

文章编号:1005-8737(2001)03-0050-04

3 种药物在甲鱼体内的残留研究

朱秋华, 钱国英

(浙江万里学院 生命科学系, 浙江 宁波 315101)

摘要:将呋喃唑酮、磺胺嘧啶和诺氟沙星各以3种水平分别混入饲料中投喂甲鱼(中华鳖 *Trionyx sinensis*), 停药时间分别为7 d和14 d。停药后24、72、120和240 h分别取血液、肝、肾和肌肉测定药物残留量。结果表明, 呋喃唑酮的吸收量甚微, 4种样品中均未检出残留, 说明该药只适用于肠道疾病的防治; 磺胺嘧啶在4种样品中均可检出, 在停药后24 h, 血液中含量最高, 然后迅速降低, 72 h降至最低, 240 h则不能检出; 诺氟沙星的药物残留变化状况与磺胺嘧啶相似。残留排除速度以肌肉中最慢, 以停药24 h残留量为标准, 停药120 h磺胺嘧啶残留率为76.8% (1.65~2.37 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 诺氟沙星为46% (0.81~0.93 $\mu\text{g}/\text{kg}$); 停药240 h则分别为25% (0.63~1.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$)和24.2% (0.35~0.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。血液、肝、肾和肌肉中的药物残留水平随给药量的增加而增加, 给药时间的长短对血液中的药物浓度影响不大, 但在肝、肾和肌肉中的药物残留则随给药时间的加长而显著增加 ($P < 0.05$)。建议饲喂磺胺嘧啶或诺氟沙星的甲鱼应在停药10 d后上市。

关键词:中华鳖; 呋喃唑酮; 磺胺嘧啶; 诺氟沙星; 药物残留

中图分类号: S948

文献标识码: A

在甲鱼(*Trionyx sinensis*, 中华鳖)养殖中, 药物的使用量与使用频率日趋增加, 影响了养殖甲鱼的正常生长, 并导致了商品甲鱼体内药物残留。目前有关药物在甲鱼体内的吸收、降解、积蓄、排泄及其对组织的毒害性、残留规律等尚未见报道。本文通过对最常用的呋喃唑酮、磺胺嘧啶和诺氟沙星3种药物在甲鱼血液、肝、肾、肌肉组织残留和排除试验, 以了解其在甲鱼体内的分布和残留规律, 寻找正确的施药方法与合理的使用剂量, 为防治甲鱼疾病、减少其药物残留提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 甲鱼

选自绍兴养殖场, 体重235~319 g, 共570只。分19组, 每组30只, 放养于一水泥池内(25 m²/池), 水温(30±1)℃。试验在温室中进行, 每天换水

1次。各试验基础饲料相同, 均为嘉兴大桥凯越饲料公司提供的成鳖饲料。

1.2 药物残留试验

1.2.1 试验设计 药物为呋喃唑酮、磺胺嘧啶和诺氟沙星。每种药物各以3种水平混入饲料中, 给药时间分为7 d和14 d(表1)。

分别于停药后24、72、120和240 h各取5只甲鱼, 检查血液、肝脏、肾脏和肌肉组织中的残留情况。

1.2.2 取样与预处理 血样: 打开腹甲, 由静脉直接取血50 ml, 室温下放置1 h待凝结出血饼后, 用玻璃棒轻轻剥去血饼。2 500 r/min离心5 min取上清液, -4℃冷藏保存待测。组织: 取肝脏、肾脏、后腿肌肉各5 g, 精确称取各组织2 g, 加10 ml 0.1 mol/L NaOH液, 玻璃匀浆器冰浴研磨, 加入20 ml NaOH液分3次反复冲洗匀浆器, 将液体移入100 ml带塞的三角烧瓶中, 室温下振荡30 min, 8 000 r/min离心5 min取上清液20 ml, 加等量30%三氯醋酸混匀, 再离心取上清液, 过0.45 μm 微孔滤膜, 即得待测样品, -4℃冷藏待测^[1,2]。

收稿日期: 2001-02-23

基金项目: 浙江省重点攻关项目资助(991102253-002)

作者简介: 朱秋华(1964-), 女, 讲师, 从事动物营养方面的研究。

表 1 试验分组及处理

Table 1 Grouping and treating of experiments

组别 Group	试验药物 Medicine	药物水平 Level of medicine	饲料中药物质量比 Medicine content in feed	给药天数/ d Days of ad- ministration
I A1	呋 Fu	1	1×10^{-4}	7
I A2	呋 Fu	1	1×10^{-4}	14
I B1	呋 Fu	2	1×10^{-3}	7
I B2	呋 Fu	2	1×10^{-3}	14
I C1	呋 Fu	3	3×10^{-3}	7
I C2	呋 Fu	3	3×10^{-3}	14
II A1	磺 Sul	1	1×10^{-4}	7
II A2	磺 Sul	1	1×10^{-4}	14
II B1	磺 Sul	2	1×10^{-3}	7
II B2	磺 Sul	2	1×10^{-3}	14
II C1	磺 Sul	3	3×10^{-3}	7
II C2	磺 Sul	3	3×10^{-3}	14
III A1	诺 Nor	1	1×10^{-5}	7
III A2	诺 Nor	1	1×10^{-5}	14
III B1	诺 Nor	2	1×10^{-4}	7
III B2	诺 Nor	2	1×10^{-4}	14
III C1	诺 Nor	3	3×10^{-4}	7
III C2	诺 Nor	3	3×10^{-4}	14
对照 Control	无 None	0	0	0

呋 - 呋喃唑酮; 磺 - 磺胺嘧啶; 诺 - 诺氟沙星, 下同。Fu: Fura-
zolidone; Sul: Sulfadiazine; Nor: Norfloxacin; the same below.

1.2.3 呋喃唑酮的测定

(1) 血样前处理 将待测液 10 ml 加 Tris 缓冲液 10 ml (pH 10.5) 和 5 ml 枯草菌溶素 60℃ 培育 1 h, 用玻璃棉过滤, 得滤液。加入等量的氯仿, 将提取液收集于锥形管中, 通入氮气流吹干浓缩, 即得供测样品^[1,2]。

(2) 测定 取供测样品在 (367 ± 2) nm 波长处测定吸光值, 与呋喃唑酮标准曲线比较, 即得呋喃唑酮含量。对照样品同样处理后测定, 作为空白对照。详见《中华人民共和国药典》^[3]。

1.2.4 诺氟沙星的测定

(1) 血样前处理 同呋喃唑酮。

(2) 测定 精确量取供试样品 1 ml, 加入橙黄 IV 指示剂 10 滴, 用 0.1 nmol/L 高氯酸液滴定至溶液呈紫红色, 并将滴定结果用空白试验校正。每 1 ml 高氯酸液相当于 31.39 μg 的诺氟沙星。详见《中华人民共和国药典》^[3]。

1.2.5 磺胺嘧啶的测定 取血样 0.5 ml, 加水 4 ml 稀释, 置沸水中煮沸 4 min 取出, 立即加 20% 三氯醋酸 1 ml 混匀, 趁热离心 10 min 取上清液 3 ml, 加 3 mol/L 盐酸 0.5 ml, 置沸水浴水解 1 h, 冷至

20℃, 加 0.1% 亚硝酸钠水溶液 0.5 ml 混匀, 放置 6 min, 再加 0.5% 氨基磺酸铵水溶液 0.5 ml 混匀, 轻击试管至无 N₂ 气泡逸出, 加 0.1% N-(1-萘基)-乙二胺二盐酸盐水溶液 0.5 ml 混匀, 放置 20~60 min, 于 545 nm 处测定吸收值, 同上设空白对照。与磺胺嘧啶标准曲线比较, 即得磺胺嘧啶总量。组织样品在 530 nm 处测定吸光值。详见 Sadee 的药物水平检测^[4]。

2 结果与分析

检测结果显示, 呋喃唑酮无论在血液、肝脏和肌肉中均未检出。磺胺嘧啶和诺氟沙星除了在停药 240 h 的血样中未检出外, 其余各组织样品和血样都能检测到, 其残留量随停药时间的延长而降低 (表 2)。停药 24 h 后, 血液中药浓度高于组织中, 但随后下降速度较快, 240 h 已检测不到。组织中药残留以肾脏为最高, 肌肉中为最低, 但肌肉中药含量的下降速度较慢, 肝脏中的下降速度较快。

从残留趋势看 (表 2), 磺胺嘧啶和诺氟沙星的残留水平随停药时间的变化相似, 即停药后肝脏、肾脏、肌肉中的药物残留随给药水平增加而增加。给药时间长短, 对血液中药浓度的影响不大。但在肝脏、肾脏和肌肉中相同给药水平, 以给药时间长的药物残留量高, 用配对 *t*-检验, 给药 14 d 的药物残留量显著地高于给药 7 d 的残留量 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 磺胺嘧啶在甲鱼体内的残留规律与合理的给药方式

磺胺嘧啶进入甲鱼体内后, 在体内的分布较广泛, 本试验检测的 4 个组织中均有分布, 在吸收初期, 血液中含量为最高, 肝、肾次之, 肌肉中最低。而停药后, 血液中含量迅速降低, 其他组织中的残留量则呈缓慢下降趋势。磺胺嘧啶的代谢主要在肝脏中进行, 由于其本身溶解度很低, 代谢率也较低^[2], 代谢后所得的乙酰磺胺溶解度尽管有所提高, 但仍可在肾小管中析出结晶^[3]。本试验检测的是磺胺嘧啶总量, 故肾脏中的磺胺嘧啶总残留高于肝脏中的。结晶尿是磺胺类药物的严重副反应, 它的出现可使泌尿道产生不良反应, 最终影响肾脏的排泄功能。在解剖时还发现随给药水平增高, 给药时间延长, 肾脏的颜色呈病变样的灰白色, 有别于对照组的暗红色。因而, 为了减轻使用药物对肾脏的破坏作用, 同

时避免低剂量磺胺类药物易使细菌在体内获得抗药性,建议每 kg 饲料中混合 1 g 药物,给药时间宜为 1 周。

表 2 各试验组血液和组织中药物残留量
Table 2 Medicine residues in blood and tissues

组别 Group	检测成分 Medicine	血液残留量/(mg·ml ⁻¹) Residues in blood				肝脏残留量/(μg·kg ⁻¹) Residues in liver				肾脏残留量/(μg·kg ⁻¹) Residues in kidney				肌肉残留量/(μg·kg ⁻¹) Residues in muscle			
		24 h	72 h	120 h	240 h	24 h	72 h	120 h	240 h	24 h	72 h	120 h	240 h	24 h	72 h	120 h	240 h
Ⅱ A1	磺 Fu	4.71	0.69	0.18	未检出	3.76	1.83	0.91	0.21	4.11	3.53	2.67	1.01	2.41	2.09	1.65	0.63
Ⅱ A1	磺 Fu	4.78	0.53	0.16	未检出	3.93	1.96	0.95	0.23	4.49	3.86	2.73	1.08	2.69	2.34	1.90	0.77
Ⅱ B1	磺 Fu	5.01	0.71	0.18	未检出	4.00	2.03	1.07	0.25	4.53	3.91	2.78	1.06	2.50	2.25	1.86	0.73
Ⅱ B2	磺 Fu	5.13	0.73	0.19	未检出	4.46	2.43	1.19	0.28	4.91	4.18	2.89	1.09	2.81	2.49	2.16	0.91
Ⅱ C1	磺 Fu	5.69	0.70	0.17	未检出	4.49	2.41	1.20	0.28	5.66	4.19	2.93	1.14	2.83	2.50	2.17	0.94
Ⅱ C2	磺 Fu	6.14	0.75	0.20	未检出	4.94	2.49	1.27	0.29	5.91	4.36	3.04	1.36	3.07	2.70	2.37	1.11
Ⅲ A1	诺 Nor	1.71	0.09	0.031	未检出	1.34	1.09	0.63	0.18	1.63	1.37	1.15	0.58	1.31	1.06	0.81	0.35
Ⅲ A2	诺 Nor	1.69	0.11	0.036	未检出	1.52	1.27	0.69	0.19	1.61	1.36	1.15	0.60	1.44	1.14	0.84	0.37
Ⅲ B1	诺 Nor	2.03	0.10	0.035	未检出	1.64	1.38	0.73	0.20	1.84	1.54	1.23	0.65	1.63	1.18	0.86	0.37
Ⅲ B2	诺 Nor	2.17	0.08	0.030	未检出	1.77	1.43	0.78	0.20	1.86	1.58	1.29	0.67	1.78	1.25	0.88	0.39
Ⅲ C1	诺 Nor	2.30	0.13	0.040	未检出	1.75	1.42	0.78	0.21	2.04	1.73	1.45	0.79	1.66	1.22	0.88	0.40
Ⅲ C2	诺 Nor	2.39	0.17	0.042	未检出	1.89	1.58	0.81	0.24	2.11	1.79	1.46	0.83	1.81	1.38	0.93	0.44

注:表中值均为 5 个样品,检测 3 个平行样的平均值。Each mean for residues is the average of 3 replicates with 5 individuals each.

磺胺嘧啶可在肌肉组织中形成相对较高的含量,这表示磺胺嘧啶可用于治疗甲鱼全身性感染,但用药后在组织中残留较高。以停药 24 h 的肌肉中残留量为标准,72 h 后肌肉中仅排出 11.8%,120 h 后排出 23.2%,240 h 后排出 75%,但残留量仍为 0.63~1.11 μg/kg。根据美国对磺胺嘧啶安全的最高残留量(MRL)为 0 的规定,用药后的甲鱼停药应在 10 d 以上才可作为商品出售。

3.2 诺氟沙星在甲鱼体内的残留规律及给药方式

诺氟沙星吸收进入甲鱼体内后,在肝脏、肾脏和肌肉中也均有分布,而且水平较近,因而也可作为良好的全身治疗药物使用。诺氟沙星在胃部的酸性环境中被溶解,进入小肠较完全,主要以原形经肾脏排出,但其溶解度相对较高,故不易在肾小管中析出结晶^[5,6],因此对肾脏的损伤相对较小。对用药 7 d 的甲鱼解剖观察,肾脏无病变样色变,但用药 14 d 甲鱼的肾脏略显苍白。

诺氟沙星在肌肉组织中可达到相对较高水平,在停药后肌肉中药物残留量也较高,72 h 后排泄量仅为 24 h 时的 24.8%,120 h 仅排出 46%,240 h 排出 75.8%,残留量为 0.35~0.44 μg/kg。目前国外禁止将诺氟沙星用于生产食品的动物,国内尚未见

关于诺氟沙星的 MRL 数据。而恩诺沙星的 MRL 为 0.1~0.3 μg/kg,若加以参照,则用药后的甲鱼也应在停药 10 d 以后才能作为商品出售。给药水平越高,用药时间越久,药物残留越严重,泄毒的时间就应更长。

3.3 呋喃唑酮的使用

呋喃唑酮的口服吸收量甚微,故在血液及组织中检测均未检出,摄入的药物绝大部分在肠道中移动,因而只能用作肠道炎症的治疗,而对其他组织无效。尽管呋喃唑酮的 MRL 为 0,但由于在甲鱼的组织中未检出,停药后的商品甲鱼可销售。

参考文献:

- [1] 刘文英. 药物分析[M]. 北京:人民卫生出版社,1999. 60~71.
- [2] 中国医药局药分编写组. 药物分析[M]. 北京:医药科技出版社,1999. 169~176.
- [3] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(第二部)[M]. 北京:人民卫生出版社,1990. 88~92, 645~649.
- [4] Sadee W. Drug level monitoring[J]. Biol Chem, 1980, 28(2):435~439.
- [5] 彭司勋. 药物化学[M]. 北京:化学工业出版社,2000. 204~206.
- [6] 李 瑞. 药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,1999. 291~297.

Residues of furazolidone, sulfadiazine and norfloxacin in soft turtle, *Trionyx sinensis*

ZHU Qiu-hua, QIAN Guo-ying

(Department of Life Sciences, Zhejiang Wanli College, Ningbo 315101, China)

Abstract: The soft turtle, *Trionyx sinensis*, body weight 235~319g, were fed the diets containing furazolidone (10^{-4} , 10^{-3} , 3×10^{-3}), sulfadiazine (10^{-4} , 10^{-3} , 3×10^{-3}) or norfloxacin (10^{-5} , 10^{-4} , 3×10^{-4}), for 7 and 14 d respectively. The experiment water temperature was $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$. The blood and 3 other tissues, i. e. liver, kidney and muscle, were analyzed at hour 24, 72, 120 and 240 after withdraw medication. The results showed that furazolidone was absorbed too little to be detected; the residual sulfadiazine could be detected in the 4 samples but the highest level was observed in the blood at hour 24 after the withdraw, and then dropped rapidly to the lowest level at hour 72 and vanished at hour 240, and norfloxacin was the samilar case in its residual change. The effect of administered time was not obvious on residue level in blood but that's not the case in the other 3 tissues that the residual levels went up with the elapse of administered time ($P < 0.05$). The residual elimination was the slowest in muscle that the residue rate was 76.8% ($1.65 \sim 2.37 \mu\text{g/kg}$) at hour 120 and 25% ($0.63 \sim 1.11 \mu\text{g/kg}$) at hour 240 for sulfadiazine, and for norfloxacin, 46% ($0.81 \sim 0.93 \mu\text{g/kg}$) at hour 120 and 24.2% ($0.35 \sim 0.44 \mu\text{g/kg}$) at hour 240 (the percentage was on the basis of the residue levels at hour 24 after withdraw). It is suggested that the sulfadiazine- or norfloxacin-treated soft turtle be onto the market 10 d after withdraw medication.

Key words: *Trionyx sinensis*; furazolidone; sulfadiazine; norfloxacin; residue

欢迎订阅 2002 年《水产科学》

《水产科学》杂志是由辽宁省水产学会主办的水产科技期刊,双月刊,1982 年创刊,国内外公开发行。中是文“水产、渔业类”的核心期刊,已被俄罗斯《文摘》杂志、英国《动物学记录》收录,是“中国学术期刊综合评价数据库”、《中国学术期刊(光盘版)》、“中国期刊网”的全文收录期刊,是《中国水产文摘》的收录期刊。主要刊载水产资源、海水水捕捞、水产养殖与增殖、水产生物病害及防治、水产品保鲜与加工综合利用、渔船、渔业机械与仪器及水产基础科学等方面研究的新进展、新技术、新方法等。主要栏目有:科学实验、实用技术、综述与专论、建议与探讨等。读者对象是水产科技人员,大、中专院校水产、生物、环保等专业师生,渔业行政事业和企业单位有关管理和技术人员以及广大知识渔民。逢单月 25 日出版,每期 48 页,定价 4.00 元,全年 24.00 元。

订阅者请到当地邮局订阅(邮发代号 8-164),也可直接汇款到本刊编辑部订阅。

地址:大连市沙河口区黑石礁街 50 号,辽宁省海洋水产研究所《水产科学》编辑部

邮政编码:116023