

金霉素和代谢物差向金霉素在肉鸡肌肉和肝脏中的残留分布

高强^{1,2}, 庞茂达³, 裴燕^{1,2}, 王冉³, 王波^{1,2}, 张杨杨^{1,2}, 谢恺舟^{1,2*},
张跟喜^{1,2}, 戴国俊^{1,2}, 王金玉^{1,2}

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009; 2. 江苏省动物遗传繁育与分子设计重点实验室, 江苏扬州 225009;

3. 江苏省农业科学院江苏省畜禽产品安全性研究重点实验室, 南京 210014)

[收稿日期] 2015-11-06 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 01-0024-07 [中图分类号] S859.84

[摘要] 为了研究金霉素(CTC)、差向金霉素(ECTC)在肉鸡肌肉、肝脏中的残留分布情况, 样品经提取液提取后过 Oasis HLB SPE 小柱净化, 采用电喷雾正离子模式(ESI^+)和多反应监测模式(MRM), 用高效液相色谱-串联质谱仪检测; 试验组鸡按体重以 $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 剂量内服 CTC, 连续 5 d, 每天给药 1 次。结果表明: 该方法测定肉鸡肌肉和肝脏中 CTC 检测限和定量限分别为 5.0 、 $10.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。ECTC 检测限和定量限分别为 20.0 、 $30.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。CTC 和 ECTC 在肉鸡肌肉中平均回收率分别在 $73.00\% \sim 95.20\%$ 和 $81.80\% \sim 101.60\%$, 相对标准偏差(RSD)分别在 $8.85\% \sim 9.13\%$ 和 $2.05\% \sim 9.29\%$; 在肉鸡肝脏中平均回收率分别在 $67.06\% \sim 90.80\%$ 和 $78.64\% \sim 106.98\%$, RSD 分别在 $2.90\% \sim 8.88\%$ 和 $4.72\% \sim 9.48\%$; 肉鸡肌肉和肝脏中 CTC、代谢物 ECTC 的残留量分别在给药后第 1、5 d 时达到最高。肉鸡肝脏中 ECTC 的残留量约占总残留量的 $1/2$ 。停药后 CTC 及其代谢物 ECTC 代谢缓慢, 在停药第 6 d 时, 仍能检测到 CTC 及其代谢物 ECTC, 但其残留量均低于最高残留限量(MRLs)。从保障食品安全方面考虑, 建议我国将 CTC 和 ECTC 均作为金霉素的残留标示物进行监测。

[关键词] 金霉素; 差向金霉素; 残留分布; 肉鸡肌肉; 肉鸡肝脏

Residue Distribution of Chlortetracycline and Its Metabolite 4-Epi-chlortetracycline in Broiler Chicken Muscle and Liver

GAO Qiang^{1,2}, PANG Mao-da³, PEI Yan^{1,2}, WANG Ran³, WANG Bo^{1,2}, ZHANG Yang-yang^{1,2},
XIE Kai-zhou^{1,2*}, ZHANG Gen-xi^{1,2}, DAI Guo-jun^{1,2}, WANG Jin-yu^{1,2}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China;

2. Key Laboratory for Animal Genetic, Breeding, Reproduction and Molecular Design of Jiangsu province, Yangzhou, Jiangsu 225009, China;

3. Jiangsu Key Laboratory of Animal-Derived Food Safety, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China)

Abstract: A study on chlortetracycline (CTC) and 4-epi-chlortetracycline (ECTC) residue distribution was

基金项目: 国家肉鸡产业技术体系专项(CARS-42-G23); 扬州大学“新世纪人才工程”项目

作者简介: 高强, 硕士, 从事畜产品品质与安全方面研究。

通讯作者: 谢恺舟。E-mail: yzskz168@163.com

conducted in broiler chicken muscle and liver. The samples were extracted using (extracting solution) and purified by Oasis HLB SPE column. Electrospray positive ion mode (ESI^+) and multiple reaction monitoring (MRM) were adopted. Finally, Chlortetracycline (CTC) and 4-Epi-chlortetracycline (ECTC) in broiler chicken muscle and liver were determined by high performance liquid chromatography coupled with tandem quadruple mass spectrometry (HPLC-MS/MS). In this method, the limits of detection (LODs) and the limits of quantitation (LOQs) of chlortetracycline were $5.0 \mu\text{g/kg}$ and $10.0 \mu\text{g/kg}$, respectively; the LODs and LOQs of 4-Epi-chlortetracycline were $20.0 \mu\text{g/kg}$ and $30.0 \mu\text{g/kg}$, respectively. The average recoveries in broiler chicken muscle were $73.00\% \sim 95.20\%$ and $81.80\% \sim 101.60\%$, with the relative standard deviation (RSD) of $8.85\% \sim 9.13\%$ and $2.05\% \sim 9.29\%$, respectively; the average recoveries in broiler chicken liver were $67.06\% \sim 90.80\%$ and $78.64\% \sim 106.98\%$, with the RSD of $2.90\% \sim 8.88\%$ and $4.72\% \sim 9.48\%$, respectively. After the broiler chickens were orally administered successively chlortetracycline of 50 mg/kg of body weight one time every day for 5 d, the residues of chlortetracycline and 4-Epi-chlortetracycline in broiler chicken muscle and liver were the highest on day 1 and day 5, respectively. The residues of 4-epi-chlortetracycline in broiler chicken liver accounted for half of the total residues. The metabolism of CTC and its metabolite ECTC was slow and could still be detected 6 d after withdrawal of drugs under the limits of the maximum residues (MRLs). To guarantee food safety, this research suggested identification and monitoring CTC and ECTC as residue marker of CTC in China.

Key words: chlortetracycline; 4-epi-chlortetracycline; residue distribution; broiler chicken muscle; broiler chicken liver

金霉素 (Chlortetracycline, CTC) 又称氯四环素, 因其药效高、价格低, 被广泛的应用于畜禽养殖业中, 但金霉素的不规范应用, 使得动源性食品中金霉素的残留对人类的健康及生态环境造成了一定的危害, 尤其是一些常见的病原菌对 CTC 已产生耐药性, 从而导致药效的降低。因此, 各国对 CTC 在动源性食品中的最高残留限量 (MRLs) 做了明确的规定, 我国和欧盟均规定了 CTC 在鸡肌肉、鸡肝脏中的最高残留限量分别为 0.1 、 0.3 mg/kg ^[1-2]。差向金霉素 (4-Epi-chlortetracycline, ECTC) 是 CTC 在弱酸条件下转化而成的差向异构体, 是 CTC 在动物体内的主要代谢产物之一, 也具有一定的副作用, 目前已经被欧盟确定为残留标示物, 且规定在鸡肌肉、鸡肝脏中的最高残留限量分别为 0.1 、 0.3 mg/kg ^[2]。

目前, 国内外研究 CTC 在动物组织中的残留检测方法虽然在羊^[3]、猪^[4-5]、牛奶和牛肉^[6]中有较多报道, 但研究 CTC 和代谢物 ECTC 在肉鸡肌肉和

肝脏中的残留分布情况尚未见报道。本试验通过胶囊给药, 试验组鸡按 $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 剂量内服 CTC, 连续 5 d 给药, 测定从给药期到休药期 CTC、代谢物 ECTC 在肉鸡肌肉和肝脏中的残留分布情况, 为监控 CTC 在肉鸡体内的代谢以及 CTC 在临床上的合理用药提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及分组 选取 1 日龄健康 AA 肉鸡 100 只, 厚垫料平养至 16 日龄后预饲 1 周, 饲喂全价饲料 (不含任何抗菌药物)。从中选取体重为 0.55 (0.10 kg 的 AA 肉鸡 70 只, 将其随机分成两组, 各 35 只肉鸡, 一组为空白对照组, 另一组为试验组。每组设 7 个重复, 每个重复 5 只肉鸡。

1.2 标准品、药品及主要试剂 CTC、ECTC 标准品: 纯度分别为 99% 、 97% , 美国 Sigma-Aldrich 公司; 金霉素原粉: 纯度 92% , 湖北武汉昌恒生物医药制品研究所; 乙腈、甲醇为色谱纯, 美国 ROE Scientific Inc 公司; 磷酸氢二钠、柠檬酸、乙二胺四

乙酸二钠、乙酸乙酯、三氯乙酸、甲酸均为分析纯,南京化学试剂有限公司;超纯水(本实验室自制)。

1.3 主要仪器 高效液相色谱仪(Agilent 1200,美国 Agilent 公司);串联质谱仪(6410 Triple Quad,美国 Agilent 公司);干浴氮吹仪(N-EVAP 112 型,美国 Organomation 公司);超声波振荡仪(KQ-100DE 型,昆山市超声仪器有限公司);台式高速冷冻离心机(5810R 型,德国 Eppendorf 公司);超纯水制备仪(Smart2Pure,美国 Thermo Scientific 公司)。

1.4 给药途径、剂量及样品采集 试验组鸡给药剂量按体重为 50 mg/(kg·d)通过胶囊给药,每天上午 8:00~9:00 给药 1 次,连续 5 d,给药前第 1 d、给药后的第 1、3、5 d 和停药后第 2、4、6 d,每天分别在对照组和试验组中随机选取 5 只肉鸡进行屠宰,取样时间均为上午 8:00~9:00,采取肉鸡肌肉和肝脏,将样品置于-35℃冰箱中保存待测。

1.5 样品处理与检测方法

1.5.1 样品提取及净化 将肉鸡肌肉绞碎,准确称取 3.0 g,置于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入 12 mL 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 提取液,充分漩涡混匀 1 min,超声提取 5 min 后,3000 r/min 离心 10 min,将上清液移至另一支聚丙烯离心管中,剩余残渣重复提取 2 次,合并上清液,5000 r/min 离心 10 min,取上清液进行肌肉样品净化。

准确称取 2.0 g 捣碎后混合均匀的肉鸡肝脏置于 50 mL 的离心管中,加入 8 mL 0.1 mol/L

EDTA-McIlvaine 提取液后漩涡振荡 10 min,以 12000 r/min,5℃离心 10 min,移出上清液,再以相同方式提取 2 次,收集上清液并加入 2 mL 5%三氯乙酸,以 12000 r/min,5℃离心 10 min,取上清液进行肝脏样品净化。

HLB 固相萃取小柱首先用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化,然后分别取上述肌肉、肝脏待净化的上清液注入该萃取小柱中,分别依次用超纯水 5 mL、5%甲醇水溶液 5 mL 淋洗,弃去淋洗液,再用甲醇和乙酸乙酯混合溶液(v/v,1:9)10 mL 以 0.5 mL/min 的流速进行洗脱,洗脱液在 40℃水浴中用氮吹仪吹干,残渣用 1 mL 甲醇溶解,充分混匀,残渣溶液过 0.22 μm 针头式过滤器后,滤液供 HPLC-MS/MS 测定。

1.5.2 液相色谱条件 色谱柱:Eclipse Plus C18 (5 μm,2.1 mm×150 mm,id)柱;柱温:30℃;流速:0.35 mL/min;流动相:A:0.1%甲酸水;B:乙腈。梯度洗脱程序为 0~8.2 min,86.5% A;8.3~11 min,86.5% A 到 2% A;11.1~16 min,2% A;16.1~20 min,2% A 到 86.5% A;20.1~25 min,86.5% A;进样体积:5 μL。

1.5.3 质谱条件 采用电喷雾正离子模式(ESI⁺)和多离子反应监测模式监测;雾化气:氮气;干燥气温度:350℃;干燥气流速:10 L/min;雾化器压力:45 psi;毛细管电压:4000 V。金霉素和差向金霉素的保留时间和优化质谱条件见表 1。

表 1 金霉素和差向金霉素的保留时间和优化质谱条件

药物	保留时间/min	母离子/(m/z)	毛细管出口电压/eV	子离子/(m/z)	碰撞电压/eV
金霉素	12.3	479	120	154	25
				444 *	15
				462	11
				98	32
差向金霉素	7.5	479	120	444 *	17
				462	11

* 为定量离子

1.5.4 标准曲线的建立 将质量浓度均为 100 μg/mL 的 CTC、ECTC 标准储备液分别用甲醇稀释为 0.005、0.0125、0.025、0.05、0.10、0.20 μg/mL 的 CTC 标准工作液和 0.025、0.05、0.10、0.20、0.40、

0.80 μg/mL 的 ECTC 标准工作液。分别将 CTC、ECTC 标准工作液由低浓度到高浓度分别进行 HPLC-MS/MS 分析。每一个浓度点重复测定 4 次,取其平均值,分别绘制 CTC、ECTC 标准曲线。

1.5.5 样品回收率 将空白肉鸡肌肉、肝脏样品绞碎、捣碎混合均匀,准确称取 3.0 g 鸡肉、2.0 g 肝脏样品,分别置于 50 mL 聚丙烯离心管中,分别加入适宜浓度的标准工作液,使空白肉鸡肌肉样品中 CTC 和 ECTC 的浓度分别为 0.05、0.10、0.15 mg/kg,空白肝脏样品中 CTC 和 ECTC 的浓度分别为 0.15、0.30、0.60 mg/kg。每个添加量分别重复测定 5 次,样品经方法 1.5.1 提取和净化后,分别供 HPLC-MS/MS 检测,外标法定量,分别计算 CTC、ECTC 在空白肉鸡肌肉和肝脏中的添加回收率。

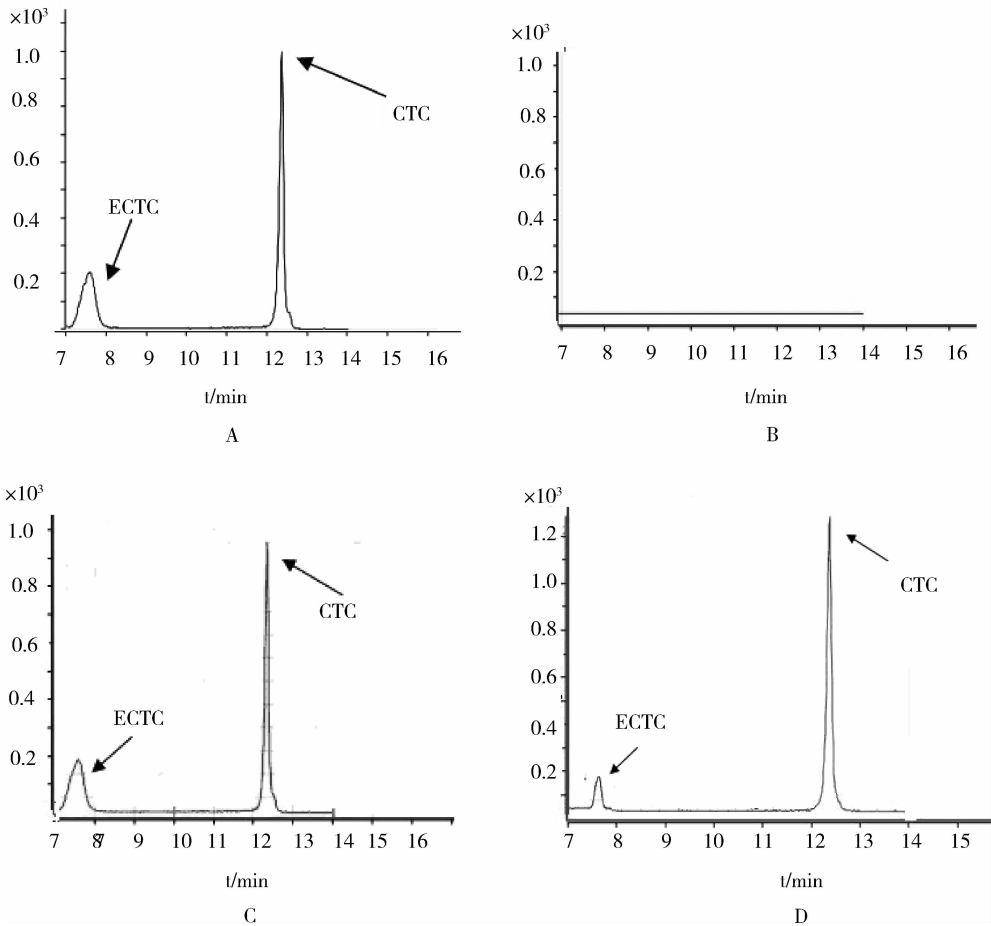
1.5.6 检测限(LOD)与定量限(LOQ)的测定 将一定浓度的 CTC、ECTC 标准溶液分别添加至空白肉鸡肌肉和肝脏的提取液中,用 HPLC-MS/MS 进

行检测,并逐渐降低 CTC、ECTC 的浓度,以样品检测时的信噪比(S/N)为 3 和 10 分别作为方法的检测限(LOD)和定量限(LOQ)。

1.5.7 肉鸡肌肉及肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 的测定 按外标法,将肉鸡肌肉和肝脏中所测得的 CTC 和 ECTC 峰面积分别带入各自标准曲线,可得到肉鸡肌肉和肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 的残留量。

2 结果

2.1 色谱、质谱分离情况 在优化的色谱、质谱条件下进行分析,测得肉鸡肌肉、肝脏中 ECTC、CTC 保留时间分别为 7.5 min 左右和 12.3 min 左右,峰形对称,分离效果好。由肉鸡肌肉中 CTC、ECTC 总离子流色谱图(TIC)(图 1)可见,空白肉鸡肌肉提取液在上述时间无干扰峰出现,且均为基线分离峰。



A. ECTC 和 CTC 混合标准品(100ng/mL); B. 空白肉鸡肌肉提取液
C. 添加 CTC 和 ECTC 标准品的空白肉鸡肌肉(0.1mg/kg); D. 给予 CTC 后的肉鸡肌肉

图 1 肉鸡肌肉中 CTC、ECTC 的 TIC 图

2.2 标准曲线 以 CTC、ECTC 峰面积(y)对进样前 CTC、ECTC 标准工作液质量浓度(x)作图,分别

得到 CTC、ECTC 标准曲线。CTC 在 0.005 ~ 0.20 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,线性回归方程为 $y =$

$53382x - 290.43$, 相关系数 $r = 0.9935$; ECTC 在 $0.025 \sim 0.80 \mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内, 线性回归方程为 $y = 50796x - 2025$, 相关系数 $r = 0.9907$ 。

2.3 样品回收率和精密度 CTC 和 ECTC 在肉鸡肌肉和肝脏中的回收率和精密度见表 2 和表 3。由表 2 可知, 在肉鸡肌肉中添加水平分别为 0.05、0.1、0.15 mg/kg 时, 肉鸡肌肉中 CTC、ECTC 回收率均分别高于 73.00%、81.80%, 相对标准偏差均分别低于 9.13%、9.29%。通过对样品精密度测定表

明, CTC 和 ECTC 在肉鸡肌肉中的日内 RSD 分别低于 8.71% 和 7.66%; 日间 RSD 分别低于 12.92% 和 10.19%。由表 3 可知, 在肉鸡肝脏中添加水平分别为 0.15、0.30、0.60 mg/kg 时, 肉鸡肝脏中 CTC、ECTC 的回收率均分别高于 67.06%、78.64%, 相对标准偏差均分别低于 8.88%、9.48%。通过对样品精密度测定表明, CTC 和 ECTC 在肉鸡肝脏中的日内 RSD 分别低于 7.38% 和 8.84%; 日间 RSD 分别低于 7.79% 和 10.91%。

表 2 CTC 和 ECTC 在肉鸡肌肉中的回收率和精密度 (n=5)

药物	添加值/(mg·kg ⁻¹)	回收率/%	相对标准偏差/%	日内相对标准偏差/%	日间相对标准偏差/%
金霉素	0.05	83.60 ± 7.40	8.85	8.41	10.66
	0.10	95.20 ± 8.60	9.03	8.55	12.92
	0.15	73.00 ± 6.67	9.13	8.71	8.38
差向金霉素	0.05	101.60 ± 7.80	7.68	6.90	10.19
	0.10	81.80 ± 7.60	9.29	7.66	8.76
	0.15	84.53 ± 1.73	2.05	4.21	5.77

表 3 CTC 和 ECTC 在肉鸡肝脏中的回收率和精密度 (n=5)

药物	添加值/(mg·kg ⁻¹)	回收率/%	相对标准偏差/%	日内相对标准偏差/%	日间相对标准偏差/%
金霉素	0.15	67.06 ± 5.96	8.88	7.38	7.63
	0.30	83.08 ± 5.52	6.64	6.07	6.94
	0.60	90.80 ± 2.63	2.90	4.42	7.79
差向金霉素	0.15	78.64 ± 7.64	9.48	8.84	10.91
	0.30	96.35 ± 5.97	6.20	6.07	8.06
	0.60	106.98 ± 5.05	4.72	3.56	5.35

2.4 灵敏度 本试验建立的检测方法实际应用发现, 测得 CTC 和 ECTC 的检测限分别为 5.0 μg/kg 和 20.0 μg/kg、定量限分别为 10.0 μg/kg 和 30.0 μg/kg。表明该方法具有较高的灵敏度, 完全能满足肉鸡肌肉、肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 残留检测

的需要。

2.5 肉鸡肌肉和肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 的残留量测定 肉鸡肌肉、肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 的残留量分别见表 4 和表 5。

表 4 肉鸡肌肉中 CTC 素和代谢物 ECTC 残留量 (n=5)

时间/d		残留量/(μg·kg ⁻¹)		
		金霉素	差向金霉素	差向金霉素 + 金霉素
用药时间	0	ND	ND	ND
	1	101.42 ± 15.32	53.52 ± 11.53	154.94
	3	89.51 ± 11.64	52.13 ± 4.65	141.64
	5	76.23 ± 9.13	50.52 ± 4.32	126.75
	2	72.28 ± 22.23	50.31 ± 9.02	122.59
休药时间	4	65.21 ± 12.21	54.82 ± 10.93	120.03
	6	49.63 ± 8.29	44.63 ± 7.04	94.26

ND. 低于方法检测限

表5 肉鸡肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 残留量 (n = 5)

时间/d	残留量/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
	金霉素	差向金霉素	差向金霉素 + 金霉素
0	ND	ND	ND
用药时间	1	74.51 $\pm$ 5.46	78.01 $\pm$ 12.36
	3	73.53 $\pm$ 7.41	69.02 $\pm$ 13.72
	5	101.15 $\pm$ 13.62	77.74 $\pm$ 14.15
休药时间	2	69.41 $\pm$ 8.44	66.26 $\pm$ 16.71
	4	51.13 $\pm$ 11.05	62.84 $\pm$ 11.04
	6	55.21 $\pm$ 6.32	56.71 $\pm$ 13.12

ND. 低于方法检测限

由表4可知,肉鸡肌肉中 CTC 和代谢物 ECTC 的残留量在给药后第1 d时,残留量达到154.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在肉鸡肌肉中 ECTC 的残留量虽然低于原形药物 CTC 的含量,但在残留药物中也占了很大的比例。由表5可见,肉鸡肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 的残留量在给药后第5 d时,残留量达到178.89 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。综合表4、表5可以看出,停药后肉鸡肌肉和肝脏中 CTC 和 ECTC 代谢均缓慢,在停药后第6 d时,CTC 和 ECTC 在肉鸡肌肉和肝脏中仍然能检出,但均低于我国和欧盟所规定的最高残留限量标准。

3 讨论

3.1 色谱和质谱条件的优化

本试验比较了流动相:0.1% 甲酸水 - 乙腈和 0.1% 甲酸水 - 甲醇,以及固定相 C8、C18 分析柱来分析肉鸡组织中 CTC 和代谢物 ECTC 的分离效果。结果表明,采用乙腈 - 水比甲醇 - 水作为流动相柱压力明显降低,有利于延长泵和色谱柱的使用寿命,并且采用 Eclipse Plus C18 (5 μm , 2.1 mm $\times$ 150 mm. id),更有利于 CTC、ECTC 和杂质峰的分离和分析灵敏性的提高。在国家标准《动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱 - 质谱/质谱法与高效液相色谱法》^[7]中,在流动相中添加了含有对离子产生有抑制作用的离子修饰剂三氟乙酸,降低了分析方法的灵敏度和可靠性,而本试验采用在流动相中添加 0.1% 的甲酸,有利于增加离子化效率、提高灵敏度且能避免仪器性能的下降。

在串联质谱分析过程中,CTC 和代谢物 ECTC 具有相同的分子式和碎片离子,因此它们具有相同的母离子和子离子。故试验首先采用流动注射的方式进样,CTC、ECTC 标准溶液进样浓度均为

1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,采用正离子模式进行全扫描,确定 CTC、ECTC 的分子离子;然后在分子离子为母离子的情况下,分别对 CTC、ECTC 子离子进行全扫描,选取干扰小、丰度强度高的三对离子作为 CTC、ECTC 的定性离子,最后在多反应监测 (MRM) 正离子模式下,对毛细管出口电压和碰撞电压进行优化,获得了理想的效果。

3.2 金霉素残留标示物探讨 CTC 在弱酸性的条件下,会转化为无抗菌活性的 ECTC。当前国内对动物源性食品中 CTC 残留的研究与监测仅将 CTC 作为残留标示物,并没有将 ECTC 一同作为金霉素在动物体内的残留标示物,而在国外已将 CTC 和 ECTC 均作为金霉素在动物体内的残留标示物。葛云芝等^[8]研究 CTC 在肌肉中的残留,只把 CTC 作为残留标示物,并没有把 ECTC 作为残留标示物。Arikan 等^[9]研究了 CTC 在牛粪中的降解和代谢,研究发现 ECTC 和异金霉素 (ICTC) 是牛粪中 CTC 的主要代谢产物;Gajda 等^[10]研究了动物组织中四环素类药物及其代谢产物的残留,将 ECTC 作为 CTC 的主要代谢产物。本试验以 HPLC - MS/MS 检测肉鸡肌肉和肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 的含量,研究了定量摄入 CTC 后,肉鸡肌肉和肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 的残留分布情况。研究结果表明,除在肉鸡肌肉和肝脏中检出原形药物 CTC 外,还能检测出代谢物 ECTC,且含量较高,毒副作用增加。由于代谢物 ECTC 已经被欧盟确定为残留标示物,故参照欧盟规定,建议我国应将 ECTC 作为 CTC 在动物体内的残留标示物进行监测。

3.3 药物在肉鸡肌肉和肝脏中的残留分布情况 Halling 等^[11]研究表明:在 pH < 6.5 环境水中,存在的降解产物主要有 ECTC、EACTC、Keto - CTC 等。在本试验条件下,肉鸡体内的环境主要为弱酸性,

通过胶囊内服给药 CTC 后,除在肉鸡肌肉和肝脏中检出原形药物 CTC 外,其主要代谢产物 ECTC 也被检出,这与 Halling 等^[11] 研究结果基本一致。有关 CTC 在肉鸡体内的其它代谢产物还有待做进一步的研究。

匡光伟等^[12] 研究了 CTC 在鸡体内不同组织器官中的残留以及 CTC 在鸡粪中的降解,以 40 日龄湘黄鸡为试验素材,在饲料中加入 CTC 散剂,添加剂量为 20~50 mg/kg,连续饲喂 12 d,分别在停药后 2、4、7、9、12、16、23、28 d 对鸡进行屠宰,采集鸡肌肉、肝脏和肾脏样品,用高效液相色谱法进行检测。研究结果表明,CTC 在肾脏中残留量最高、肝脏次之、肌肉最低。本试验以 AA 肉鸡为研究对象,通过胶囊内服给药 CTC,每天给药 1 次连续 5 d,给药剂量为 50 mg/(kg·d),给药后第 1、3、5 d 和停药后第 2、4、6 d 时,在肉鸡肌肉和肝脏中均有 CTC 和代谢物 ECTC 被检出;停药后肉鸡肝脏中 CTC、ECTC 残留量均高于肉鸡肌肉中的残留量,结果与报道^[12] 一致,主要是由肝肠循环所引起的,一部分 CTC 经胆汁排泄,在肠内部分被吸收而导致肉鸡肝脏中的 CTC 和代谢物 ECTC 残留量比肉鸡肌肉中的残留量要高。

4 结 论

试验组肉鸡按 50 mg/(kg·d) 剂量内服 CTC,连续 5 d 给药,在停药第 6 d 时,肉鸡肌肉和肝脏中 CTC 和代谢物 ECTC 仍能被检测到,但残留量均低于 MRLs。从保障食品安全方面考虑,建议我国将 CTC 和 ECTC 均作为金霉素的残留标示物进行监控。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业部. 动物性食品中兽药最高残留限量[S].
- [2] Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in food stuffs of animal origin [Z].

- [3] Washburn K, Fajt V R, Plummer P, *et al.* Pharmacokinetics of oral chlortetracycline in nonpregnant adult ewes [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2014, 37 (6): 607 ~ 610.
- [4] Cherlet Marc, De Backer Patrick, Croubels Siska. Control of the keto-enol tautomerism of chlortetracycline for its straightforward quantitation in pig tissues by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1133: 135 ~ 141.
- [5] Posyniak Andrzej, Mitrowska Kamila, Zmudzki Jan, *et al.* Analytical procedure for the determination of chlortetracycline and 4-epi-chlortetracycline in pig kidneys [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1088: 169 ~ 174.
- [6] Cinquina A L, Longo F, Anastasi G, *et al.* Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle [J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 987: 227 ~ 233.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法[S].
- [8] 葛云芝, 于小波, 周光宏, 等. 高效液相色谱法同时测定鸡肉中 3 种四环素类抗生素残留 [J]. *食品科学*, 2013, 10: 180 ~ 183.
- [9] Arian O A. Degradation and metabolization of chlortetracycline during the anaerobic digestion of manure from medicated calves [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 158 (2-3): 485 ~ 490.
- [10] Gajda A, Posyniak A. Tetracyclines and their epimers in animal tissues by high-performance liquid chromatography [J]. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2009, 53: 263 ~ 267.
- [11] Halling S, Rensen B, Sengel V G, *et al.* Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, 42 (3): 263 ~ 271.
- [12] 匡光伟. CTC 在鸡体不同组织器官中的残留及其在鸡粪中的降解[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.

(编辑: 陈 希)