於大豬飼料中, 除了停藥 1 天於尿有 0.7 ppm 殘留外, 其他肌肉、組織以及停藥 2 天以後各肌肉組織均未檢出殘留, 添加於大鷄飼料中, 也是除了停藥 1 天於血清, 肝及腎有 0.8~1.2 ppm 之殘留外, 其他肌肉、組織及停藥 2 天以後各肌肉組織均未檢出殘留。而 SMZ 添加於大豬飼料於停藥第 10 天在肌肉、腎及肝臟尚有 0.1、0.3 及 0.5 ppm 殘留, 停藥 15 天各肌肉及組織均未檢出殘留, SQ 添加於大鷄飼料於第 7 天各肌肉組織均可測出 0.02~0.1 ppm, 於第 10 天各肌肉及組織均未測出殘留。可見 CTC、SMZ 及 SQ 依照飼料添加物準則規定及停藥, 則不會殘留於豬肉、雞肉及其組織中。

貯存試驗:

CTC、SMZ 及 SQ 於豬肉及雞肉中, 經冷藏 ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) 及冷凍 ($-20 \pm 1^\circ\text{C}$) 保存 60 天。於冷藏保存含量分別降低 39.6%、31.1% 及 35%, 而冷凍保存含量分別降低 3.3%、6.7% 及 2%。

氯四環素(以下簡稱CTC),磺胺二甲嘧啶(以下簡稱SME)及磺胺奎林(以下簡稱SQ)為我政府公佈之飼料添加物,CTC可單獨使用亦可跟其他藥物合併使用,以促進生長,改進飼料利用效率,增重和預防細菌性腸炎、肺炎、雞CRD,滑膜炎和緊迫期間發生之疾病及治療細菌性腸炎,減少頸部膿腫和罹患萎縮性鼻炎⁽¹⁾,而SME不可單獨使用,須與其他抗生素或化學藥劑合併使用,主要為預防及治療細菌性引起之疾病⁽¹⁾。

四環素類藥物是抗生素中最廣效殺菌製菌藥物之一,由於殺菌力強,毒性也不高,吸收後代謝也快,故很早就被飼料界推薦添加於飼料中,有關四環素類使用及報告很多^(1,2,3,5,9)。但由於力價之關係,至今世界各國政府官方之檢驗方法,仍使用微生物檢驗。致於磺胺劑跟抗生素就稍有不同,它是一種化學抗菌劑,在體內體外均有抗菌作用,唯一缺點就是藥物經吸收進入體內後,停藥時間很長,一般須停藥7~15天以後方可屠宰,在檢驗及使用報告也不少文獻⁽⁴⁾是用GC分析,^(6,7)是用HPLC分析,而⁽⁸⁾是用免疫酵素法來測定。

本項試驗除了用傳統之分析測定肉及組織中氯四環素,磺胺二甲嘧啶及磺胺奎林外,特別着重於豬尿中藥物檢驗,期望能在最短時間內預知一群豬是否可以上市屠宰,這是本試驗的主要目的。

材料與方法

1.動物試驗:

豬試驗:

供試大豬120頭分二組,第一組試驗組100頭,於飼料中添加氯四環素(CTC)及磺胺二甲嘧啶(SMZ)各110ppm,試驗一個月後停藥15天。第二組對照組20頭,飼養無添加藥物之空白飼料。從試驗開始到結束共45天,每天定時採取新鮮尿液,並於停藥前1天,及停藥後1天,2天及10天各宰殺一頭豬,取肉、肝、心、胃、脾、肺、血液、尿液及腎供試驗檢體。

雞試驗:

供試大雞47隻分5組,第一組7隻,於

飼料中添加CTC 220ppm,第二組7隻於飼料中添加CTC 440ppm,第一、二組飼養一個月後停藥5天。第三組14隻於飼料中添加SQ 500ppm,第四組14隻於飼料中添加SQ 1,000ppm,第三、四組試驗二天後停藥12天。第五組為對照組使用5隻雞飼養無添加藥物之空白飼料。試驗組於停藥前一天及停藥後每天各宰殺1隻雞,取肉、肝、心、砂囊及腎臟供試驗檢體。

2.設備:

高效液相色層分析儀(HPLC):

KRATO牌,其配件,Pump 400 Kratos Spectroflow 400, Injector 480, Absorbance detector 773 Chromatographer II, Column RP-18 (7um), 使用條件,移動相流速1.5ml/min,感度64,波長280。

3.試藥及試液:

STZ、SMZ及SQ標準品:USP級。

CTC標準品:向台灣氣胺公司分讓。

CTC、SMZ及SQ原料:向春安貿易公司購買。

丙酮、硫酸、氯仿、甲醇、冰醋酸、氬甲烷,第一磷酸鉀 tert-butanol 為MERCK產品。Fluorescamine 為Sigma F-9015。抗生素培養基為Difco牌No:1 No:2。

TLC Plate:MERCK5748號。

枯草菌片:ATCC6633 為本所製劑研究系製造。

TLC 移動相:

氯仿:tert-Butanol (80:20 v/v)。

TLC 呈色液:0.01% Fluorescamine 丙酮溶液。

HPLC 移動相:

氬化甲烷:1%冰醋酸溶液(20:80 v/v)。

標準液:

取CTC、SMZ、STZ各精取相當於20mg於20ml褐色容量瓶,加甲醇到刻度,即得1,000ppm原液。

SQ標準液:

精取SQ標準品相當於20mg於20ml褐色容量瓶,加1ml冰醋酸溶解後再加甲醇到刻

度即得 1,000 ppm 原液。

緩衝液：

取 13.6 gm 第一磷酸鉀加水 900ml 溶解後，以 1 N 鹽酸及 1 N 氫氧化鈉溶液修正 pH 為 4.5 再加水到 1,000ml，經 121°C 15 分鐘滅菌冷卻使用。

4. 方法：

CTC 試驗：

標準曲線：

取 CTC 原液以緩衝液稀釋到 1.6, 0.8, 0.4, 0.2 及 0.1 ppm，其中以 0.4 ppm 為標準修正濃度。

CTC 回收試驗：

取空白檢體 10 gm，加入 CTC 1,000 及 400 ppb，以下照檢體方法操作。

檢體：

取肝、腎、脾、胃、心、砂囊、肺及肉以碎肉機絞碎後，各取 10 gm 於 50ml 滅菌離心管，加入緩衝液 10ml 振盪 10 分鐘，經 2,000 rpm 離心 5 分鐘，取上清液依⁽⁹⁾方法操作之，尿及血清直接操作。

CTC 於檢體內含量之計算：

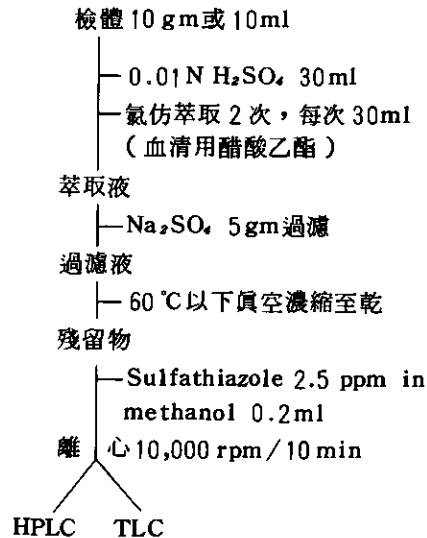
將檢體之抑制圈直徑與標準曲線對照，找出其含量，再除以回收率即得檢體之含量 (ppm)。

SMZ 及 SQ 試驗：

SMZ 及 SQ 回收試驗：

取空白檢體 10 gm 分別加入 50, 100, 200 及 400 ppb 之標準液後檢體操作法操作之。

檢體：檢體萃取流程圖



SMZ 及 SQ 檢體含量計算：以下面公式為之

$$\frac{D}{B} + \frac{C}{A} \times 0.2 \times 2.5 \div 10 \div \text{回收率} = \text{檢體 SMZ 或 SQ 含量 (ppm)}$$

註：A = 內標準波峰面積

B = 標準液波峰面積

C = 檢體內標準波峰面積

D = 檢體中 SMZ 或 SQ 波峰面積

0.2 = 檢體最後加入甲醇量

2.5 = 標準液之含量 (ppm)

10 = 檢體之重量

結 果

CTC 標準曲線及回收率：

CTC 以甲醇溶解，用緩衝液稀釋到每 ml 含 1.6, 0.8, 0.4, 0.2 及 0.1 mcg 並以 0.4 mcg/ml 為修正濃度，經以枯草菌 (ATCC 6633) 為菌種培養於 36 ± 1°C 恆溫箱 5 小時，取出之抑制圈如圖二，經測定抑制圈直徑為橫軸，標準濃度為縱軸，做成之曲線如圖一：

豬試驗取空白之尿、血清、肝、腎、脾、心、肺、胃及肉各 10 gm 或 10 ml，加入 CTC 1,000 及 400 ppb 經和檢體一同操作所獲得之抑制圈直徑和標準曲線對照換算回收率分別為

93.5%、96%、98%、96%、96%、98%、96%、96%及98%。

鷄試驗取空白之血清、肝、腎、砂囊及肉各10ml或10gm，分別加入CTC1,000及400ppm經和檢體一同操作所獲得抑制圈與標準曲線對照換算其回收率分別為96%、95%、97%、97%及98%。

CTC及SMZ於豬尿，豬肉及各組織中之含量：

大豬飼料中同時添加CTC及SMZ各110ppm試驗一個月，停藥15天，於試驗中每天採尿液及停藥前1天和停藥後1天，2天及10天分別宰殺1頭豬，取尿，肉及各臟器組織各10ml或10gm以CTC及SMZ檢體操作方法進行測試藥物在尿中含量及各組織中之殘留量如表一、圖五及圖六。

由表一中知藥物於尿中含量最高，而血清中次之，肉中最少，停藥1天後CTC排泄很快而SMZ較慢，停藥到第14天於尿中尚有SMZ殘留。

尿血清中CTC及SMZ之含量與各組織間關係：

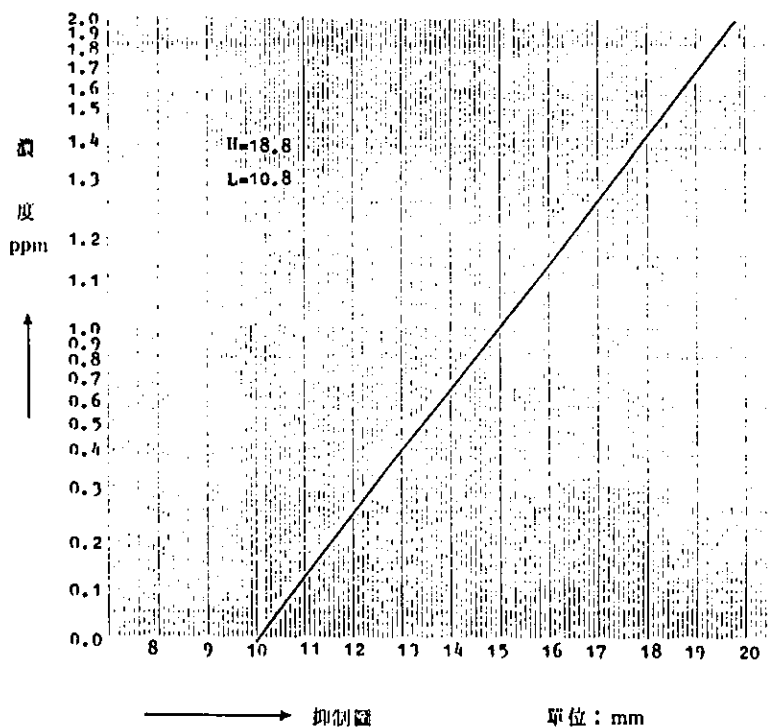
由表一中CTC及SMZ在豬尿、血清及各組織之含量，以未停藥之數據來換算其關係如表二：

CTC及SMZ於組織中經冷藏(4°C)及冷凍(-20°C)保存含量之消長：

取未停藥所宰殺之豬肉及其組織經保存60天，每隔10天取出檢測藥物之含量，其結果如表三。

從表三中看出，豬肉及其組織於冷凍保存60天後平均殘留量降低CTC3.3%、SMZ7.6%，而於冷藏保存平均殘留量降低CTC39.6%，SMZ31.1%，可見冷凍保存對於藥物殘留量降低不大，而冷藏保存二個月雖然殘留量降低約35%，但大部份組織已見腐敗現象。

為了預期了解豬群中是否仍有藥物殘留，對於已試驗之豬隻，從開始試驗起到停藥結束，每天採尿液做TLC對SMZ及抗生素微生物測定對CTC之檢測，得知豬尿中有SMZ及



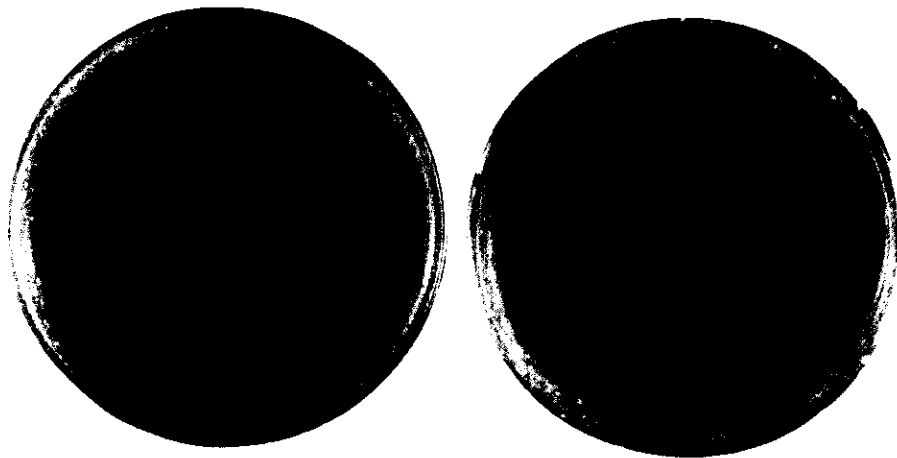
圖一 CTC之標準曲線

表一 CTC及SMZ於豬尿血清各臟器組織之含量

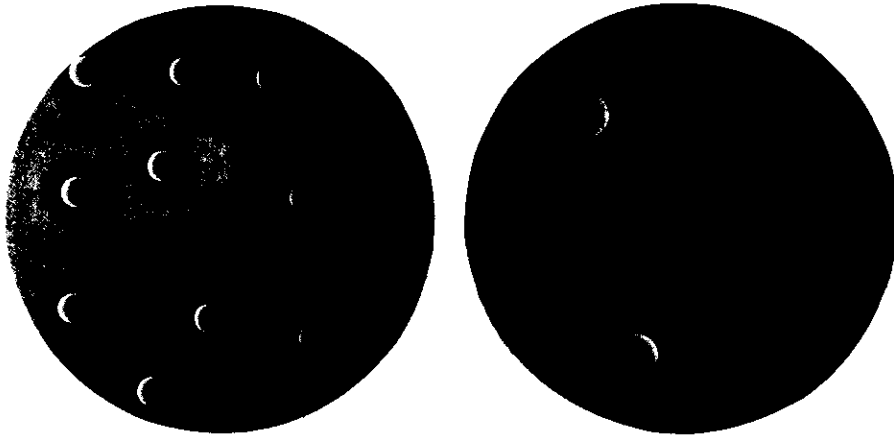
單位：ppm

藥物名稱	停藥天數	尿	血清	肝	腎	脾	心	胃	肺	肉
CTC	未停藥前	20.1	8.1	5.2	5.0	4.8	2.8	1.2	2.4	1.1
SMZ	10天	18.8	6.2	5.5	3.2	3.1	2.0	1.5	2.8	1.5
CTC	1	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SMZ	1	11.3	3.7	3.4	1.9	1.8	1.3	0.9	1.6	0.9
CTC	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SMZ	2	6.7	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	3	5.2	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	4	5.1	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	5	4.6	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	6	3.9	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	7	3.1	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	8	2.8	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	9	2.2	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	10	1.4	0.5	0.4	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
SMZ	11	0.9	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	12	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	13	0.08	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	14	0.03	-	-	-	-	-	-	-	-
SMZ	15	ND	-	-	-	-	-	-	-	-

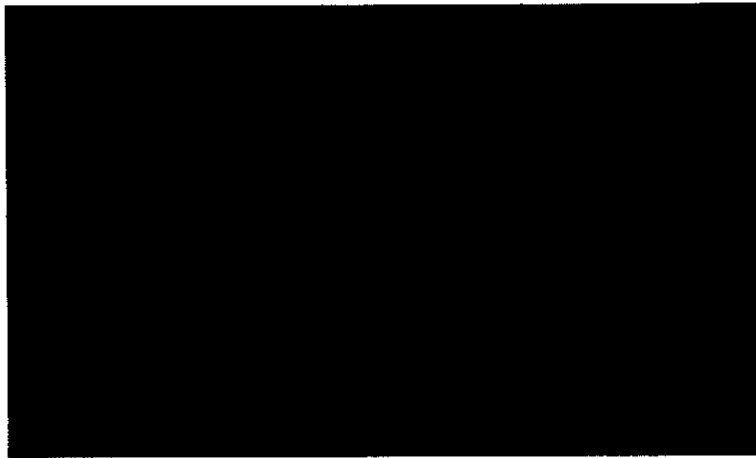
ND = 未檢出 - = 未做檢驗



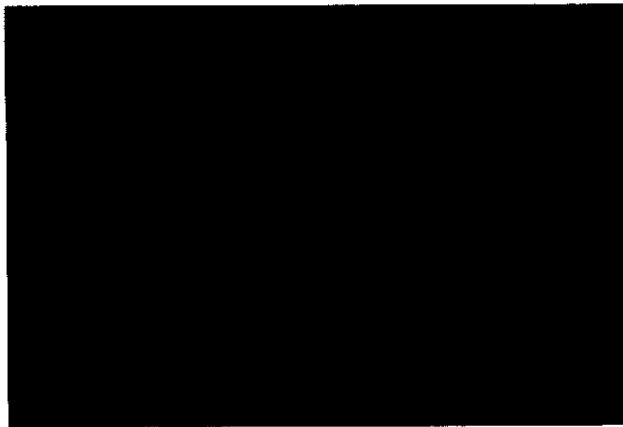
圖二 氯四環素標準曲線操作之抑制圖



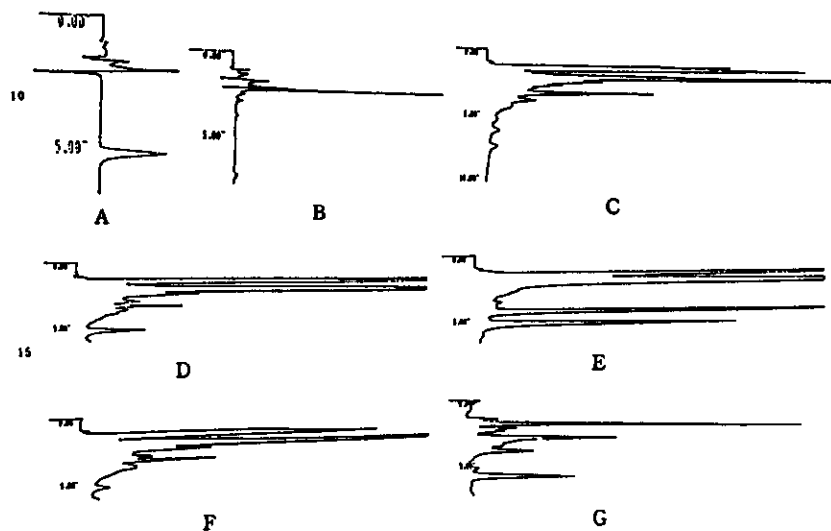
圖三 尿中氯四環素含量之測定



圖四 豬尿中磺胺二甲嘧啶以TLC測定之展開圖



圖五 豬肉、胃、腎、肝、脾及心經萃取後以TLC測定之展開圖



圖六 豬尿及豬肉中磺胺二甲嘧啶以HPLC操作之圖形

- A：磺胺二甲嘧啶標準液 2.5 ppm
- B：空白豬肉
- C：空白豬尿
- D：空白豬尿添加磺胺二甲嘧啶 100 ppb
- E：豬尿停藥 1 天
- F：豬尿停藥 10 天
- G：豬肉停藥 1 天

表二 尿、血清中 CTC 及 SMZ 之含量與各組織含量之關係常數

組 織	尿中 CTC	血清中 CTC	尿中 SMZ	血清中 SMZ
肉	0.05	0.14	0.08	0.24
腎	0.24	0.61	0.17	0.51
肝	0.26	0.64	0.29	0.88
脾	0.23	0.59	0.16	0.50
心	0.14	0.24	0.11	0.32
胃	0.05	0.14	0.08	0.24
肺	0.11	0.29	0.15	0.45

表中數據的應用是尿中 CTC 的含量 × 0.05 等於肉中 CTC 含量，以下類推。

CTC 0.5 ppm 以上時，在 TLC 及微生物試驗即能檢測出，其結果如圖三及圖四。

大雞飼料中分別添加 CTC 220 及 440 ppm 試驗 30 天，停藥 5 天和添加 SQ 500 及 1,000 ppm，試驗 2 天，停藥 12 天。各項試驗於停藥後每天各宰殺 1 隻雞，取肉及內臟組織各 10

gm 進行測試，其結果如表四及圖七。

從表四中知藥物之殘留以血清最高，肝次之，而肉最少，CTC 停藥後於血清及臟器即無法測出殘留，而 SQ 就很慢，停留到第九天於血清中尚有微量殘留，而第 10 天以後即測不出殘留。

表三 CTC 及 SMZ 於組織中經冷藏及冷凍保存含量消長

單位：ppm

組織名稱	藥物名稱	保存溫度 (°C)	保存時間 (天)						
			0	10	20	30	40	50	60
肉	CTC	-20	1.1	1.0	1.0	1.1	0.9	1.0	1.0
			1.5	1.4	1.4	1.4	1.5	1.4	1.3
	SMZ	4		1.1	1.0	0.9	0.8	0.6	0.6
				1.5	1.5	1.3	1.2	1.1	1.0
肝	CTC	-20	7.1	7.0	6.7	6.8	6.5	6.4	6.3
			5.5	5.3	5.1	5.2	5.4	5.3	5.4
	SMZ	4		6.9	6.3	5.5	6.4	5.3	5.4
				5.1	5.0	4.8	4.7	4.6	4.0
腎	CTC	-20	5.2	5.1	5.3	5.3	5.1	5.3	5.1
			3.2	3.1	3.1	3.1	3.2	3.1	3.1
	SMZ	4		5.0	4.9	4.4	4.2	4.1	4.0
				3.0	3.0	3.1	2.8	2.8	2.7
心	CTC	-20	3.9	4.0	3.7	3.8	3.7	3.9	3.7
			2.1	2.1	1.9	1.9	1.8	1.8	1.8
	SMZ	4		3.8	3.6	3.2	2.9	2.1	2.0
				2.0	1.8	1.9	1.1	1.2	1.2
胃	CTC	-20	1.8	1.8	1.8	1.8	1.7	1.6	1.8
			1.5	1.6	1.6	1.5	1.3	1.4	1.3
	SMZ	4		1.7	1.2	1.1	0.9	0.9	0.8
				1.4	1.1	1.0	0.9	1.0	0.9

表四 CTC及SQ於雞肉及各臟器組織之含量

單位：ppm

藥物名稱	組別	停藥天數	血清	肝	腎	砂囊	心	肉
CTC	220	未停藥	4.8	2.9	2.6	1.1	1.2	1.0
CTC	440	"	5.2	3.1	3.0	1.7	1.9	1.1
SQ	500	"	8.4	8.3	7.2	3.6	3.8	2.6
SQ	1000	"	10.6	10.4	9.4	4.8	4.1	3.0
CTC	220	1	1.1	0.9	0.8	ND	ND	ND
CTC	440	1	1.2	1.1	0.9	ND	ND	ND
SQ	500	1	6.8	6.6	6.3	1.8	1.9	1.5
SQ	1000	1	7.5	7.2	7.0	2.4	2.3	1.9
CTC	220	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CTC	440	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SQ	500	2	3.9	2.3	2.1	1.6	1.5	1.1
SQ	1000	2	4.2	3.8	3.2	2.1	2.0	1.5
CTC	220	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CTC	440	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SQ	500	3	2.7	2.0	1.3	1.1	1.1	1.0
SQ	1000	3	3.6	3.1	2.2	1.9	1.6	1.3
SQ	500	4	1.8	1.1	1.0	0.9	0.9	0.5
SQ	1000	4	2.1	2.0	1.3	1.1	1.0	0.9
SQ	500	5	1.1	1.1	0.8	0.4	0.5	0.2
SQ	1000	5	1.4	1.2	1.0	0.7	0.7	0.6
SQ	500	6	0.4	0.2	0.1	0.09	0.06	0.06
SQ	1000	6	0.6	0.3	0.2	0.8	0.06	0.3
SQ	500	7	0.1	0.11	0.06	0.03	0.04	0.02
SQ	1000	7	0.1	0.15	0.06	0.04	0.07	0.02
SQ	500	8	0.07	0.03	ND	ND	ND	ND
SQ	1000	8	0.09	0.04	ND	ND	ND	ND
SQ	500	9	0.04	ND	ND	ND	ND	ND
SQ	1000	9	0.04	ND	ND	ND	ND	ND
SQ	500	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SQ	1000	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SQ	500	11	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SQ	1000	11	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND：未檢出

雞血清中CTC及SQ含量與各組織間關係：

從表四中CTC及SQ在各組織間之含量，以未停藥之CTC 220 ppm組及SQ 500 ppm

組數據來換算其間關係如表五：

表中數據的應用是，血清中CTC之含量×0.12等於肉中CTC之含量，以下類推。

表五 鷄血清中CTC及SQ含量與各組織含量之關係常數

組 織	血清 CTC	血清 SQ
肉	0.12	0.32
肝	0.62	0.99
砂囊	0.23	0.43
腎	0.55	0.86
心	0.25	0.45

CTC及SQ於鷄肉中經4℃冷藏及-20℃冷凍保存含量之消長：

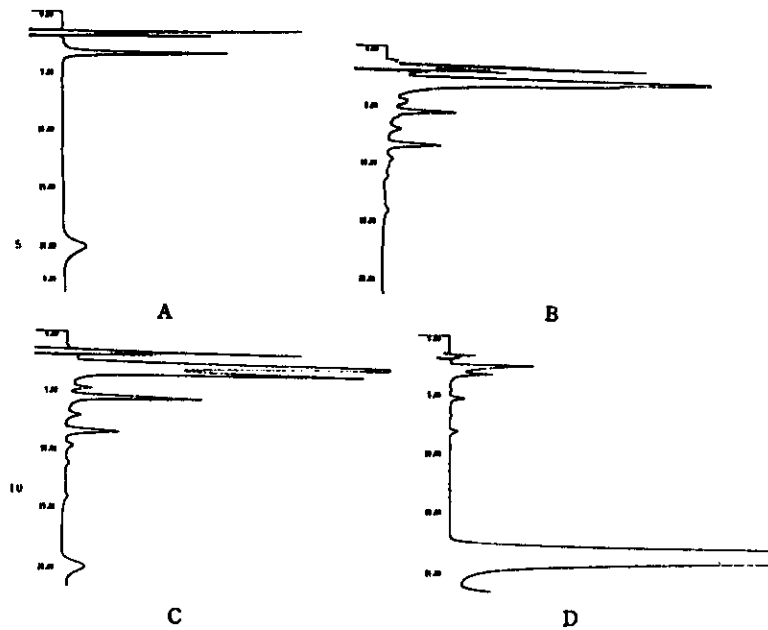
取未停藥試驗之CTC 220 ppm 組及SQ 500 ppm組所宰殺之肉，經保存60天，每隔10天取出檢測藥物含量，其結果如表六：

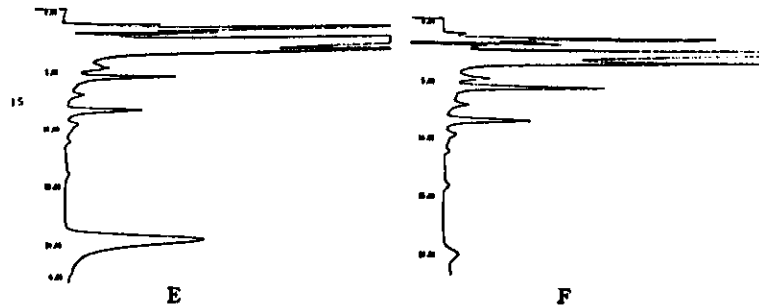
由表六中得知CTC及SQ於鷄肉中，經冷凍保存僅消失2%，而經冷藏保存CTC降低35%，SQ降低26.4%，冷藏保存60天後大部份鷄肉已見腐敗現象。

表六 CTC及SQ於鷄肉中經4℃及-20℃保存含量之消長

單位：ppm

藥物名稱	保存溫度 (°C)	保 存 時 間 (天)						
		0	10	20	30	40	50	60
CTC	-20	1.05	1.07	1.04	1.05	1.03	1.03	1.03
SQ		2.69	2.58	2.63	2.60	2.54	2.64	2.63
CTC	4	1.05	1.04	1.00	0.90	0.80	0.75	0.68
SQ		2.69	2.54	2.38	2.16	2.05	2.00	1.98





圖七 鷄肉中磺胺奎林以HPLC操作之圖形

- A: 磺胺奎林 2.5 ppm 標準液圖 D: 飼料添加 500 ppm 組未停藥
 B: 空白鷄肉圖形 E: 飼料添加 500 ppm 組停藥 4 天
 C: 空白鷄肉添加磺胺奎林 100 ppm F: 飼料添加 500 ppm 組停藥 7 天

討 論

四環素類是廣效性抗生素，對於革蘭陰性及陽性細菌均有抑制或殺滅作用，檢驗上使用之菌種依⁽¹⁰⁾方法有 *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC6538-P 及 *Bacillus subtilis* ATCC6633，依^(1,2)方法用 *Bacillus Cereus* Var *mycoides* (ATCC11178) 而依⁽⁶⁾是用 *Bacillus Subtilis* BGA。對於殘留檢驗，為能達到鑑別之目的，一般均採用 11778 菌，因該菌是四環素之敏感菌，對其他抗生素不產生抑制作用，然而 11778 菌因菌落很大，邊緣又不齊，在判斷上誤差較大，而若採用 9341 或 6538-P 菌也很好，但此二種菌是非芽胞菌，操作較不方便。而本計畫研究採用 6633 菌，因藥物試藥係自添加 CTC 勿需鑑別且該菌本所有製售，供民間作牛乳殘留抗生素之檢驗，含菌量一定，操作方便。

本試驗計畫提出時，對於經費之編列疏忽，因此在試驗過程中，無法使用較多之動物，故於停藥後無法每天宰殺豬或宰殺動物均以一頭或一隻而已。如數據中表一、三、四及表六僅供參考而已。

磺胺劑之檢驗，過去均用滴定法或 UV 法為之，但此二種方法無法適用於殘留之檢驗，目前殘留之檢查^(6,7)以 HPLC 法檢驗很理想

，敏感性可達 10 ppb，但須找到適當移動相，才能使分離效果良好及滯留時間短，依⁽⁶⁾使用 methanol : 0.03 M Phosphate pH : 5.0 (7 : 13) + 0.05M TBA 其 SQ 之 RT 為 12 分左右，效果很好，若以⁽⁷⁾使用 acetonitrile : acetic acid : water (14 : 0.5 : 0.6)，其 SQ 之 RT 為 70 分鐘，效果就太差。用⁽⁴⁾GC 分析及用⁽⁸⁾HPTLC densitometry 來分析 SMZ，效果很好，只可惜本系無此設備。故本計畫乃採用 HPLC 方法，利用台灣區肉品發展基金會使用方法加以改良使用，效果也很好。

目前豬尿、血清及肉中 SMZ 殘留之檢驗，較確實可靠方法為⁽⁹⁾之免疫酵素檢驗法，該法敏感性高（約 0.5 ppb）準確性也不錯，只可惜只能檢驗 SMZ 一種，同時檢驗費用很貴（每頭檢驗新台幣約 80 元以上），此法與本試驗之結果也相近，而本法敏感度只達 10 ppb 而已，但可檢驗目前國內准許使用之大部份磺胺劑。

對於預期了解一群豬或鷄是否體內有無藥物殘留，引用本計畫所完成方法，取豬尿或採鷄血清，以 TLC 法檢驗 SMZ 或 SQ，於二小時內即可完成，若加上以微生物檢驗 CTC 或其他抗生素，總共發費時間約 5 小時，敏感度為 0.5 ppm，因此今後可以對養豬或養鷄場獸醫人員或縣市政府衛生局屠宰人員，可依本法

訓練他們自家檢定，豬、雞是否可以出售之依據。

藥物之停藥適期，經本次研究結果與飼料添加物使用準則規定一樣，即雞、豬飼料中添加 CTC 勿需停藥，若豬飼料配合添加 SMZ 須停藥 15 天以上，雞飼料添加 SQ 須停藥 10 天。

參 考 文 獻

1. 行政院農業委員會。1985。飼料添加物使用準則，行政院農業委員會編印，台北，台灣。
2. 肉及肉製品中殘留四環素類抗生素檢驗法，中國國家標準 CNS 草案 77038 號。
3. 傅祖慧。1982。日本、美國及我國水產品殘留抗生物質檢查法，台灣區肉品發展基金會 7-11，71-84 頁。
4. 劉朝鑫、李功固及呂錦洲。1983。畜水產品殘留化學物質檢查法，台灣區肉品發展基金會印 183 頁。
5. 鮮肉抗生素殘留檢驗法，中國國家標準 CNS 5916 頁。
6. 寺田久屋、麻野間正晴、坪內春夫、石東利克及坂部英雄。1983。食品中に殘留抗菌物質の分析法の検討（第一類）高速液體クロマトグラフィーにするサルファ劑の定量，衛生化學 Vol 29 : 226-231。
7. 永田知子、佐伯政信，1988，高速液體クロマトグラフィーにする鶏組織中に殘留する17種合成抗菌劑の同時分析法，食品衛生學雜誌第29卷第1號13-21頁。
8. VICTOR W. RANDECKER, JAMES A. REAGAN, RONALD E. DAVID L. SODERBERG and JON E. MCNEAL. 1987. Serum and urine as Predictors of Sulfamethazine Levels in Swine Muscle, Liver and kidney. Journal of Food protection Vol. 50. No.2. page 115-122.
9. H. OKA and K. UNO 1983. IMPROVEMENT OF THE CHEMICAL ANALYSIS OF ANTIBIOTICS 1. SIMPLE METHOD FOR THE ANALYSIS OF TETRACYCLINES ON SILICA GEL HIGH-PERFORMANCE THIN-LAYER PLATES. Journal of Chromatography. 260 (1983)457-462.
10. Microbiology Laboratory Guidebook January 1974 6-8.
11. Minimum requirement for antibiotic for animal use 1970 Japan.

The residual study of chlortetracycline and Sulfa drugs in animal products

S.J. Lee, S.Y. Lin, Y.H. Yang and S.Y. Chiu

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

SUMMARY

Experiments were conducted to investigate the residue of chlortetracycline (CTC) and sulfamethazine (SMZ) and Sulfaquinoxaline (SQ) in animal tissues, when animal feed was supplemented accordingly to the regulation Feed Additives. Pigs were fed with the diet containing both 110 ppm CTC and 110 SME. Broilers were fed with diet supplemented with 220 ppm CTC or 500 ppm SQ. Muscle, liver, kidney gizzard, serum and urine were analyzed for the concentration of drugs.

Analytical procedure: Microbiological cylinder plate assay was used for the determination of CTC. Samples were extracted with PBS then centrifuged and analyzed with *Bacillus subtilis* (ATCC 6633). Samples were solubilized with 0.01 N H_2SO_4 , then homogenized and extracted with chloroform. The extract was dried and dissolved with methanol prior to be injected into HPLC (High performance Liquid chromatography) to determine SME and SQ. The detection limit for CTC is 0.1 ppm and 0.2 ppm for SME and SQ.

Residual Results: 0.7 ppm CTC was detected in urine of pigs underwent 1 day of withdrawal. CTC was not detected from other tissues after 1 day and 2 day withdrawal. In broilers, serum, liver and kidney contained 0.8-1.2 ppm CTC after 1 day withdrawal. In the case of SME, after the withdrawal of 10 days, muscle, kidney and liver of pigs still contained 0.1, 0.3 and 0.5 ppm SME respectively. However, no SME was detected from muscle 7 days, and tissues of pigs after 15 days. In broiler, 0.02-0.1 ppm SQ was detected from muscle after withdrawal. These results indicated that there were no residual problem of CTC, SME and SQ when fed of pigs or broilers according to the regulation of Feed Additives.

Storage test: The muscles were either chilled or frozen for 60 days before used for the determination of CTC, SME and SQ. It was found that CTC, SME and SQ decreased 39.6%, 31.1% and 35% respectively after chilling storage. While freezing storage reduced the amount of 3.3%, 6.7% and 2% CTC, SME and SQ for respectively.