

食品中硝基呋喃类药物及其代谢物残留检测的研究进展

唐红梅¹, 曾芳², 李成洪^{1,3*}

(1. 重庆市畜牧科学院, 重庆 402460; 2. 重庆大学, 重庆 402460;
3. 养猪科学重庆市市级重点实验室, 重庆 402460)

摘要: 硝基呋喃类药物是一类人工合成的广谱抗菌药物, 主要包括呋喃唑酮、呋喃妥因、呋喃它酮、呋喃西林等。因其价格相对低廉, 曾大量应用于家禽、家畜和水产品动物的细菌性疾病的预防和治疗。原药在动物体内代谢速度快, 半衰期短, 其代谢物与蛋白组织结合紧密, 残留时间长。研究发现原药及代谢物对人体有潜在的致癌致畸等作用, 世界各国在动物源性食品生产过程中已全面禁止此类药物的使用, 并规定了检测标准, 但动物养殖者们违法使用硝基呋喃类药物的现象仍有发生。硝基呋喃类药物的检测方法繁多, 主要有色谱分析法、免疫学方法等, 各类方法均有其优点与局限性。本文综述了近年来对食品中硝基呋喃类药物及代谢物的残留检测方法, 并对硝基呋喃类代谢物残留的检测方法的趋势进行展望。

关键词: 硝基呋喃; 代谢物; 残留分析

Progress on the detection of nitrofurans drugs residues and their metabolites in food

TANG Hong-Mei¹, ZENG Fang², LI Cheng-Hong^{1,3*}

(1. Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460, China; 2. Chongqing University, Chongqing 402460, China; 3. Chongqing Municipal Key Laboratory of Pig Science, Chongqing 402460, China)

ABSTRACT: Nitrofurans drugs are a kind of synthetic broad-spectrum antibiotics, including furazolidone, nitrofurantoin, nitrofurazone and furaltadone. Due to the irrelatively cheap price, they are widely applied in the prevention and treatment of bacterial diseases in poultry, livestock and aquatic products. *In vivo* metabolize of the original drugs is fast and half-life is short, in addition, their metabolites combine proteins tightly and remain long time in the body. The study revealed that nitrofurans drugs and metabolites had potential side effects such as carcinogenic and teratogenic, which leded this kind of drugs were totally banned from using in the process of animal food production in the whole world, as well as testing standards had been developed, however, nitrofurans drugs were often illegally used by animal farmers. There are lots of methods for the detection of nitrofurans drugs, like chromatography and immunology. Each method has its merits and drawbacks. This paper summarized the detection methods for residues of nitrofurans drugs and their metabolites in food in recent years, and discussed the trend of the detection methods for the metabolites of nitrofurans drugs in the future.

基金项目: 重庆市农发资金项目(16411)

Fund: Supported by Chongqing City Agricultural Development Fund Project (16411)

*通讯作者: 李成洪, 高级兽医师, 主要研究方向为新兽药研发。E-mail: lchenghong@126.com

*Corresponding author: LI Cheng-Hong, Senior Veterinarian, Chongqing Academy of Animal Sciences & Chongqing Municipal Key Laboratory of Pig Science. No. 51, Chang Long Road, Chang State Street, Rongchang District, Chongqing 402460, China. E-mail: lchenghong@126.com

KEY WORDS: nitrofurans; metabolites; residue analysis

1 引言

随着人们对动物源性食品由需求型向质量型的转变, 动物源性食品中的兽药残留已逐渐成为全世界关注的一个热点^[1]。从 20 世纪 60 年代起, 食品添加剂和污染物联合专家委员会开始评价有关兽药残留的毒性, 为人们认识兽药残留的危害及其控制提供了科学依据。兽药残留是指用药后蓄积或存留于畜禽机体或产品(如鸡蛋、奶品、肉品等)中原型药物及其代谢产物, 包括与兽药有关的杂质的残留。硝基呋喃类药物就是属于兽药残留检测项目中的一类。硝基呋喃类药物属于含硝基的一类人工合成药物, 其呋喃环结构的 5 位上连有硝基(见图 1), 是一种重要的人工合成药物^[2]。该药物是一类广谱抗菌药物, 对大肠杆菌、葡萄球菌、沙门杆菌、志贺杆菌、部分变形杆菌、产气杆菌、霍乱弧菌等均有很好的抗菌作用^[3]。

常用的硝基呋喃类药物有呋喃唑酮(furazolidone)、呋喃妥因(nitrofurantoin)、呋喃西林(nitrofurazone)、呋喃它

酮(furaltadone)等^[4](见图 1), 因为它们的抗菌谱广、杀菌能力强、耐药性好、价格低廉^[5], 曾大量应用于家禽、家畜、宠物和水产等养殖动物的传染病预防和治疗中, 并作为饲料添加剂用于预防和治疗由沙门氏菌和埃希氏菌引起的猪、牛、家禽及蜜蜂的胃肠道疾病, 也作为家畜生长促进剂^[6]。

硝基呋喃类原药在生物体内代谢迅速, 半衰期短^[7], 故畜禽等使用了硝基呋喃类药物后, 在体内很快被代谢, 不易被检测^[8,9]。呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃妥因、呋喃西林的主要代谢物分别是 3-氨基-2-恶唑烷酮(3-amino-2-oxazolidinone, AOZ)、3-氨基-5-吗啉代甲基-2-恶唑烷酮(3-amino-5-methyl-2-oxazole morpholine generation ketone of alkanes, AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲(1-Aminohydantoin, AHD)、氨基脲(semicarbazide, SEM), 这些代谢产物和蛋白质结合比较稳定, 能在生物组织中存留较长时间^[10,11], 故利用代谢物的检测可以反映硝基呋喃类药物的残留状况^[12]。

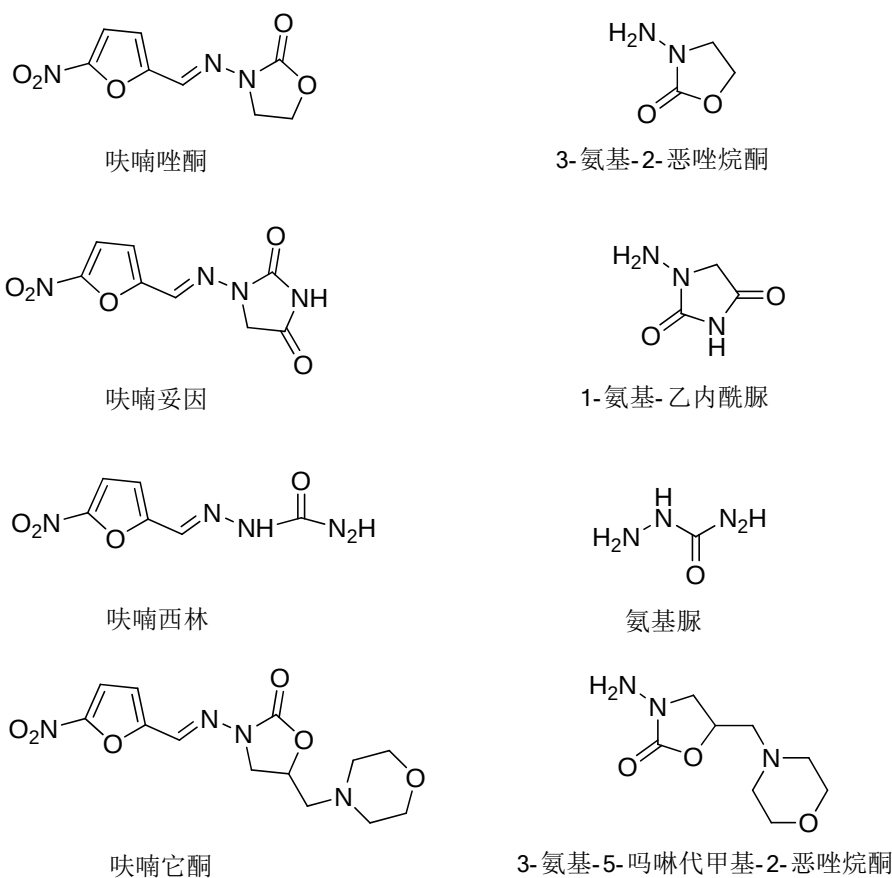


图 1 4 种硝基呋喃原药及代谢物

Fig. 1 Four kinds of drug and metabolites of nitrofurans

研究表明,硝基呋喃类药物对人体具有很大的危害性,是一类具有潜在的致癌致畸和诱导突变的物质^[13]。因此,世界各国对呋喃类物质的控制非常严格,各国对其监控标准都有明确的规定^[14,15]。1995年欧盟开始禁止硝基呋喃类抗菌剂在畜禽及水产动物中使用,并严格执行对水产品中硝基呋喃类药物的残留检测,1997年欧盟将所有的硝基呋喃类抗生素列为A类违禁药物,2002年美国亦随之制订相应法规,2003年欧盟又颁布了2003/181/EC条例,规定用于禽肉产品和水产品中硝基呋喃类药物及代谢物的各种检测方法的最小要求能限值(minimum required performance limits, MRPL)为 $1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ ^[16]。我国农业部在2002年4月发布了中华人民共和国农业部公告第193号,将硝基呋喃类药物列为禁用兽药,2005年10月又发布了公告第560号,这是对193公告的补充,该公告规定硝基呋喃类药物为禁止使用药品,在动物性食品中不得检出。2010年3月卫生部发布的《食品中可能违法添加的非食用物质名单(第四批)》中,再次明确将硝基呋喃类药物中的呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃西林、呋喃妥因列为非食用物质。

2004年开始,我国将高效液相色谱法作为标准检测方法,随后又先后将高效液相色谱-质谱联用法及酶联免疫法作为标准方法^[17,18]。随着现有的药物分析技术及分析仪器的高速发展,为了得到更加精确灵敏的实验结果,硝基呋喃类及其代谢物的残留检测方法也在不停地向着简单、快速、准确的方向改变^[19]。所以,为了保证人类的健康,强化食品的安全,系统、精准地开展硝基呋喃类药物及代谢物的残留检测方法研究和探索,是非常有意义的。

2 硝基呋喃类药物及其代谢物检测方法技术研究进展

2.1 色谱分析方法

色谱法由于自身灵敏度高、选择性好、特异性强,使得该方法发展迅速,并在很多国家作为检测硝基呋喃类药物及其代谢物残留的确证方法^[20]。近年来硝基呋喃类药物及代谢物的色谱检测方法主要包括高效液相色谱法、液相色谱-质谱法等。

2.1.1 高效液相色谱法

HPLC的出现不过30多年的时间,但这种分离分析技术对化合物的定性、定量检测应用十分广泛,发展非常迅猛,大多药企及科研实验室对于硝基呋喃类药物及代谢物的残留分析检测常用HPLC法。2001年11月农业部发布农牧发第38号文件中发布了10种动物源性食品中兽药残留的检测方法,其中呋喃唑酮的检测方法就是HPLC法。1997年,Angelini等^[21]利用HPLC法检测牛肉组织中硝基呋喃类代谢物的残留情况,该方法的检测限达到了 1.0 mg/kg ,定量限为 2.0 mg/kg 。随后2003年,葛宝坤等^[22]使用HPLC法检测鸡肉等食品中的4种硝基呋喃代谢物的残

留情况,结果显示其检测限降低到 $2.0\sim 5.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 之间;而在2005年于慧娟等^[23]利用HPLC法检测水产品中呋喃唑酮AOZ的残留,检测限就已经能达到 $1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$,符合欧盟颁布的标准,此时HPLC法作为常规分析检测方法检测硝基呋喃类药物及其代谢物的残留。

2010年,曹鹏等^[24]研究了HPLC法对饲料中硝基呋喃类原药残留的测定情况,为动物源性食品的源头控制奠定基础。该方法提出用固相萃取法前处理复杂基质的样品,即通过乙腈提取样品得到提取物,正己烷和酸性氧化铝净化该提取物得到相对纯化的检测样品,通过二极管阵列检测器以乙腈和磷酸水溶液为流动相对该检测样品进行梯度洗脱,实验结果显示硝基呋喃原药的检测限在 $0.2\sim 0.12\text{ mg/kg}$ 之间,相关系数达到0.999以上,回收率均达到70%以上,为以后硝基呋喃代谢物的残留检测提供参考。2013年Sheng等^[25]通过一种新型荧光剂,建立了一种高效液相色谱-荧光检测法(high performance liquid chromatography-fluorescent detection, HPLC-FLD)检测猪肉中4种硝基呋喃代谢物的残留。该方法通过加酸水解样品并在水解后与荧光剂结合,以反相色谱柱 C_{18} 为分析色谱柱,硼酸钠缓冲液(pH 10.3,碱性)-乙腈为流动相,梯度洗脱。相关系数达到0.999以上,回收率增加到92%,除了SEM的检测限为 $2.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 外,其他代谢物的检测限均低于 $1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$,符合欧盟对硝基呋喃残留的有关规定。通过LC-MS/MS验证,两者结果一致,因此该方法虽然对SEM的灵敏度稍低,但其成本低,操作简便,适合食品中硝基呋喃代谢物的残留检测。在2014年辛少平等^[26]通过高效液相-紫外检测器建立了一种4种硝基呋喃类代谢物残留的分析检测方法,该方法抛弃传统的盐酸水解样品而采用10%的三氟乙酸-甲醇溶液提取样品,采用外标法定量,以反相色谱柱作为分析柱,流动相为 0.05 mol/L 乙酸铵-乙腈(V:V=30:70)。结果显示其中的SEM的检出限达到 $0.75\text{ }\mu\text{g/kg}$,达到欧盟规定的标准。该方法尤其适合对SEM的残留检测,且样品前处理不需要固相萃取,实验步骤减少,对硝基呋喃类代谢物的残留检测奠定基础。

2.1.2 液相色谱-质谱法

近年来,液相色谱-质谱联用在技术及应用方面取得了很大进展,在兽药残留检测分析方面的应用越来越广泛。虽然LC-MS的仪器昂贵,实验成本高,但是LC-MS体现了色谱和质谱的优势,结合色谱的高分离能力及质谱的高选择性、高灵敏度的优点,液相色谱-质谱联用在近年来越来越受到研究者的青睐^[27]。

硝基呋喃类药物的代谢物分子量在 $75\sim 201\text{ g/mol}$,采用LC-MS检测时在该质量范围内质谱背景噪声高、分析物的电离效率低,质谱检测灵敏度相对较低。因此,通常对其进行衍生化,增加其分子质量,提高质谱响应^[28]。最常用的衍生化试剂为2-硝基苯甲醛(2-NBA),Pereira等^[29]将

与蛋白结合的代谢物水解后与 2-NBA 衍生, 其检测限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 但是采用 2-NBA 衍生化时间较长。Leitner 等^[28]通过与其他衍生化试剂(吡啶-3-甲醛、2,4-二硝基苯甲醛、2-羟基-5-硝基苯甲醛)比较, 都不能提高检测的灵敏度或缩短反应时间。李耀平等^[30]研究了 2-氯苯甲醛与 2-NBA 对水产品中 4 种硝基呋喃类代谢物的衍生化反应、衍生产物的检测灵敏度及其稳定性, 结果表明, 2-氯苯甲醛衍生后提高了灵敏度、缩短了反应时间。其他衍生化试剂还有 2-羟基-1-萘甲醛、2-萘甲醛等^[31,32]。

2012 年, Douny 等^[33]基于液相色谱耦合的同位素稀释串联质谱分析法建立了对水产品中虾类食品的 4 种硝基呋喃类代谢物的残留的测定方法。该实验通过传统的固相萃取及乙酸乙酯萃取得到待检测样品, 在分析检测之前特意进行正极电喷雾电离(ES^+)与多反应监测(MRM)两种作用方式处理样品, 再通过 LC-MS/MS 检测样品。实验结果为 4 种硝基呋喃类代谢物的检测限在 0.08~0.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 远远低于欧盟规定的 MRPL 值, 该方法对分析的 AOZ、AMOZ、AHD 3 种代谢物的实验反应非常灵敏, 但是对 SEM 的反应却不太理想。2015 年, 万建春等^[34]采用高效液相色谱-串联质谱法(high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)检测了水产品中 4 种硝基呋喃类药物及代谢物的残留情况。研究结果显示 4 种硝基呋喃类化合物的检出限在 0.15~0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 且该分析方法对 4 种代谢物的反应灵敏度均比较好, 适合水产品中硝基呋喃类药物残留的检测。2016 年, 蒋翠红^[35]使用液相色谱-串联质谱分析水产品中硝基呋喃类药物代谢物的残留情况, 发现水产品中硝基呋喃类药物的检测限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 并且通过该方法能够对硝基呋喃代谢物进行定性、定量分析, 同时发现试验样品不同(如面包虾和虾仁), 其 SEM 的检测限测定结果区别较大, 因此 SEM 对分析检测方法的灵敏度相对其他 3 种代谢物表现得稍低。

2.2 超高效液相色谱-串联质谱法

超高效液相色谱 (ultra performance liquid chromatography, UPLC) 是分离科学中的一个全新类别。与传统的 HPLC 相比, UPLC 的分离速度、灵敏度及分离度分别是 HPLC 的 9 倍、3 倍及 1.7 倍。该分析方法虽然由于实验过程中仪器内部压力过大, 也会产生相应的一些问题(如泵的使用寿命会相对降低、仪器的连接部位老化速度加快、单向阀等部位零件容易出现问题), 但是它大大缩短了分析检测时间, 增加样品容量, 减少了溶剂用量, 降低了实验分析成本, 从而提高了分析的分辨率和精确度。近年来超高效液相色谱法是硝基呋喃类药物及代谢物残留检测频繁使用的检测方法之一。

2013 年, 为了验证对硝基呋喃类药物的禁止使用情况, 浙江省杭州市疾病预防控制中心金铨等^[36]使用超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)检测了浙江省市售鲜

冻畜禽肉类中硝基呋喃类药物及代谢物的残留情况。该研究检测了该省 12 个地区的主要农贸市场及超市采集的 5 种 424 份不同鲜冻畜禽肉类样品, 检测结果显示在浙江省鲜冻畜禽肉类中硝基呋喃类药物及代谢物的残留得到了较好监控, 但仍能检测出硝基呋喃类代谢物的残留, 因此对畜禽肉类中硝基呋喃类代谢物残留的监控工作仍需要加强。为了加强对食品中兽药残留的监测, 2014 年刘柏林等^[37]使用超高效液相色谱串联质谱建立了动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物的快速检测分析方法。结果显示 SEM 和 AHD 的最低检出限达到 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 而 AMOZ 和 AOZ 的检测限达到 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 对硝基呋喃代谢物的残留检测更加精确。该方法省去了样品的净化步骤, 使得样品的前处理比较容易, 降低了实验成本, 并使得测定时间变短、灵敏度更加精确, 非常适用于快速检测猪肉、牛肉、鸡肉、水产品等动物源性食品中硝基呋喃类药物的代谢物残留情况。2015 年, Kaufmann 等^[38]使用超高效液相-高分辨质谱法 (ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrum, UPLC-HRMS) 检测肝脏、肾、鱼类、蜂蜜、鸡蛋和牛奶等食品中的硝基呋喃类药物及代谢物的残留情况。结果显示 4 种硝基呋喃类化合物及代谢物的检出限均达到 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该检测方法选择性好、灵敏度高, 不仅检测限低, 而且对硝基索尔、硝基齐特及其他非衍生硝基呋喃化合物也适用, 对兽药残留的检测更加实用。2015 年, 谢云峰等^[39]也使用超高效液相色谱-串联质谱测定了猪肉组织中硝基呋喃类药物及其代谢物的残留情况。结果显示 4 种代谢物的检出限均为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法不仅检测限的要求达到欧盟要求, 同时简化了实验的前处理, 优化了色谱和质谱的条件, 使得实验结果选择性更好、灵敏度更高, 实验时间变短, 对硝基呋喃代谢物的残留检测更加简便。

2.3 免疫分析法

免疫分析法是利用抗原抗体特异性结合反应来检测各种物质(如药物、激素、蛋白质、微生物等)的分析方法。在药物分析中, 免疫分析法能够快速测定有效组分的含量, 以实现生产过程的在线监测。自从呋喃唑酮代谢物的衍生物的多克隆抗体被制备出来以后, 酶联免疫吸附分析技术(ELISA)等免疫分析法不断发展进步, 并成为分析检测硝基呋喃类药物及代谢物残留的重要手段之一, 该方法具有操作简单、快速、检测结果明显等优点, 尤其适合大量样本的现场快速检测筛选。

2.3.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫法具有选择性好、精密度高、操作方便等优点, 已经成为近年来硝基呋喃类药物及代谢物残留快速检测方法的研究热点。

2013 年, Chadseesuwana 等^[40]通过特定单克隆抗体 1-氨基乙内酰胺(1-amino ethyl lactam, AHD)和呋喃妥英的代谢物建立间接酶联免疫吸附检测系统检测虾内硝基呋喃药

物的残留现状,该检测方法得到的最低检出限达到 0.11 $\mu\text{g/kg}$,表现出较高的灵敏度和准确性,与 LC-MS/MS 的实验结果相当,在目前酶联免疫吸附检测技术上显示出优越性。同年,Shen 等^[41]通过酶联免疫吸附法检测猪肉、鸡肉、鱼、虾等农产品中 4 种硝基呋喃类药物及代谢物的残留情况,结果显示 AOZ、AMOZ、AHD、SCE 的检测限分别是 0.025、0.060、0.130、0.043 $\mu\text{g/kg}$,达到欧盟标准所允许的要求。最后通过比较该方法的实验结果与 LC-MS/MS 的测定结果,发现两者相差不大,验证了该方法的准确性,由此可以确定 ELISA 法可以用来检测硝基呋喃类的残留。当然,由实验结果也可知,AHD 的检测限相对其他 3 种来说较大,即该药物的灵敏度相对较低。针对这一情况,2014 年,Wang 等^[42]通过间接竞争酶联免疫法(dcCLELISA)及化学发光酶联免疫法(icCLELISA)测定鱼和蜂蜜中呋喃妥因代谢物(AHD)的残留情况,并把这两种结果和商品化试剂盒测定结果相比较,发现 AHD 的最低检出限分别为 0.03 和 0.05 $\mu\text{g/kg}$,远远高于市场上在售试剂盒的实验结果,表明该方法可用于 AHD 的残留检测。ELISA 方法对硝基呋喃代谢物的残留检测非常适用,但是必须验证该方法的准确性。2014 年,Shu 等^[43]通过 ELISA 检测鱼、虾、鸡、猪肉等食品中的呋喃唑酮代谢物(AMOZ)的残留;2015 年,Le 等^[44]通过 ELISA 法测定牛肉、鸡、鱼等动物组织中的呋喃唑酮代谢物(AOZ)的残留情况,这两个实验均使用 LC-MS/MS 方法来验证实验结果的准确性。结果都显示方法准确、经济、简单、快速,其选择性更好。因此,ELISA 法的验证常选择 LC-MS/MS。

2.3.2 免疫层析法

免疫层析法包括胶体金免疫层析法(colloidal gold immunochromatography, GICA)、快速免疫层析法(immunochromatography, ICA)等,该检测方法的结果虽不如酶联免疫法精确,但是由于它的选择性好,操作简便,研究人员也逐渐开始研究用该法检测硝基呋喃类药物的残留^[45]。

2012 年,何方洋等^[46]基于胶体金免疫层析技术研制出胶体金试纸条,并运用该试纸条现场测量大规模的猪肉、鸡肉等食品中呋喃它酮代谢物(AMOZ)的药残情况,结果显示该代谢物的检测限为 1.0 $\mu\text{g/kg}$,符合欧盟规定的标准,且假阳性率低于 5%,假阴性率为 0,可用于食品中 AMOZ 的快速检测和现场筛查。2013 年,柳爱春等^[47]通过胶体金免疫层析法检测水产品中 4 种硝基呋喃代谢物的残留情况,结果显示该 AOZ 的检测限为 0.5 $\mu\text{g/kg}$,而其他 3 种代谢物的检测限均为 1.0 $\mu\text{g/kg}$,达到欧盟的要求。同时使用 LC-MS/MS 验证该方法,两者实验结果的符合率达到 98%以上,证明 GICA 法的可行性,且 GICA 法更加快速、简单。为了改善硝基呋喃类残留检测的检测限,2014 年,Li 等^[48]通过快速免疫层析法检测了肉类等食品中的呋喃它酮代谢物(AMOZ)的残留情况,结果显示检测限降低到 0.1

$\mu\text{g/kg}$,为免疫层析法的广泛应用打下基础。免疫层析法虽然使用快速、简单,但是对食品来说其样品前处理显得较繁琐。2015 年,李文玲等^[49]将呋喃唑酮药物衍生化,通过不同的前处理方法消除了海参中蛋白、多糖等组分及其复合物的基质干扰效应,开发了海参中呋喃唑酮代谢物(AOZ)的胶体金免疫层析快速检测方法。结果显示该检测方法的结果灵敏度高、稳定性和特异性好,且符合国家农业部第 1077 号公告规定的方法检出限 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 。该检测方法省略了有机溶剂萃取、氮吹、净化等步骤,且前处理操作步骤较目前的 AOZ 检测的同类技术更为简便、快速,能有效监控海参及其加工制品中硝基呋喃类药物残留。

2.4 其他方法

分光光度法和薄层色谱法在早期可作为硝基呋喃类药物的检测方法。不过分光光度法虽然操作简单,检测方便,但是其测定结果准确度偏低,灵敏度也不高,最低检测限只能达到 $\mu\text{g/mL}$ 级,目前应用于硝基呋喃类药物的残留分析较少。但是对于硬件设备不够完善的质检部门和生产企业,该方法还是具有较好的使用价值。廖峰等^[50]通过分光光度计建立呋喃唑酮的检测方法,该方法在 440 nm 处读取吸光值,在浓度为 0~0.1 mg/mL 范围内线性良好,相关系数达到 0.999,其回收率在 95%~102%之间。因此分光光度法也可以用于检测动物性食品中硝基呋喃类药物的残留,但是不能作为确证方法。而对于薄层色谱法来说,由于分离样品多,预处理简单,分析成本低等特点,在以前常用于硝基呋喃类药物的检测。但是后来由于液相及酶联免疫法等快速发展,目前该方法已不常用。Abjean^[51]通过薄层色谱法检测猪肉和牛肉中硝基呋喃类药物及代谢物的含量,检出限达到 5 $\mu\text{g/kg}$ 。

3 问题与展望

目前,由于硝基呋喃类药物的致癌、致畸、致突变作用,现已对此类药物禁用。因此,很多国家都对硝基呋喃类药物的控制制定标准,国内外均已建立了硝基呋喃及其代谢物的残留检测方法体系。首先,对于主要的 4 种硝基呋喃类药物来说,不同药物在不同的分析方法、实验条件下其实验结果有区别,因此单独研究各种硝基呋喃类代谢物是非常有必要的。其次,色谱分析方法及超高效液相色谱法检测的灵敏度高、选择性好、特异性强,为大多研究者所青睐。但在实际的操作中由于涉及高档仪器,且前处理较复杂、试验时间长,检测成本高,并需要专业技术人员操作,因此,对猪肉、牛肉、鸡肉、虾类等食品的现场监控不太容易普及。免疫分析法是基于抗原抗体反应为实验基础,具有快速、灵敏、简便等优点,适合于中低层次和实验条件简单的人员的方便操作,更适用于大量样本的检测。但该方法的假阳性率较高,通常需要利用液质联用方法进行确证。另外,制备的抗体只能针对某一种特定的硝

基呋喃类代谢物, 并且需要衍生化处理。期望研究者能采用合适的免疫方法, 建立能同时检测硝基呋喃类药物及其代谢物的免疫检测方法, 提高抗体的亲和力, 进而生产出不需要衍生、直接检测的试剂盒。

不论是色谱分析方法、超高效液相色谱法还是免疫分析方法, 都存在一定的局限性, 因此, 在不同的试验条件下应选择不同的分析方法, 一方面从源头上保证产品的安全, 进而保证动物性食品的安全, 维护消费者健康; 另一方面, 期望研制出能同时检测原料和代谢物的试剂盒, 进一步提高我国食品安全水平。

参考文献

- [1] Conneely A, Nugent A, O'Keeffe M, *et al.* Isolation of bound residues of nitrofurans from tissue by solid-phase extraction with determination by liquid chromatography with UV and tandem mass spectrometric detection [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 483: 91–98.
- [2] 祝伟霞, 刘亚风, 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 WX, Liu YF, Liang W. Progress on nitrofurans drug residues in animal-borne food [J]. *Prog Vet Med*, 2010, 31(2): 99–102.
- [3] Pereira AS, Pampana LC, Donato JL, *et al.* Analysis of nitrofurans metabolic residues in salt by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 514: 9–13.
- [4] 吴明媛, 韦信贤, 童桂香, 等. 水产品组织中硝基呋喃类代谢物残留检测方法优化研究[J]. *西南农业学报*, 2016, 29(7): 1750–1754.
Wu MY, Wei XX, Tong GX, *et al.* Optimization study on determination of residual metabolites of nitrofurans in aquatic products [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2016, 29(7): 1750–1754.
- [5] 傅国, 李宁毅. 硝基呋喃类和硝基咪唑类药物的研究进展[J]. *青岛大学医学院学报*, 2003, 39(4): 486–488.
Fu G, Li NY. Research progress of nitrofurans and nitroimidazole drugs [J]. *Acta Acad Med Qingdao Univ*, 2003, 39(4): 486–488.
- [6] Laurensen J, Nouws JF. Simultaneous determination of nitrofurans derivatives in various animal substrates by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1989, 472: 321–326.
- [7] 陈荫楠, 陈华, 石贤爱, 等. 抗呋喃唑酮单克隆抗体的制备及其应用[J]. *食品科学*, 2016, 37(3): 157–163.
Chen YN, Chen H, Ishi Hyeonae, *et al.* Preparation and application of monoclonal antibody against furazolidone [J]. *Food Sci*, 2016, 37(3): 157–163.
- [8] Nouws JF, Laurensen J. Postmortal degradation of furazolidone and furaltadone in edible tissues of calves [J]. *Vet Quart*, 1990, 12(1): 56–59.
- [9] Nouws JF, Vree TB, Aerts MM, *et al.* Some pharmacokinetic data about furaltadone and nitrofurazone administered orally to pre-ruminant calves [J]. *Vet Quart*, 1987, 9(3): 208–214.
- [10] Cooper KM, Kennedy DG. Stability studies of the metabolites of nitrofurans antibiotics during storage and cooking [J]. *Food Addit Contam*, 2007, 24(9): 935–942.
- [11] McCracken RJ, Kennedy DG. The bioavailability of residues of the furazolidone metabolite 3-amino-2-oxazolidinone in porcine tissues and the effect of cooking upon residue concentrations [J]. *Food Addit Contam*, 1997, 14(5): 507–513.
- [12] 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 HW. ELISA detection of residues of the nitro-furan chemicals in the animal products [J]. *Shaanxi J Agric Sci*, 2006, (5): 53–55.
- [13] 徐一平, 胥传来. 动物源食品中硝基呋喃类物质及其代谢物残留的检测技术的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(10): 590–593.
Xu YP, Xu CL. Determination overview on nitrofurans antibiotics and their metabolites residues in animal foods type [J]. *Food Sci*, 2007, 28(10): 590–593.
- [14] Edoute Y, Karmon Y, Roguin A, *et al.* Fatal liver necrosis associated with the use of nitrofurantoin [J]. *Israel Med Assoc J*, 2001, 3(5): 382–385.
- [15] Mcneil EM, Ritchie AM, Melton DW. The toxicity of nitrofurans compounds on melanoma and neuroblastoma cells is enhanced by olaparib and ameliorated by melanin pigment [J]. *DNA Repair*, 2013, 12(11): 1000–1006.
- [16] 刘辉, 梁德沛, 邓幸飞, 等. 食品中硝基呋喃类药物及其代谢物残留检测技术的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(2): 383–386.
Liu H, Liang DP, Deng XF, *et al.* Progress in analytical methods of nitrofurans antibiotics and their metabolites in food: a review [J]. *J Food Saf Qual*, 2013, 4(2): 383–386.
- [17] Nouws JFM, Laurensen J. Postmortal degradation of furazolidone and furaltadone in edible tissues of calves [J]. *Vet Quart*, 1990, 12(1): 56–59.
- [18] 宋娟, 王玉珍, 邓安平. 测定食品中呋喃唑酮代谢物 3-氨基-5-吗啉甲基-2-恶唑烷酮的酶联免疫吸附法[J]. *食品安全质量检测学报*, 2012, 3(2): 77–81.
Song J, Wang YZ, Deng AP. Detection of furaltadone metabolite in food samples by an enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *J Food Saf Qual*, 2012, 3(2): 77–81.
- [19] 陈安珍, 杨钊, 奚玮, 等. 超高效液相色谱-质谱内标法同时测定海洋药用生物中硝基呋喃类代谢物残留量 [J]. *药物分析杂志*, 2013, 33(8): 1385–1389.
Chen AZ, Yang Z, Xi W, *et al.* Simultaneous determination of four nitrofurans metabolites in marine drug organisms by UPLC MS /MS method with internal standard [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(8): 1385–1389.
- [20] 曾春芳, 万译文, 李小玲, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品硝基呋喃类代谢物残留[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2013, 36(5): 46–50.
Zeng CF, Wan YW, Li XL, *et al.* Simultaneous determination of metabolites of nitrofurans residues in aquatic products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Nat Sci Hunan Norm Univ*, 2013, 36(5): 46–50.
- [21] Angelini NM, Rampini D, Mugica H. Liquid chromatographic determination of nitrofurans residues in bovine muscle tissues [J]. *J Aoac Int*, 1997, 80(3): 481–485.
- [22] 葛宝坤, 王云凤, 常春艳. 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 BK, Wang YF, Chang CY. Determination of the pesticide residues of furaltadone, furacilin, nitrofurantoin and furazolidone in chicken, fish, shrimp by SPE- HPLC [J]. *J Instrum Anal*, 2003, 22(5): 91–93.
- [23] 于慧娟, 蔡友琼, 毕士川. 高效液相色谱法测定水产品中呋喃唑酮的残留量[J]. *色谱*, 2005, 23(1): 114.

- Yu HJ, Cai YQ, Bi SC. Determination of furazolidone residue in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2005, 23(1): 114.
- [24] 曹鹏, 耿金培, 尹大路, 等. 高效液相色谱法同时测定饲料中的呋喃唑酮、呋喃西林、呋喃妥因、呋喃它酮药物残留量[J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2010, 41 (3): 424–427.
- Cao P, Geng JP, Yin DL, *et al.* Determination of the pesticide residues of furazolidonum, furacilin, titrofurantoine and furaltadon in feed by HPLC [J]. *J Shandong Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2010, 41 (3): 424–427.
- [25] Sheng LQ, Chen MM, Chen SS, *et al.* High-performance liquid chromatography with fluorescence detection for the determination of nitrofurans metabolites in pork muscle [J]. *Food Addit Contam*, 2013, 30(12): 2114–2122.
- [26] 辛少平, 邓建朝, 杨贤庆, 等. 高效液相色谱法测定硝基呋喃类药物代谢物及其在对虾体内的代谢[J]. *食品科学*, 2014, 35(24): 151–157.
- Xin SP, Deng JZ, Yang XQ, *et al.* Determination of nitrofurans metabolites by high performance liquid chromatography and their metabolism in shrimp [J]. *Food Sci*, 2014, 35(24): 151–157.
- [27] 王传现, 黄帆, 王敏, 等. 液相色谱-串联质谱法检测水产品中残留的硝基呋喃类药物的代谢物[J]. *色谱*, 2013, 31(3): 206–210.
- Wang CX, Huang F, Wang M, *et al.* Determination of metabolite residues of nitrofurans antibiotics in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(3): 206–210.
- [28] Leitner A, Zollner P, Lindner W. Determination of the metabolites of nitrofurans antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 939(1–2): 49–58.
- [29] Pereira AS, Pampana LC, Donato JL, *et al.* Analysis of nitrofurans metabolic residues in salt by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 514(1): 9–13.
- [30] 李耀平, 林永辉, 贾东芬, 等. 水产品中硝基呋喃类药物残留快速检测新方法的研究[J]. *分析测试学报*, 2008, 27(7): 712–717.
- Li YP, Lin YH, Jia DF, *et al.* A research to establish a new quick determination of nitrofurans metabolite residues in aquatic products[J]. *J Instrum Anal*, 2008, 27(7): 712–717.
- [31] Du NN, Chen MM, Sheng LQ, *et al.* Determination of nitrofurans metabolites in shrimp by high performance liquid chromatography with fluorescence detection and liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a new derivatization reagent [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1327: 90–96.
- [32] Chumanee S, Sutthivaiyakit S, Sutthivaiyakit P. New reagent for trace determination of protein-bound metabolites of nitrofurans in shrimp using liquid chromatography with diode array detector [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(5): 1752–1759.
- [33] Douny C, Widart J, Pauw ED, *et al.* Development of an analytical method to detect metabolites of nitrofurans: Application to the study of furazolidone elimination in Vietnamese black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. *Aquaculture*, 2013, s 376–379(8): 54–58.
- [34] 万建春, 王文君, 占春瑞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中硝基呋喃和硝基咪唑类药物残留量[J]. *理化检验-化学分册*, 2015, 51(08):1168–1173.
- Wan JC, Wang WJ, Zhan CR, *et al.* HPLC-MS/MS simultaneous determination of residual amounts of nitrofurans and nitroimidazoles in aquatic products [J]. *Phy Test Chem Anal Part B: Chem Anal*, 2015, 51(08): 1168–1173.
- [35] 蒋翠红. 液相色谱-串联质谱测定水产品中硝基呋喃类药物残留[J]. *南方农业*, 2016, 10(6):166–167.
- Jiang CH. Determination of residual drug residues in aquatic products by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *South China Agric*, 2016, 10(6): 166–167.
- [36] 金铃, 刘少颖, 黄希汇, 等. 浙江省 2013 年市售鲜冻畜禽肉类中硝基呋喃类药物残留分析[J]. *浙江预防医学*, 2015, 27(8): 830–834.
- Jin Q, Liu SY, Huang XH, *et al.* Analysis on the residue of the nitro - residue in fresh frozen meat of animal and poultry in Zhejiang province in 2013 [J]. *Zhejiang J Pre Med*, 2015, 27(8): 830–834.
- [37] 刘柏林, 谢继安, 赵紫微, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中硝基呋喃代谢物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(2): 421–427.
- Liu BL, Xie JA, Zhao ZW, *et al.* Determination of metabolites of nitrofurans in food samples by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(2): 421–427.
- [38] Kaufmann A, Butcher P, Maden K, *et al.* Determination of nitrofurans and chloramphenicol residues by high resolution mass spectrometry versus tandem quadrupole mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 862:41–52.
- [39] 谢云峰, 李少晖, 任丹丹, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中硝基呋喃类药物代谢物[J]. *分析测试技术与仪器*, 2015, (4): 26–31.
- Xie YF, Li SH, Ren DD, *et al.* Determination of nitrofurans metabolites in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Test Technol Instrum*, 2015, (4): 26–31.
- [40] Chadseesuan U, Puthong S, Gajanandana O, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for 1-aminohydantoin detection [J]. *Vet Drug Res*, 2013, 96(3): 680–686.
- [41] Shen JZ, Wang WJ, Xia X, *et al.* Determination of four nitrofurans metabolites and chloramphenicol biological samples using enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Anal Lett*, 2013, 46: 1404–1418.
- [42] Wang Q, Liu YC, Chen YJ, *et al.* Development of a direct competitive chemiluminescent ELISA for the detection of nitrofurantoin metabolite 1-amino-hydantoin in fish and honey [J]. *Anal Meth*, 2014, 6: 4414–4420.
- [43] Shu JH, He LM, Ding HZ, *et al.* Synthesis of furaltadone metabolite, 3-amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidone (AMOZ) and novel haptens for the development of a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [J]. *Anal Meth*, 2014, 6: 2306–2313.
- [44] Le T, Yu H. Determination of 3-Amino-2-oxazolidinone in animal tissue by an enzyme-linked immunosorbent assay and a time-resolved fluoroimmuno assay [J]. *Anal Lett*, 2015, 48: 1275–1284.
- [45] 刘欢, 邢丽红, 宋怿, 等. 水产品中硝基呋喃类药物残留快速检测产品质量分析和评价[J]. *中国渔业质量与标准*, 2013, 3(2): 73–79.
- Liu H, Xing LH, Song Y, *et al.* Evaluation of rapid detection products of nitrofurans metabolites residue in aquatic products [J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2013, 3(2): 73–79.
- [46] 何方洋, 赵正苗, 罗晓琴, 等. 动物组织中呋喃它酮代谢物快速检测试纸条的研制[J]. *食品工业科技*, 2012, 20: 56–59.
- He FY, Zhao ZM, Luo XQ, *et al.* Development of rapid detection strip of furaltadone metabolite residue in animal tissue [J]. *Sci Technol Food Ind*,

- 2012, 20: 56–59.
- [47] 柳爱春, 刘超, 赵芸, 等. 免疫胶体金法快速检测水产品中硝基呋喃代谢物的研究[J]. 浙江农业学报, 2013, 25 (1): 95 –102.
- Liu AC, Liu C, Zhao Y, *et al.* Rapid detection of metabolites of nitro - metabolites in aquatic products by immune colloidal gold method [J]. Acta Agric Zhejiangensis, 2013, 25(1): 95–102.
- [48] Li SQ, Song J, Yang H, *et al.* An immunochromatographic assay for rapid and direct detection of 3-amino-5-morpholino-2-oxazolidone (AMOZ) in meat and feed samples [J]. Res Article, 2014, 94: 760–767.
- [49] 李文玲, 庄松娟, 林洪, 等. 海参呋喃唑酮代谢物胶体金免疫层析检测中的基质效应及消除方法[J]. 中国渔业质量与标准, 2015, 5(6): 35–42.
- Li WL, Zhuang SJ, Lin H, *et al.* Matrix effect and its elimination method in colloidal gold immuno chromatography assay for the detection of the metabolites of sea cucumber [J]. Chin Fish Qual Stand, 2015, 5(6): 35–42.
- [50] 廖峰, 高庆军, 林顺全. 分光光度法测定饲料中的呋喃唑酮[J]. 饲料研究, 2003, 1: 29–30.
- Liao F, Gao QJ, Lin SQ. Determination of furazolidone in feedstuff by spectrophotometry [J]. Feed Res, 2003, 1: 29–30.
- [51] Abjean JP. Planar chromatography for the multiclass, multiresidue

screening of chloramphenicol, nitrofurans and sulphonamide residues in pork and beef [J]. J AOAC Int, 1997, 80(4): 737–740.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



唐红梅, 硕士, 主要研究方向兽药残留的检测与分析。
E-mail: tanghongmei2005@126.com



李成洪, 高级兽医师, 主要研究方向为新兽药研发。
E-mail: lchenghong@126.com