

网络出版时间:2015-09-09 15:41

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.10.027

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150909.1541.054.html

陕西省水产品中 4 种硝基呋喃代谢物的检测

张艺蓓¹, 岳田利¹, 乔海鸥², 蒋旭鹏¹, 贾 如¹, 李 璐¹

(1 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100;

2 陕西省疾病预防控制中心 理化检验室, 陕西 西安 710054)

【摘 要】 【目的】对陕西省市售水产品中 4 种硝基呋喃代谢物进行检测, 为保证当地食品安全提供依据。【方法】从陕西西安、宝鸡、安康、延安、咸阳、渭南、商洛、铜川、汉中和榆林共 10 个地市的超市和农贸市场随机采集 16 种 120 份鱼样品, 将样品匀浆后在酸性条件下用 2-硝基苯甲醛避光振荡衍生 16 h, Oasis HLB 固相萃取柱提取、净化, 超高效液相色谱-串联质谱法检测, 同位素内标法定量, 统计水产品中呋喃唑酮代谢物 3-氨基-2-噁唑烷基酮(AOZ)、呋喃它酮代谢物 5-甲基-吗啉-3-氨基-2-噁唑烷基酮(AMOZ)、呋喃妥因代谢物 1-氨基-2-内酰胺(AHD)和呋喃西林代谢物氨基脒(SEM)的检测结果, 分析样品中硝基呋喃类药物的残留情况。【结果】4 种硝基呋喃代谢物的总检出率为 6.5%, 呋喃唑酮代谢物检出率最高, 为 8.3%; 16 种水产品中 4 种硝基呋喃代谢物残留的样品检出率为 15.0%; 16 种鱼品种的检出率为 37.5%, 其中武昌鱼、罗非鱼、草鱼、鲢鱼、鲤鱼和鲫鱼检出率依次为 100.0%, 100.0%, 20.6%, 15.4%, 15.2% 和 6.3%, 其余鱼样未检出; 草鱼中 4 种代谢物的平均含量远高于其他鱼种; 咸阳、商洛、延安、渭南、宝鸡和西安的检出率分别为 22.9%, 20.8%, 8.3%, 8.3%, 2.1% 和 2.1%; 咸阳的草鱼、商洛的鲤鱼、渭南的草鱼和鲤鱼在养殖或运输过程中有使用多种硝基呋喃类药物的情况。【结论】陕西省部分地区、部分鱼种中硝基呋喃类药物残留水平超标, 草鱼、鲤鱼、鲢鱼和鲫鱼等当地养殖的鱼类安全性较低, 应引起有关食药监部门的重视。

【关键词】 水产品; 硝基呋喃代谢物; 残留检测; 陕西省; 食品安全

【中图分类号】 TS207.3

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2015)10-0195-09

Determination of four nitrofurans metabolites residues in aquatic products in Shaanxi Province

ZHANG Yi-bei¹, YUE Tian-li¹, QIAO Hai-ou², JIANG Xu-peng¹, JIA Ru¹, LI Lu¹

(1 College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Shaanxi Province Center for Disease Control and Prevention, Xi'an, Shaanxi 710054, China)

Abstract: 【Objective】The purpose of the study was to determine levels of four nitrofurans metabolites residues in commercial aquatic products in Shaanxi Province, and provide reference for food security. 【Method】A total of 16 kinds of 120 fish samples were collected randomly from major supermarkets and farmers markets in Xi'an, Baoji, Ankang, Yan'an, Xianyang, Weinan, Shangluo, Tongchuan, Hanzhong and Yulin, in Shaanxi Province. After being homogenated, 16 h derivation was conducted with 2-nitrobenzaldehyde under acidic condition. Extraction and purification were conducted by Oasis HLB solid phase extraction column, and concentrations of four nitrofurans metabolites residues in samples were quantified by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), and isotope internal standard method. The detection results of furazolidone metabolites 3-amino-2-oxalidone (AOZ), furaltadone

【收稿日期】 2014-02-28

【基金项目】 2013 年度西北农林科技大学“大学生创新创业训练计划”校级重点项目(1201310712174)

【作者简介】 张艺蓓(1993—), 女, 陕西西安人, 在读本科, 主要从事食品安全研究。E-mail: zhangyibei0666@163.com

【通信作者】 岳田利(1965—), 男, 陕西宝鸡人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事食品与发酵工程及食品安全控制技术研究。E-mail: yuetl@nwsuaf.edu.cn

metabolites 5-morpholinomethyl-3-amino-2-oxalidinone (AMOZ), nitrofurantoin metabolites 1-amino-hydantoin (AHD), and nitrofurazone metabolites semicarbazide (SEM) in aquatic products were counted, and illegal use of nitrofurans drugs in aquaculture was analyzed. 【Result】 The total detection rate of four nitrofurans metabolites was 6.5%, and that of furazolidone metabolites 3-amino-2-oxalidone (AOZ) was the highest of 8.3%. The detection rate of samples in 16 kinds of aquatic products was 15.0%. The detection rate of fish species was 37.5% with the rates in bluntnose black bream, tilapia, grass carp, catfish, carp, and crucian carp of 100.0%, 100.0%, 20.6%, 15.4%, 15.2% and 6.3%, respectively, while they were not detectable in other fish samples. The mean levels of four nitrofurans metabolites in grass carp were higher than other fish species. The detection rates of four nitrofurans metabolites in Xianyang, Shangluo, Yan'an, Weinan, Baoji, and Xi'an were 22.9%, 20.8%, 8.3%, 8.3%, 2.1% and 2.1%, respectively. Mixed use of nitrofurans drugs was found in grass carp from Xianyang, carp from Shangluo, and in grass carp and carp from Weinan. 【Conclusion】 Levels of nitrofurans drugs residues in some aquatic products of some areas were higher than the standards in Shaanxi Province. The security levels of grass carp, carp, catfish and crucian carp were low and attention should be paid by food and drug supervision and administration department.

Key words: aquatic products; nitrofurans metabolites; residue determination; Shaanxi province; food safety

硝基呋喃类药物(Nitrofurans)是一类分子结构中含有 5-硝基呋喃环的化学合成类广谱抗菌素,曾作为治疗和预防埃希氏菌和沙门氏菌引起的哺乳动物消化道疾病的药物和饲料添加剂。硝基呋喃常见品种有呋喃唑酮(FZD)、呋喃它酮(FTD)、呋喃妥因(NFT)和呋喃西林(NFZ)4 种药物,对应的代谢物分别为 3-氨基-2-噁唑烷基酮(3-amino-2-oxalidone, AOZ)、5-甲基-吗啉-3-氨基-2-噁唑烷基酮(5-morpholinomethyl-3-amino-2-oxalidinone, AMOZ)、1-氨基-2-内酰脲(1-amino-hydantoin, AHD) 和氨基脲(Semicarbazide, SEM)。

近年来研究发现,硝基呋喃类药物在生物体内有慢性毒性,可以诱导基因突变,可致癌、致畸、致突变^[1]。呋喃唑酮是硝基呋喃类药物中最具代表性的一种,动物服用呋喃唑酮后,原药分子在动物体内不稳定,几小时内迅速代谢,代谢物与细胞膜蛋白结合,长期保持稳定^[2],蒸煮、烘烤、磨碎和微波等烹调方法均无法有效降解,且这种蛋白结合态的呋喃唑酮含有 AOZ 的完整侧链,在人胃弱酸性条件下, AOZ 侧链从母体分子上解离下来,代谢成为 β -羟乙基胍,可以致癌、致突变^[3-5]。同样,其他硝基呋喃代谢物 AMOZ、SEM、AHD 等都能在体内与细胞膜蛋白结合形成稳定的结合态长期存在,食用含有硝基呋喃类药物的肉制品会对人体产生一定的毒副作用^[6-7]。因此,对其检测监控显得相当重要。

许多国家明令禁止硝基呋喃类药物在食源性动

物中使用^[8]。1990 年 7 月欧盟颁布 2377/90/EEC 条例,将硝基呋喃类药物及其代谢产物列为 A 类禁用药物,规定其在动物源性食品中的残留检测限为 $1.0 \mu\text{g/kg}$ ^[9]。美国和日本分别于 1975、1977 年禁止呋喃唑酮作为医药使用,在动物性食品中的检出限为 $0.5 \mu\text{g/kg}$ ^[10]。美国 21CFR530.41 中规定食源性动物禁止使用呋喃唑酮和呋喃妥因。韩国 2002 年《食品公典》规定,猪肉中呋喃唑酮不得检出。我国农业部 2002 年 4 月发布了 193 号公告,公布了《食品动物禁用兽药及其他化合物清单》,该清单将硝基呋喃类药物列为禁止使用药物^[11],2003 年又将水产品硝基呋喃代谢物纳入残留监控计划。

水产品硝基呋喃类药物残留超标事件屡屡发生,严重威胁人民身体健康和我国进出口贸易。动物源性食品中抗生素残留量的检出已成为世界肉类贸易中的重要技术指标和技术壁垒之一,我国出口欧盟的鱼虾、禽肉和肠衣等被检出呋喃唑酮、呋喃西林,严重影响了动物食品的出口贸易。因此,加强该类物质的检测和控制有着重要的现实意义。

目前,对于硝基呋喃类抗生素残留的检测主要是对其代谢物进行检测,方法主要有液相色谱-紫外法^[12]、酶联免疫法^[13]、液相色谱-质谱法^[14-15]和液相色谱-串联质谱法^[16-17],但液相色谱-紫外法、酶联免疫法和液相色谱-质谱法灵敏度较差,样品前处理时间长、过程繁琐。超高效液相色谱-串联质谱法(Ultra-performance Liquid Chromatography-tandem

Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS)是近几年发展起来的一种药物残留分析检测技术,样品前处理时间短、灵敏度和准确性高,定性定量能力强,是国际上普遍采用的硝基呋喃代谢物检测和确证方法^[18-22]。

本研究采用 UPLC-MS/MS 技术,在酸性条件下,利用 2-硝基苯甲醛对 4 种硝基呋喃代谢物进行衍生,用 Oasis HLB 固相萃取柱净化,对陕西省 10 个地市 16 种 120 份鱼肉样品中的硝基呋喃代谢物进行检测,以期为当地政府进行食品安全监管提供可靠数据,并对水产品的食品质量安全进行预警。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

UltiMate™ 3000 超高效液相色谱仪,美国 Dionex 公司;API-3200 三重四极杆质谱仪,美国 Applied Biosystems 公司。硝基呋喃代谢物标准品:AOZ、AMOX、AHD、SEM,同位素内标标准品:d4-AOZ、d5-AMOX、¹³C₃-AHD、¹³C-¹⁵N-SEM,硝基呋喃代谢物衍生物标准品:2-NP-AOZ、2-NP-AMOX、2-NP-AHD、2-NP-SEM 和硝基呋喃代谢物衍生物同位素内标标准品:2-NP-d4-AOZ、2-NP-d5-AMOX、2-NP-¹³C₃-AHD、2-NP-¹³C-¹⁵N-SEM,购自 Sigma-Aldrich 公司,所有标准品纯度均≥99%。甲醇、乙腈、乙酸铵,均为色谱纯。二甲亚砜(DMSO)、氢氧化钠(NaOH)、0.2 mol/L 盐酸溶液,均为分析纯。衍生剂:称取 0.075 g 2-硝基苯甲醛(2-NPA)溶于 10 mL 二甲亚砜,浓度为 0.05 mol/L,现用现配。Oasis HLB 固相萃取柱(60 mg,3 mL)。Millipore A10 纯水系统,美国 Millipore 公司。

1.2 UPLC-MS/MS 检测条件

1.2.1 色谱条件 色谱柱:Dionex Acclaim® RSLC C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm,2.2 μm);流动相 A:乙腈;流动相 B:含 5 mmol 乙酸铵和体积分数 0.1%

乙酸水溶液;A、B 混合液(V(A):V(B)=1:3)等梯度洗脱;流速:0.5 mL/min;柱温:40℃;进样体积:10.0 μL。

1.2.2 质谱条件 电喷雾 ESI 离子源(正离子);扫描方式:多反应监测(MRM);电喷雾电压:5 000 V;气帘气压力:68 kPa;雾化气压力:482 kPa;辅助气压力:206 kPa;离子源温度:650℃。

1.3 标准溶液的制备

1.3.1 标准储备液(1 mg/mL) 分别称取 10 mg 4 种硝基呋喃代谢物标准品,置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,-18℃冷藏,避光保存。

1.3.2 混合标准溶液(1 μg/mL) 分别取 0.1 mL 4 种标准储备液,置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释成 10 μg/mL 标准中间液,再取 1 mL 的标准中间液,用甲醇水溶液(V(甲醇):V(水)=1:1)稀释成 1 μg/mL 混合标准溶液,4℃冷藏,避光保存。

1.3.3 标准系列溶液 分别取 1 μg/mL 的混合标准溶液 0.01,0.05,0.10,0.20,0.50,1.00 mL 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇水溶液(V(甲醇):V(水)=1:1)定容到刻度,得到质量浓度为 1,5,10,20,50,100 ng/mL 的标准系列溶液。

1.3.4 混合内标工作溶液 分别取硝基呋喃代谢物同位素内标标准品 d4-AOZ、d5-AMOX、¹³C₃-AHD、¹³C-¹⁵N-SEM,用纯水配成 100 ng/mL 混合溶液,4℃冷藏保存。

1.4 样品的采集

根据全国食品污染物监测网中规定的监测项目和种类,结合陕西省经济发展水平、地域特征和人口分布情况,在西安、宝鸡、安康、延安、咸阳、渭南、商洛、铜川、汉中和榆林共 10 个监测点,采用随机抽样和定点抽样相结合的方法,选择 20 个农贸市场对不同鱼品种进行采样。共得到 16 个品种 120 份鱼样品。采样后立即密封样品,及时运回实验室冷藏,样品的品种及数量见表 1。

表 1 陕西省 10 地市水产品中采集样品的数量及种类

样品 Samples	安康 Ankang	商洛 Shangluo	汉中 Hanzhong	渭南 Weinan	咸阳 Xianyang	宝鸡 Baoji	西安 Xi'an	榆林 Yulin	铜川 Tongchuan	延安 Yan'an	合计 Sum
草鱼 Grass carp	4	4	2	3	5	2	3	4	3	4	34
鲤鱼 Carp	6	4	2	3	4	1	2	4	3	4	33
鲫鱼 Crucian carp	0	2	2	3	2	0	2	2	3	0	16
鲢鱼 Catfish	0	2	2	0	0	0	0	2	3	4	13
鲢鱼 Chub	0	0	3	3	0	1	1	0	0	0	8
金昌鱼 Golden pompano	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2
武昌鱼 Bluntnose black bream	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2
鲈鱼 Bass	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	3

续表 1 Continued table 1

样品 Samples	安康 Ankang	商洛 Shangluo	汉中 Hanzhong	渭南 Weinan	咸阳 Xianyang	宝鸡 Baoji	西安 Xi'an	榆林 Yulin	铜川 Tongchuan	延安 Yan'an	合计 Sum
麒麟鱼 Mandarin fish	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
罗非鱼 Tilapia	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
梭边鱼 Spindle edge fish	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
鲜带鱼 Ribbonfish	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
大黄鱼 Large yellow croaker	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
鲑鱼 Haddock	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
江团鱼 Longsnout catfish	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
鲑鱼 Trout	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
合计 Sum	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	120

1.5 样品的 UPLC-MS/MS 检测

取鱼样可食部分匀浆,准确称取 1.00 g(精确至 0.01 g)已匀浆的样品,置于 50 mL 离心管中,加入 200 μ L 100 ng/mL 4 种硝基呋喃代谢物内标溶液,再加入 10.0 mL 0.2 mol/L 的盐酸溶液和 0.3 mL 2-硝基苯甲醛,涡旋混匀,37 $^{\circ}$ C 避光振荡衍生 16 h (过夜);衍生完后,向溶液中加入约 1.8 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液,调 pH 至 7.2~7.5,室温下 10 000 r/min 离心 10 min。安装 Oasis HLB 固相萃取柱,依次用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化,加入离心后得到的上清液,用 3 mL 纯水淋洗,5 mL 甲醇洗脱,洗脱液用氮气吹干;样品用甲醇水溶液($V(\text{甲醇}):V(\text{水})=1:3$)定容至 1.0 mL,漩涡混合 1 min,过 0.22 μ m 滤膜,取滤液进行 UPLC-MS/MS 检测。

1.6 标准曲线及最低检出限

采用内标法定量。将 4 种硝基呋喃代谢物标准储备液稀释成质量浓度为 1, 5, 10, 20, 50, 100 ng/mL 的标准系列溶液,在空白鱼肉样品(1.5 节未检出硝基呋喃代谢物的样品)中添加 AOZ、AMOZ、AHD、SEM 的标准系列溶液,分别取 10 μ L 进行 UPLC-MS/MS 分析。取 100 ng/mL 的硝基呋喃代谢物同位素内标标准品 10 μ L,进行 UPLC-MS/MS 分析。以分析物质量浓度与内标物质量浓度的比值为横坐标(x),以分析物峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标(y),绘制标准曲线。分别按信噪比(S/N)大于 3 和信噪比大于 10 计算本方法的检出限(LOD)和定量限(LOQ)。

1.7 加标回收率和精密度

以空白鱼肉样品为测试样品,AOZ、AMOZ、AHD、SEM 的添加质量浓度均设 50, 100, 200 ng/mL 3 个水平,进行 UPLC-MS/MS 分析,每个添加水平在相同的试验条件下做 6 个平行样,对照标准曲线计算每个样品的浓度,计算加标回收率、相对

标准偏差(RSD)。

1.8 样品中目标化合物残留量的计算

计算公式为:
$$w=\frac{C\times 1.0}{m}$$

式中: w 为样品中待检测化合物残留量, μ g/kg; C 为由回归曲线计算得到的上机试样溶液中目标化合物质量浓度,ng/mL; m 为样品的质量,g。

2 结果与分析

2.1 硝基呋喃代谢物检测方法的准确性确定

在质量浓度为 1~100 ng/mL 时,AOZ、AMOZ、AHD、SEM 质量浓度比值(x)与峰面积比值(y)均呈现良好的线性关系,其线性回归方程分别为: $y_{\text{AOZ}}=0.006\,44x+0.010\,20(r=0.998\,5)$, $y_{\text{AMOZ}}=0.011\,10x+0.013\,00(r=0.998\,8)$, $y_{\text{AHD}}=0.005\,67x+0.004\,97(r=0.998\,1)$, $y_{\text{SEM}}=0.012\,90x+0.017\,00(r=0.995\,9)$ (图 1)。4 种物质的检出限为 0.5 μ g/kg,定量限为 1.5 μ g/kg,表明本方法具有良好的线性关系,线性范围宽,灵敏度高。加标回收试验显示,回收率为 87.8%~110.8%,相对标准偏差为 1.98%~4.32%,表明本方法具有较高的准确性。

2.2 4 种硝基呋喃代谢物残留的总体检出情况

陕西省 16 种水产品的 120 份样品中 4 种硝基呋喃代谢物残留量的检测结果见表 2。表 2 表明,120 份样品中,AOZ、AMOZ、AHD、SEM 的检出率分别为 8.3%,7.5%,5.0%和 5.0%,4 种硝基呋喃代谢物的总检出率为 6.5%(31/480)。

2.3 16 种水产品中硝基呋喃代谢物的检测结果

检测结果显示,鲢鱼、金昌鱼、鲈鱼、麒麟鱼、梭边鱼、鲜带鱼、大黄鱼、鳕鱼、江团鱼、鲑鱼等 10 种鱼未检测到硝基呋喃代谢物;武昌鱼、罗非鱼、草鱼、鲮鱼、鲤鱼和鲫鱼等 6 种鱼检测出硝基呋喃代谢物,鱼种检出率为 37.5%(6/16),其中检出 AOZ 和 AMOZ 的各有 3 种(18.8%,3/16),检出 AHD 和

SEM 的各有 4 种(25.0%,4/16),说明硝基呋喃类药物在这 6 种鱼的养殖和运输中均有使用。武昌鱼、罗非鱼、草鱼、鲢鱼、鲤鱼和鲫鱼的检出率分别为 100.0%,100.0%,20.6%,15.4%,15.2%和 6.3%,2 份武昌鱼样品中 1 份检出 AHD,另 1 份检出 SEM;仅有的 1 份罗非鱼样品中有 SEM 检出;34 份草鱼样品中分别有 5,4,3,2 份样品有 AOZ、

AMOZ、AHD、SEM 检出,检出率为 20.6%;33 份鲤鱼样品分别有 4,4,1,2 份样品检出了 AOZ、AMOZ、AHD 和 SEM,检出率为 15.2%;13 份鲢鱼样品分别各有 1 份样品检出 AOZ 和 AHD,16 份鲫鱼样品中只有 1 份样品检出 AMOZ(表 3),16 种水产品中 4 种硝基呋喃代谢物残留的样品检出率为 15.0%(18/120)。

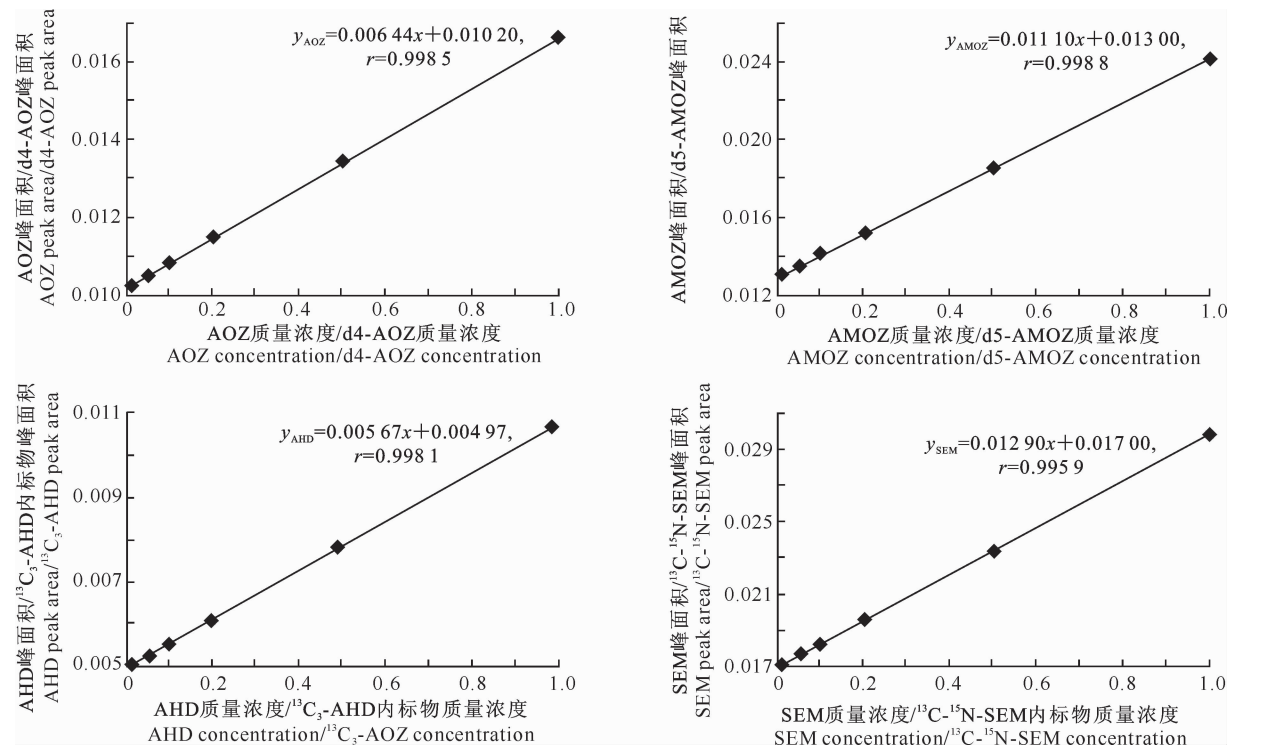


图 1 4 种硝基呋喃代谢物的线性回归曲线

Fig. 1 Linear regression curves of four nitrofurans metabolites

表 2 陕西省水产品中 4 种硝基呋喃代谢物残留的检测结果 (n=120)

待测物 Veterinary drug	残留量/(μg·kg ⁻¹) Residue		检出数量 No. of detectable	检出率/% Detectable rate
	中位数 Median	最大值 Maximum		
AOZ	56.3	215.89	10	8.3
AMOZ	31.5	142.12	9	7.5
AHD	55.7	157.95	6	5.0
SEM	58.7	210.60	6	5.0

表 3 陕西省 16 种水产品中硝基呋喃代谢物残留的检出率

Table 3 Determination of four nitrofurans metabolites residues in 16 kinds of aquatic products in Shaanxi						%
样品 Sample	AOZ	AMOZ	AHD	SEM	合计 Sum	
武昌鱼 Bluntnose black bream	0(0/2)	0(0/2)	50.0(1/2)	50.0(1/2)	100.0(2/2)	
罗非鱼 Tilapia	0(0/1)	0(0/1)	0(0/1)	100.0(1/1)	100.0(1/1)	
草鱼 Grass carp	14.7(5/34)	11.8(4/34)	8.8(3/34)	5.9(2/34)	20.6(7/34)	
鲢鱼 Catfish	7.7(1/13)	0(0/13)	7.7(1/13)	0(0/13)	15.4(2/13)	
鲤鱼 Carp	12.1(4/33)	12.1(4/33)	3.0(1/33)	6.1(2/33)	15.2(5/33)	
鲫鱼 Crucian carp	0(0/16)	6.3(1/16)	0(0/16)	0(0/16)	6.3(1/16)	

表 4 显示,从不同鱼种看,16 种鱼品种中草鱼、鲤鱼、鲢鱼、鲫鱼、武昌鱼、罗非鱼 6 种鱼检出代谢物,其中草鱼检出 4 种代谢物,SEM、AOZ、AHD、AMOZ 的平均残留水平分别为 159.00,132.54,

94.89,63.47 $\mu\text{g/kg}$,远高于其他鱼种;鲤鱼也检出 4 种代谢物,AHD、SEM、AOZ、AMOE 残留的平均水平分别为 19.71,10.43,8.21,6.63 $\mu\text{g/kg}$;鲢鱼检出 AOZ、AHD 残留,其平均残留水平分别为

0.28,21.6 $\mu\text{g/kg}$;武昌鱼检出 AHD、SEM,其平均残留水平分别为 8.15,9.58 $\mu\text{g/kg}$;鲫鱼检出 AMOE 残留,平均残留水平为 2.72 $\mu\text{g/kg}$;罗非鱼检出 SEM 残留,平均残留水平为 3.68 $\mu\text{g/kg}$ 。

表 4 陕西省水产品中 4 种硝基呋喃代谢物残留的平均水平

Table 4 Mean levels of four nitrofurans metabolites residues in commercial aquatic products in Shaanxi $\mu\text{g/kg}$				
样品 Samples	AOZ	AMOE	AHD	SEM
草鱼 Grass carp	132.54	63.47	94.89	159.00
鲤鱼 Carp	8.21	6.63	19.71	10.43
鲢鱼 Catfish	0.28	0	21.60	0
鲫鱼 Crucian carp	0	2.72	0	0
武昌鱼 Bluntnose black bream	0	0	8.15	9.58
罗非鱼 Tilapia	0	0	0	3.68

2.4 10 个地市水产品中 4 种硝基呋喃代谢物的检测结果

在 10 个采样地市中,安康、汉中、榆林、铜川 4 个地市未检出硝基呋喃代谢物;咸阳、商洛、延安、渭南、宝鸡和西安等 6 个地市的水产品中检出了硝基

呋喃代谢物,其检出率分别为 22.9%,20.8%,8.3%,8.3%,2.1%和 2.1%,其中咸阳、商洛检出率较高,且均检出了 4 种代谢物,延安只检出 1 种代谢物 AOZ,渭南检出 2 种代谢物 AOZ 和 AMOE,宝鸡和西安只检出 1 种代谢物 SEM(表 5)。

表 5 陕西省 10 个地市水产品中 4 种硝基呋喃代谢物的检出率

Table 5 Determination of four nitrofurans metabolites residues in aquatic products in 10 cities of Shaanxi					%
地市 Areas	AOZ	AMOE	AHD	SEM	合计 Sum
咸阳 Xianyang	25.0(3/12)	16.6(2/12)	33.3(4/12)	16.6(2/12)	22.9(11/48)
商洛 Shangluo	16.6(2/12)	33.3(4/12)	16.6(2/12)	16.6(2/12)	20.8(10/48)
延安 Yan'an	33.3(4/12)	0	0	0	8.3(4/48)
渭南 Weinan	16.6(2/12)	16.6(2/12)	0	0	8.3(4/48)
宝鸡 Baoji	0	0	0	8.3(1/12)	2.1(1/48)
西安 Xi'an	0	0	0	8.3(1/12)	2.1(1/48)

2.5 水产品中 4 种硝基呋喃类药物的混用情况分析

检测结果表明,咸阳的 2 份鱼样(草鱼)和商洛的 1 份鱼样(鲤鱼)中同时检出 AOZ、AMOE、SEM、AHD 4 种代谢物;商洛的 1 份鱼样(鲤鱼)中同时检出了 AOZ、AMOE、SEM 3 种代谢物;渭南的 2 份鱼样(草鱼和鲤鱼)同时检出了 AOZ 和 AMOE 2 种代谢物。该结果说明,咸阳的草鱼、商洛的鲤鱼、渭南的草鱼和鲤鱼在养殖或运输过程中使用过多种硝基呋喃类药物。

3 讨论

3.1 硝基呋喃代谢物的检测方法

目前,国际和国内都针对 4 种硝基呋喃代谢物制定了高灵敏度、高特异性的液相色谱-串联质谱检测方法 & 评价标准^[23-24],本研究参照 GB/T 21311-2007《动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量检测方法-高效液相色谱/串联质谱法》^[25],根据现有仪器、试剂和实际情况对检测方法进行了优化,采用 UPLC-MS/MS 方法检测,内标法

定量,优化后的方法样品前处理过程简单,缩短了检测时间,样品用量较少,灵敏度和回收率高,保证了检测结果的准确性。

3.2 陕西省市售水产品中 4 种硝基呋喃代谢物的残留状况

陕西省地处内陆,本地水产品较少,草鱼、鲤鱼、鲢鱼和鲫鱼等鱼种多由本地生产,日常消费的其他部分鱼种由东南沿海运输购进。东南沿海地区水产资源丰富,水产品进出口贸易发达,水产品中兽药残留检测频率较高,欧安等^[26]的研究结果显示,2007-2012 年湛江出口水产品硝基呋喃代谢物的总检出率为 1.9%,在 2007-2011 年呈递减趋势,2012 年有所上升。本试验结果显示,陕西省市售水产品中 4 种硝基呋喃代谢物的总检出率为 6.5%,高于湛江地区的检出率,说明陕西销售的水产品在养殖运输过程中存在违规使用硝基呋喃类药物的现象,应该追根溯源,减少食品安全隐患。

本试验结果显示,陕西省市售水产品中 AOZ、AMOE、AHD、SEM 的检出率分别为 8.3%,7.5%,5.0%和 5.0%,以 AOZ 的检出率最高。岑小青

等^[27]研究显示,2003—2005 年湛江口岸出口水产品中 4 种硝基呋喃代谢物的检出率为 $AOZ > SEM > AMOZ > AHD$,可见 4 种硝基呋喃类药物中呋喃唑酮的使用频率最高。而同期施东华等^[28]的研究显示,2004 年启东地区出口小龙虾产品中,SEM 检出率高达 52%(26/50),AOZ 未检出,呋喃西林违规使用呈上升趋势,呋喃它酮和呋喃妥因在水产养殖中几乎不用。可见不同地区、不同水产品中硝基呋喃类药物的使用存在差异。

本试验发现,从陕西省 10 个地市采集的 16 种 120 份鱼样中 4 种硝基呋喃代谢物的样品检出率为 15.0%(18/120),武昌鱼、罗非鱼、草鱼、鲢鱼、鲤鱼和鲫鱼的检出率分别为 100.0%,100.0%,20.6%,15.4%,15.2%和 6.3%,其余 10 种鱼中未检出。2 份武昌鱼样品中有 1 份检出 AHD,另 1 份检出 SEM,1 份罗非鱼样品检出 SEM,2 种鱼的检出率均为 100.0%,这可能与采样份数过少有关,因此不能简单地认为武昌鱼和罗非鱼的检出率较高;但是 34 份草鱼样品和 33 份鲤鱼样品均检出了 4 种代谢物,13 份鲢鱼样品检出 AOZ 和 AHD,16 份鲫鱼样品检出 AMOZ,因此认为陕西市售的草鱼、鲤鱼、鲢鱼和鲫鱼安全性较低,而这几种鱼正是群众日常消费量较大且多为本地养殖的鱼类,应该引起重视。

草鱼和鲤鱼中均检出 4 种硝基呋喃代谢物,鲢鱼检出 AOZ、AHD,武昌鱼检出 AHD、SEM,鲫鱼检出 AMOZ,罗非鱼检出 SEM,且草鱼中 4 种代谢物的平均含量均远高于其他鱼类,这可能是由于草鱼更易生病,在其养殖、运输过程中使用硝基呋喃类药物的情况更为普遍,也可能是由于草鱼基质与代谢物结合更为紧密,药物分解速度慢。

本次检测抽样涵盖陕西省陕南、关中、陕北共 10 个地市的大型水产品流通场所,各地抽样量相同,地区代表性较好。从咸阳、商洛、延安、渭南、宝鸡和西安 6 个地区水产品中检出了硝基呋喃代谢物,其中咸阳、商洛检出率较高,4 种代谢物 AOZ、AMOZ、AHD、SEM 均有检出,渭南检出 2 种代谢物 AOZ、AMOZ,延安只检出 1 种代谢物 AOZ,宝鸡和西安只检出 1 种代谢物 SEM;安康、汉中、榆林、铜川未检出。说明咸阳、商洛销售的水产品中使用硝基呋喃类药物的情况较为普遍。

值得注意的是,来自咸阳的 2 份草鱼和来自商洛的 1 份鲤鱼中同时检出 4 种代谢物 AOZ、AMOZ、AHD、SEM,来自商洛的另 1 份鲤鱼中同时检出了 AOZ、AMOZ、SEM,来自渭南的 1 份草鱼和

1 份鲤鱼同时检出了 AOZ 和 AMOZ。说明咸阳的草鱼、商洛的鲤鱼、渭南的草鱼和鲤鱼,在养殖或运输过程中使用过多种硝基呋喃类药物。

4 结 论

陕西省 10 地市的 120 份市售水产品样品中,4 种硝基呋喃代谢物均有检出,其中以 AOZ 的检出率最高;16 种鱼种中,武昌鱼、罗非鱼、草鱼、鲢鱼、鲤鱼和鲫鱼有硝基呋喃代谢物检出,而鲢鱼、金昌鱼、鲈鱼等 10 种鱼未检出硝基呋喃代谢物;草鱼和鲤鱼均检出 4 种代谢物,且草鱼中 4 种代谢物残留的平均水平均远高于其他鱼类;10 个地市中 6 个地上市售水产品检出了硝基呋喃代谢物,其中咸阳、商洛检出率较高。咸阳、商洛、渭南市售水产品在养殖或运输过程中有使用多种硝基呋喃类药物的情况。陕西省部分地区、部分鱼种硝基呋喃类药物残留水平超标,草鱼、鲤鱼、鲢鱼和鲫鱼等当地养殖的鱼类安全性较低,应该引起有关食药监部门的足够重视。

〔参考文献〕

- [1] 王习达,陈 辉,左健忠,等.水产品中硝基呋喃类药物残留的检测与控制[J].现代农业科技,2007(18):152-153,155.
Wang X D, Chen H, Zuo J Z, et al. Determination and control of nitrofurans residues in aquatic products [J]. Modern Agriculture Science and Technology, 2007(18): 152-153, 155. (in Chinese)
- [2] Xu W H, Zhu X B, Wang X T, et al. Residues of enrofloxacin, furazolidone and their metabolites in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 2006, 254: 1-8.
- [3] 赵 艳,张凤枰,刘耀敏.超高效液相色谱-串联质谱法测定凡纳滨对虾中的硝基呋喃代谢物残留[J].南方水产科学,2011, 7(4): 55-60.
Zhao Y, Zhang F P, Liu Y M. Determination of residues of nitrofurans metabolites in *Litopenaeus vannamei* by UPLC-MS/MS [J]. South China Fisheries Science, 2011, 7(4): 55-60. (in Chinese)
- [4] 沈美芳,宋红波,丁 涛,等.酶联免疫法与 LC-MS/MS 法测定水产品中呋喃唑酮代谢物[J].食品科学,2008, 29(5): 363-366.
Shen M F, Song H B, Ding T, et al. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and LC-MS/MS for determination of furazolidone residues in aquatic products [J]. Food Science, 2008, 29(5): 363-366. (in Chinese)
- [5] Cooper M, Mulder J, Van Rhijn A, et al. Depletion of four nitrofurans antibiotics and their tissue-bound metabolites in porcine tissues and determination using LC-MS/MS and HPLC-UV [J]. Food Additives and Contaminants, 2005, 22: 406-414.
- [6] 葛宝坤,王云凤,常春艳,等.测定鸡肉、水产品中四种硝基呋喃类药物残留量的固相萃取-液相色谱法[J].分析测试学报,

- 2003,22(5):91-93.
- Ge B K, Wang Y F, Chang C Y, et al. Determination of the pesticide residues of furaltadon, furacilin, nitrofurantoin and furazolidonum in chicken, fish, shrimp by SPE-HPLC [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2003, 22(5): 91-93. (in Chinese)
- [7] Hoogenboom L A P, van Bruchem G D, Sonne K, et al. Absorption of a mutagenic metabolite released from protein-bound residues of furazolidone [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2002, 11(3): 273-287.
- [8] 王 媛, 蔡友琼, 贾东芬, 等. 高效液相色谱法检测水产品中硝基呋喃类代谢物残留量 [J]. 分析实验室, 2009, 28(12): 86-90.
- Wang Y, Cai Y Q, Jia D F, et al. Determination of nitrofurantoin metabolite residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2009, 28(12): 86-90. (in Chinese)
- [9] European Communities. Commission Regulation (EC) No. 1442/95: Amending annexes I, II, III and IV for Council Regulation (EEC) No. 2377/90 laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin [J]. Official Journal of European Communities, 1995(L 143): 26-30.
- [10] 祝伟霞, 刘亚凤, 梁 炜. 动物性食品中硝基呋喃类药物残留检测研究进展 [J]. 动物医学进展, 2010, 31(2): 99-102.
- Zhu W X, Liu Y F, Liang W. Progress on nitrofurantoin drug residues in animal-borne food [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2010, 31(2): 99-102. (in Chinese)
- [11] 中华人民共和国农业部. 农业部 783 号公告-1-2006: 水产品中硝基呋喃类代谢物残留量的测定液相色谱-串联质谱法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. No. 783-1-2006 bulletin of ministry of agriculture: The determination of nitrofurantoin metabolic residues in aquatic products by LC-MS/MS method [S]. Beijing: China Standard Press, 2006. (in Chinese)
- [12] Conneely A, Nugent A, Keefe M O. Use of solid phase extraction for the isolation and clean-up of a derivatised furazolidone metabolite from animal tissues [J]. Analyst, 2002, 127(6): 705-709.
- [13] 蒋宏伟. 酶联免疫技术在动物产品中硝基呋喃类药物残留检测的应用 [J]. 陕西农业科学, 2006(5): 53-55.
- Jiang H W. ELISA detection of residues of the nitro-furan chemicals in the animal products [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2006(5): 53-55. (in Chinese)
- [14] McCrachen B J, Kennedy D G. Determination of furazolidone in animal feeds using HPLC with UV and thermospray MS detection [J]. J of Chromatography A, 1997, 771(1/2): 349-354.
- [15] 林黎明, 林回春, 刘心同, 等. 固相萃取高效液相色谱-质谱法测定动物组织中硝基呋喃代谢产物 [J]. 分析化学, 2005, 33(5): 707-710.
- Lin L M, Lin H C, Liu X T, et al. Determination of nitrofurantoin metabolites in animal tissues by high performance liquid chromatography-mass spectrometry and study of their residual discipline [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2005, 33(5): 707-710. (in Chinese)
- [16] 郭德华, 汪国权, 王东辉, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定动物源性食品中硝基呋喃类代谢物残留量 [J]. 化学分析计量, 2005, 14(4): 16-18.
- Guo D H, Wang G Q, Wang D H, et al. Determination of the nitrofurantoin metabolite residues in animal origin food by HPLC-tandem mass spectrometry [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2005, 14(4): 16-18. (in Chinese)
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中华人民共和国出入境检验检疫局. SN/T 1627-2005 进出口动物源性食品中硝基呋喃类代谢物残留量测定方法: 高效液相色谱串联质谱法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, China Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau. SN/T 1627-2005 Determination of metabolites of nitrofurans residues in animal origin food for import and export: HPLC-MS/MS [S]. Beijing: China Standard Press, 2005. (in Chinese)
- [18] Chu P S, Lopez M I. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of protein-bound residues in shrimp dosed with nitrofurans [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(23): 8934-8939.
- [19] Ferreti G, Cilitareale C, Palleschi L, et al. Multi-residue method for the determination of nitrofurantoin metabolites in egg using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. J Vet Pharmacol Therap, 2006, 29(Suppl 1): 129-180.
- [20] Leston S, Nunes M, Freitas A, et al. A LC-MS/MS methodology to determine furaltadone residues in the macroalgae Ulva lactuca [J]. Journal of Chromatography B, 2011, 879(32): 3832-3836.
- [21] Radovnikovic A, Moloney M, Byrne P, et al. Detection of banned nitrofurantoin metabolites in animal plasma samples using UHPLC-MS/MS [J]. Journal of Chromatography B, 2011, 879(2): 159-166.
- [22] An H, Henry M, Cain T, et al. Determination of total nitrofurantoin metabolites in shrimp muscle using liquid chromatography/tandem mass spectrometry in the atmospheric pressure chemical ionization mode [J]. Journal of AOAC International, 2012, 95(4): 1222-1233.
- [23] Leitner A, Zöllner P, Lindner W. Determination of the metabolites of nitrofurantoin antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 939(1): 49-58.
- [24] 徐维海, 林黎明, 朱校斌, 等. HPLC/MS 法对呋喃唑酮及其代谢物 AOZ 在罗非鱼体内残留研究 [J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(1): 35-39.
- Xu W H, Lin L M, Zhu X B, et al. The research of residues of furazolidone and its metabolite in tilapia by HPLC/MS [J]. Journal of Shanghai University, 2005, 14(1): 35-39. (in Chi-

nese)

[25] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21311—2007 动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量检测方法高效液相色谱/串联质谱法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.

Standardization Administration of the People’s Republic of China. GB/T 21311—2007 Determination of residues of nitrofurans metabolites in foodstuffs of animal origin-HPLC-MS/MS method [S]. Beijing: China Standard Press, 2007. (in Chinese)

[26] 欧安, 李红权, 蒋方军, 等. 湛江出口水产品质量安全现状及监管对策研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2013(5): 1596-1600.

Ou A, Li H Q, Jiang F J, et al. Research on quality analysis and regulatory countermeasures of exported aquatic products in Zhanjiang [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2013(5): 1596-1600. (in Chinese)

[27] 岑小青, 蔡泓. 湛江口岸出口水产品药物残留检测结果分析 [J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2006, 29(1): 49-51.

Cen X Q, Cai H. Analysis of drug residue in marine product at Zhanjiang port [J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2006, 29(1): 49-51. (in Chinese)

[28] 施东华, 卜仕金, 李建, 等. 2004 年启东地区小龙虾中氯霉素、硝基呋喃类代谢物的残留调查 [C]//中国畜牧兽医学动物药品学分会. 2006 年学术年会论文集. 北京: 中国农业出版社, 2006: 68-72.

Shi D H, Bu S J, Li J, et al. Investigation of chloramphenicol and nitrofurans metabolites residues in crawfish products of Qidong [C]//Chinese Association of Animal and Veterinary Science, Association of Animal Pharmaceutical Science. Proceedings of the 2006 Symposium of Veterinary Drug Branch. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 68-72. (in Chinese)

(上接第 194 页)

[14] Finlayson G D, Drew M S, Funt B V. Spectral sharpening: Sensor transformations for improved color constancy [J]. Journal of the Optical Society of America A-optics Image Science and Vision, 1994, 11(5): 1553-1563.

[15] Byrne C L. Iterative image reconstruction algorithms based on cross-entropy minimization [J]. Image Processing, 1993, 2(1): 96-103.

[16] Nadimi S, Bhanu B. Moving shadow detection using a physics-based approach [C]//Proc of International Conference on Pattern Recognition. California: IEEE, 2002: 701-704.

[17] Pappas T N. An adaptive clustering algorithm for image segmentation [J]. Signal Processing, 1992, 40(4): 901-914.

[18] Chan T F, Vese L A. Active contours without edges [J]. Image Processing, 2001, 10(2): 266-277.

[19] 黄芬, 于琪, 姚霞, 等. 小麦冠层图像 H 分量的 K 均值聚类分割 [J]. 计算机工程与应用, 2014, 50(3): 129-134.

Huang F, Yu Q, Yao X, et al. K-means clustering segmentation for H weight of wheat canopy image [J]. Computer Engineering and Applications, 2014, 50(3): 129-134. (in Chinese)

[20] 韩瑞珍. 基于机器视觉的农田害虫快速检测与识别研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.

Han R Z. Research on fast detection and identification of field pests based on machine vision [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014. (in Chinese)

[21] 毛亮, 薛月菊, 孔德运, 等. 基于 H 分量旋转的荔枝图像分割算法 [J]. 计算机工程与应用, 2011, 47(33): 192-194.

Mao L, Xue Y J, Kong D Y, et al. Litchi image segmentation algorithm based on rotation of hue component of HSV color space [J]. Computer Engineering and Applications, 2011, 47(33): 192-194. (in Chinese)

[22] Camargo A, Smith J S. An image-processing based algorithm to automatically identify plant disease visual symptoms [J]. Biosystems Engineering, 2009, 102(1): 9-21.