

甲壳类氨基脒的来源及检测方法研究进展

张 祎¹, 余海霞^{2,4}, 陈霞霞^{3*}, 陈雪昌³, 张小军³, 严忠雍³

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 舟山 316022; 2. 浙江大学舟山海洋研究中心, 舟山 316021;
3. 浙江省海洋水产研究所, 浙江省海洋渔业资源可持续利用技术研究重点实验室, 舟山 316021;
4. 浙江大学海洋学院, 舟山 316021)

摘 要:氨基脒(semicarbazide, SEM)作为呋喃西林的代谢产物, 在动物体内能够与蛋白质形成稳定的结合物, 难以代谢完全, 人体摄入后会产生一些毒理作用。通常以氨基脒为检测目标来判别甲壳类水产品中呋喃西林的使用情况, 但根据现有的研究结果发现, 除呋喃西林源氨基脒外, 其他途径也能产生氨基脒, 目前已知的途径包括: 环境摄入、加工过程中使用次氯酸钠消毒、偶氮甲酰胺的分解及内源性氨基脒的存在。在目前我国水产贸易中, 甲壳类水产品中内源性氨基脒的天然存在为呋喃西林药物检测带来了严重的影响和干扰, 致使无法准确地判定氨基脒的来源。因此本文总结了食品中氨基脒的各种可能来源, 并介绍了现行的氨基脒检测方法, 在此基础上进一步预测了有关内源性氨基脒的可能产生途径, 以帮助确定甲壳类水产品中氨基脒的来源途径, 从而准确检测氨基脒。

关键词: 甲壳类水产品; 氨基脒; 来源; 内源性物质

Research progress on the source and detection method of crustacean semicarbazide

ZHANG Yi¹, YU Hai-Xia^{2,4}, CHEN Xia-Xia^{3*}, CHEN Xue-Chang³,
ZHANG Xiao-Jun³, YAN Zhong-Yong³

(1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China; 2. Ocean Research Center of Zhoushan, Zhejiang University, Zhoushan 316021, China; 3. Zhejiang Marine Fisheries Research Institute, Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fishery Resources of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China; 4. Ocean College, Zhejiang University, Zhoushan 316021, China)

ABSTRACT: Semicarbazide (SEM), as a metabolite of nitrofurazone, can form a stable combination with protein in animal body, which is difficult to metabolize completely, and will produce some toxicological effects after ingestion. Semicarbazide is usually used as the detection target to judge the use of nitrofurazone in crustacean aquatic products. However, according to the existing research results, semicarbazide can be produced by other ways besides semicarbazide from nitrofurazone. Currently, the known ways include environmental intake, disinfection with sodium hypochlorite during processing, decomposition of azoformamide and existence of endogenous semicarbazide. In the current aquatic trade in China, the natural existence of endogenous semicarbazide in crustacean aquatic products has brought serious influence and interference to the detection of nitrofurazone, which makes it impossible to accurately determine the source of semicarbazide. Therefore, this paper summarized various possible sources of semicarbazide

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901787)、浙江省海洋水产研究所自选项目(HYSZX202104)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31901787), and the Optional Project of Zhejiang Marine Fisheries Research Institute (HYSZX202104)

***通信作者:** 陈霞霞, 工程师, 主要研究方向为水产品加工与质量安全。E-mail: 1551942341@qq.com

***Corresponding author:** CHEN Xia-Xia, Engineer, Zhejiang Marine Fisheries Research Institute, No.28, Tiyu Road, Lincheng Street, Dinghai District, Zhoushan 316021, China. E-mail: 1551942341@qq.com

in food, and introduced the current detection methods of semicarbazide. On this basis, further predicted the possible production pathways of endogenous semicarbazide, to help determine the source pathways of semicarbazide in crustacean aquatic products and accurately detect semicarbazide.

KEY WORDS: crustacean aquatic products; semicarbazide; source; endogenous substance

0 引言

氨基脒又名氨基甲酰肼,是硝基呋喃类抗生素中呋喃西林的稳定代谢物,具有神经毒性和生理毒性^[1],通常用来反映呋喃西林药物的残留状况^[2]。呋喃西林(nitrofurazone)是一种合成的具有 5-硝基呋喃环基团的抗菌剂,能干扰细菌的糖代谢和氧化酶系统,常添加在畜牧饲料中,用于治疗哺乳动物和水产养殖中的细菌性疾病^[3]。呋喃西林进入养殖动物体内后,可以在弱酸性条件下迅速分解形成氨基脒^[4],从而与蛋白质结合形成难以代谢的残留物^[5]。由于呋喃西林价格低廉,抗菌效果显著,因此许多养殖户选择使用此类药物。近年来,因发现这些代谢物具有潜在的致畸性、诱变性、致癌性,欧盟、美国等国家已明令禁止在食品工业使用此药物,中国也将呋喃西林列为禁用药^[6]。

此前普遍将氨基脒残留认为是养殖户滥用呋喃西林类药物,但是近年来根据养殖户的反映,他们并未在养殖过程中使用呋喃西林,而且在海捕水产品中也发现了氨基脒的存在。目前大多数研究表明甲壳类水产品中有内源性氨基脒的存在。在 2004 年,SAARI 等^[7]首次提出了甲壳类动物可能自然产生氨基脒的报道,其在以小龙虾为研究对象的实验中发现氨基脒并非来自养殖过程中呋喃西林药物的使用。因此,理清氨基脒的来源并对水产品中氨基脒的产生机制进行研究对我国水产养殖业至关重要,也为评价呋喃西林的非法滥用提供重要线索。本文针对甲壳类水产品中氨基脒的不同来源进行了总结,概述了有关氨基脒来源的研究现状及现行检测方法,以期对甲壳类水产品中氨基脒的检测提供理论来源。

1 甲壳类水产品中氨基脒的来源

现如今,大部分国家通过检测呋喃西林代谢物来确定在养殖过程中是否非法添加了呋喃西林。然而,许多研究者认为氨基脒不能作为使用呋喃西林的证据,因为氨基

脒不只能从这种有机物质中提取出来,还可能来自自然环境、食物摄入、加工过程及自身的内源性氨基脒等^[8-10]。

1.1 养殖过程中非法使用呋喃西林药物

随着水产养殖业迅速发展,一些养殖户为了降低疾病发生率,获得更大的经济利益,选择使用抗菌效果好且价格低廉的呋喃西林。呋喃西林代谢后产生氨基脒可在体内形成稳定的蛋白结合体而长时间存在^[11]。

丁春燕^[12]对 200 批次德清县内养殖的青虾进行了测定,呋喃西林添加量 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$,检出氨基脒批次达 128 批,检出率高达 64%,检出浓度为 1.59~14.85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。CHU 等^[13]通过给鲢鱼喂食一定剂量的硝基呋喃类药物,2 h 后在鱼体肌肉中测得呋喃西林药物,在 12 h 发现峰值水平为 104 $\mu\text{g}/\text{kg}$,随后呋喃西林迅速代谢,24 h 时测得呋喃西林代谢物氨基脒含量为 31.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,96 h 时,药物浓度低于检出限 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。呋喃西林的代谢物质氨基脒性质稳定,能在动物体内长期存在,并且在给药后的第 56 d 仍可测得。大量研究表明^[14-16],硝基呋喃类药物在进入动物体会后迅速代谢分解。硝基呋喃类药物在体内减少的同时,其代谢物与蛋白质结合并积累起来,这些代谢结合产物在体内非常稳定,即使停药数天后也可以在动物体内检测到。黄宣运等^[17]以中华绒螯蟹为对象分析了呋喃西林主要代谢物氨基脒在其体内的残留及消除情况,将中华绒螯蟹分别浸泡在 20 和 80 mg/L 的呋喃西林溶液中,在不同时间进行取样分析,停药 2 h 时,蟹肌肉、肝胰腺和鳃中氨基脒达高峰,80 mg/L 的测定值分别为 (327 $\pm$ 31.2)、(372 $\pm$ 27.2)、(4623 $\pm$ 247) $\mu\text{g}/\text{kg}$,20 mg/L 的测定值(152 $\pm$ 21.7)、(234.0 $\pm$ 12.0)、(3160 $\pm$ 169) $\mu\text{g}/\text{kg}$;停药 2 h 后,开始逐渐呈现消除状态,停药 960 h 后,2 个不同浓度的试验组检测出氨基脒残留量均低于 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

根据现有文献^[18-20],水生动物摄入含有呋喃西林的食物后,无法实现完全代谢,代谢物氨基脒会残留在动物源性食品中,人食用后会在体内产生积累,从而产生毒副作用。图 1 简要描述了呋喃西林代谢过程及其结构。

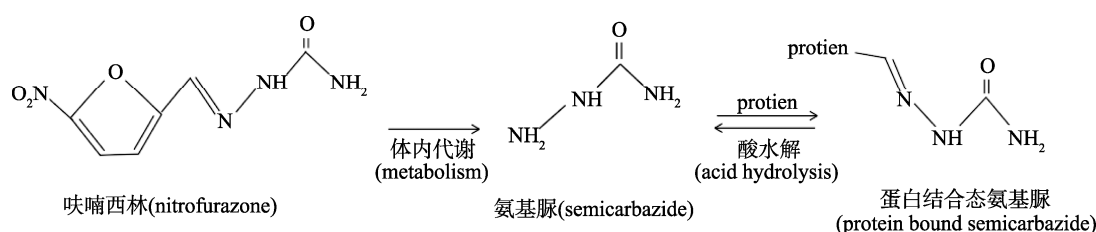


图 1 呋喃西林源代谢途径

Fig.1 Metabolism pathway of nitrofurazone source

1.2 从生存环境或食物中摄入氨基脲

根据现有研究, 养殖水体或自然环境存在的氨基脲部分可能来自人类活动。KWON^[21]指出一些混合培养的养殖户, 在养殖过程中使用家禽垫料给池塘进行施肥, 一些家禽从出生可能就喂了抗生素药物饲料, 从而使养殖水体中存在氨基脲。在我国一些近岸海域, 由于水源受到人类经济活动的影响而检出氨基脲。田秀惠^[22]对山东省金城湾、四十里湾和莱州湾西部 3 个水域水质、沉积物和贝类中的氨基脲做了检测, 3 个水域的沉积物中均未发现氨基脲残留, 水质中氨基脲质量浓度在 0.011~0.093 μg/L, 贝类中氨基脲质量浓度在 0~0.75 μg/kg。在其另一篇文献中^[23], 对莱州湾西部近海区域做了调查研究, 这些氨基脲主要来自农田废水、日常用水和工业废水, 在每年的雨季, 水生动物活跃, 因此可能会有更多的呋喃西林被用于水产养殖中, 使氨基脲被雨水冲刷到海中。氨基脲具有高亲水性, 沉积物中的解吸能力远远大于吸附能力, 从而使氨基脲难以通过沉降作用与颗粒结合。贝类可从环境中累积氨基脲, 并且随着海水中氨基脲浓度的增加而增加。徐英江等^[24]对山东潮河河口区水体、沉积物和贝类中的氨基脲状况进行了研究, 发现调查区域水体中氨基脲质量浓度为 0.18~70.6 μg/L、沉积物中氨基脲质量浓度为 0.26~18.9 μg/kg, 贝类中氨基脲的质量浓度在 0.82~6.46 μg/kg, 对比其他流域发现, 氨基脲在潮河河口附近的浓度呈现放射性递减, 这表明潮河的污水排放是氨基脲污染的重要污染源。朱暖飞等^[25]对江苏镇江水域和附近土壤中的氨基脲残留进行了调查, 发现镇江地区的 2 条主要支流玉带河与团结河附近在无水产和畜禽养殖厂的情况下均检出了氨基脲残留, 质量浓度分别为 0.431 和 1.325 μg/L, 团结河附近土壤氨基脲含量为 0.205 μg/kg。推测氨基脲是通过食物链进入人体后又随生活污水进入环境当中。相关数据见表 1。

其次, 水生动物通过在自然环境中摄食一些藻类或人工喂食饲料的情况下会引入氨基脲, 例如红藻、褐藻类等作为天然食物被水产动物食用后会在体内产生氨基脲残

留。田秀惠^[22]对山东省金城湾、四十里湾和莱州湾西部的优势藻种月菱形藻、扁藻和叉鞭金藻中的氨基脲进行了测定, 发现氨基脲在藻类中有很强的富集能力, 富集系数在 145.3~200.0。

1.3 加工过程中形成的氨基脲

1.3.1 次氯酸钠消毒产生氨基脲

次氯酸钠(sodium hypochlorite)是一种常见的杀毒剂, 价格低廉, 活性强, 杀菌效果好, 广泛用于食品加工行业^[26]。次氯酸钠的杀菌机理是利用通过水解形成的次氯酸进行消毒, 而次氯酸钠在水的作用下会进一步形成活性物质, 使蛋白质分解, 从而达到杀死病原微生物的作用^[27]。经次氯酸钠处理后的部分产品, 会产生氨基脲残留^[28]。

HOENICKE 等^[29]用不同浓度的次氯酸钠溶液处理北海虾、鸡肉、红藻等样品, 结果显示, 用含 0.015%和 0.05%有效氯的次氯酸钠溶液处理的样品, 只在蛋白粉、卡拉胶和淀粉中发现有少量的氨基脲形成, 其他样品并没有明显变化; 用含 1%有效氯的次氯酸钠溶液处理各种含氮物质样品时, 均产生了氨基脲, 其中淀粉和蛋白粉中氨基脲含量分别约 1 和 20 μg/kg; 王建^[30]通过研究次氯酸钠处理南美白对虾、三疣梭子蟹和哈氏仿对虾时发现空白组肌肉未检出氨基脲, 经过次氯酸钠处理后, 氨基脲的含量随次氯酸钠浓度的增大而增加, 在次氯酸钠浓度达到 12%时, 南美白对虾中氨基脲含量为 34.54 μg/kg, 三疣梭子蟹中氨基脲含量为 110.73 μg/kg, 哈氏仿对虾中氨基脲含量为 166.91 μg/kg; 且根据研究发现氨基脲的含量随次氯酸钠浓度的升高而增多。杨曦等^[31]对罗非鱼片和虾仁中的氨基脲含量与次氯酸钠之间的关系做了调查, 发现氨基脲的残留量与消毒水的浓度成正比, 用含 1%的消毒水处理罗非鱼片和虾仁时, 氨基脲残留量分别达 3.39、6.05 μg/kg; 用浓度为 3%的消毒水处理时, 氨基脲残留量分别为 8.31 和 124 μg/kg。ZHANG 等^[32]研究了加热和次氯酸盐处理对水产品中氨基脲浓度的影响, 结果表明, 热处理对梭子蟹的影响更明显, 梭子蟹壳样品的氨基脲最大值为 15.48 μg/kg, 而肌

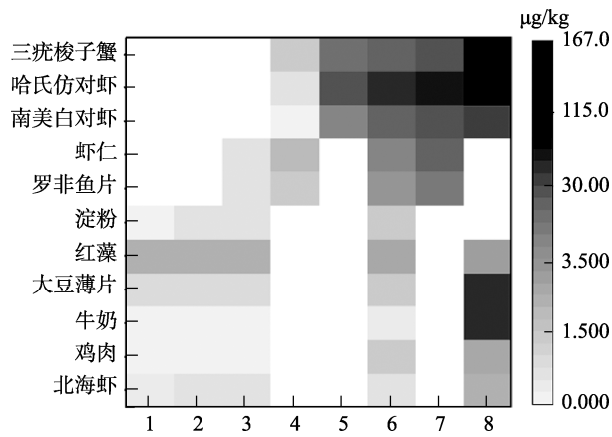
表 1 不同流域水、沉积物及贝类 SEM 残留量
Table 1 SEM residues of water, sediment and shellfish in different watersheds

水域	水中 SEM 残留量/(μg/L)	沉积物 SEM 残留量/(μg/kg)	贝类中 SEM 残留量/(μg/L)
山东莱州湾西部 ^[22]	0.028~0.085	-	0.17~0.68
山东四十里湾 ^[22]	0.011~0.082	-	0~0.67
山东莱州金城湾 ^[22]	0.023~0.093	-	0.31~0.75
山东潮河河口 ^[24]	0.18~70.6	0.26~18.9	0.82~6.46
山东潮河邻近海域 ^[24]	6.34±6.11	0.89±0.60	2.98±1.97
烟台牟平养马岛附近海域 ^[24]	0.0042±0.0015	-	-
江苏镇江玉带河 ^[25]	0.431	-	/
江苏镇江团结河 ^[25]	1.325	0.205	/

注: -代表未检出氨基脲; /代表未做检测。

肉样品的氨基脒水平不受加热时间的影响。随着活性氯浓度的增加,在次氯酸盐浓度达到 6%时,南美白对虾和哈氏仿对虾的氨基脒含量分别在 196.4 和 39.9 $\mu\text{g/kg}$ 时达到最高值,而三疣梭子蟹在次氯酸盐浓度达到 12%时氨基脒含量最高,为 110.8 $\mu\text{g/kg}$ 。图 2 对上述数据进行了整合,次氯酸盐处理后不同物种的 SEM 残留情况如图 2 所示。

氨基脒是由胍与异氰酸酯反应产生的。HOENICKE 等^[29]假设它是由含有氨基或脒基残基的含氮物质降解形成的,如精氨酸、组氨酸、瓜氨酸、肌酐或肌酸。次氯酸钠与氨和酸性酰胺反应可形成胍和异氰酸酯。此外,尿素与氯胺的反应可以形成氨基脒,这可能来源于次氯酸盐与氨的反应。



注: 1-不使用次氯酸盐处理; 2-0.015%次氯酸盐处理; 3-0.05%次氯酸盐处理; 4-0.1%次氯酸盐处理; 5-0.5%次氯酸盐处理; 6-1%次氯酸盐处理; 7-3%次氯酸盐处理; 8-12%次氯酸盐处理。

图 2 次氯酸盐处理后不同物种的 SEM 残留情况

Fig.2 SEM residues of different species after hypochlorite treatment

1.3.2 加工过程中偶氮甲酰胺产生氨基脒

偶氮甲酰胺(azodicarbonamide, ADC)是一种新型食品添加剂,是钾的理想代替品,可用于增加面粉团的强度和柔韧性^[33]。目前各个国家对其有不同的要求,我国允许 ADC 作为食品添加剂的最大添加量为 45 mg/kg 。近年来,许多研究已经报道了 ADC 是面粉和面粉制品中氨基脒污染的来源^[34-35]。

胡荷等^[36]对江西省市场销售的面制品进行了氨基脒污染监测分析,在市场销售的 120 个面制样品中,共有 47 份检测出含有氨基脒,饼干、蛋糕中均有少量检出,检出率分别为 8.6%和 5.7%,面包的氨基脒阳性检出率最高,为 84%,氨基脒含量为 139~1288 $\mu\text{g/kg}$ 。阮莎莎等^[37]从深圳市各大超市及市场采集了 500 份面粉及面制品来监测偶氮甲酰胺及其分解转化产物联二脒、氨基脒的含量,其中面条和西式面点中氨基脒浓度相对较高,面条样品中氨基脒的检出样主要集中在湿面条和方便面,检出含量分别为 0.25~194.50 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.25~12.48 $\mu\text{g/kg}$,西式面点中氨基脒检出量为 0.25~1100 $\mu\text{g/kg}$ 。相关数据见表 2。

研究表明,在面粉中加入 ADC 后,经过高温焙烤后面

粉中的 ADC 会分解生成氨基脒^[38]。关于形成机理,PEREIRA 等^[39]对经过 ADC 处理过的面粉进行分析,发现面粉中能检出氨基脒,其含量为 2.2~5.2 $\mu\text{g/kg}$ 不等。为了证实面粉中氨基脒的污染来源于 ADC 这一假说,作者在不含氨基脒的面粉中添加了 10 $\mu\text{g/kg}$ 的 ADC 进行检测,结果发现所有的样品中均能检测到氨基脒的存在,氨基脒水平在 12 $\mu\text{g/kg}$ 左右,转化率为 0.1%。因此推测,ADC 面粉中添加 ADC 后,在有水的条件下会先降解为联二脒,联二脒再经过两步水解反应转化为氨基脒。BECALSKI 等^[40]发表的一项研究结果证明,用含 ADC 面粉烘烤的面包中能检测出大量的氨基脒,其转化率远高于由 PEREIRA 等发现 ADC 在室温下反应的 0.1%的转化率。在不经加热含 ADC 面粉中其氨基脒水平为 3 $\mu\text{g/kg}$ 左右,与 PEREIRA 等的分析结果一致。综上所述,使用含 ADC 的面粉制品作为甲壳类水产品的裹粉原料,会导致其产生氨基脒污染和残留。

表 2 偶氮甲酰胺在食品中产生氨基脒的情况
Table 2 Production of semicarbazide in food by azodicarbonamide

样品	SEM 检出率 /%	SEM 浓度范围 /($\mu\text{g/kg}$)
面包 ^[36]	84.00	139~1288
蛋糕 ^[36]	8.60	26~140
饼干 ^[36]	5.70	23~35
面粉 ^[37]	10.40	0.25~9.24
面条 ^[37]	20.00	0.25~194.50
中式面点(馒头、油条、包子等) ^[37]	8.67	0.25~29.40
西式面点 ^[37]	71.67	0.25~1100.00

1.4 甲壳类水产品中的内源性氨基脒

近年来,一些研究报告称,在许多不喂食呋喃西林的甲壳类水生动物中检出了氨基脒,特别是虾中检出率很高。但如此高的比率并不全是由于非法使用了呋喃西林,研究发现虾本身能产生氨基脒。内源性氨基脒的存在给呋喃西林药物的检测带来了严重的假阳性问题。同样,在不同天然水域捕获的虾蟹在未加工的情况下都检测到了氨基脒的存在,推测是内源性氨基脒的存在^[41]。

舒秀君等^[42]以日本沼虾为研究对象,得出了沼虾中的氨基脒以“游离态”和“结合态”2 种形式存在。POUCKE 等^[43]对来自不同水域和品种的斑节对虾(*Penaeus monodon*)、锯缘青蟹(*Scylla serrata*)、梭子蟹(*Portunus pelagicus*)等进行了形态分析,发现氨基脒在这些样品中普遍存在,且主要是以蛋白结合态存在于甲壳中。MCCRACKEN 等^[44]在孟加拉的 29 个不同水域收集了野生罗氏沼虾,研究其中氨基脒的自然产生情况,结果表明 65%的肉样品中检测到氨基脒(<1.01 g/kg),壳中氨基脒浓度高出肉类约 100 倍,并且与取样位置无关。在肉类中,大

部分氨基脲与表面相关,当虾被剥去壳后,一些表皮层留在壳里,一些留在肉里,从而导致虾表面的天然氨基脲含量不同。ZHANG 等^[32]对中国浙江地区虾蟹类体内肌肉和甲壳中氨基脲进行检测分析,研究了水生甲壳动物中内源氨基脲的存在和分布,发现各种虾和蟹类物种的肌肉、壳和内脏的氨基脲含量在 0.35~26.62 ng/g 范围内变化。彭捷等^[45]以中华绒螯蟹肌肉、肝脏、腮、性腺等组织为研究对象,分析了氨基脲在上述组织中的残留情况,在肌肉、性腺和鳃中几乎没有检出氨基脲,而蟹壳中氨基脲检出率为 100%。这证实甲壳类水产品中存在内源性氨基脲,且蟹壳可能是内源性氨基脲的主要来源。

2 内源性氨基脲产生机理的研究现状

目前在内源性氨基脲的产生机理及合成途径方面的研究已经有了一些初步进展。现有研究表明,内源性氨基脲可能是由含氮物质产生的^[46]。

彭捷等^[45]验证了氨基脲作为内源性物质存在于中华绒螯蟹中,且壳中的氨基脲并非源自甲壳素,可能与壳中结合蛋白水解氨基酸变化有关。早在 2014 年,HOENICKE 等^[29]就假设氨基脲是由含氮物质(如精氨酸、组氨酸、瓜氨酸、尿素和肌酐)与酰胺或尿素基团降解形成的。CREWS^[47]也表明,当石楠花粉中精氨酸含量突然增加时,蜂蜜中氨基脲的含量也急剧上升。同样,NOONAN 等^[34]证实精氨酸是甲壳类动物中最丰富的氨基酸。他们还推测精氨酸可能与甲壳动物内源性氨基脲的形成有关。精氨酸含有胍基和酰胺基,参与尿素循环,精氨酸酶可将其水解为鸟氨酸和尿素。尿素和氨基脲在结构上有一定的相似性。ABERNETHY^[48]认为,在含尿素化合物的食品中,部分氨基脲可能是在酸性条件下形成的。由此推测,尿素循环过程与氨基脲的生成存在潜在的关系。

YU 等^[49]以凡纳滨对虾为研究对象,研究对虾内源性氨基脲的生物合成途径。为达到这一目的,对其氨基脲含量、氨基酸含量和尿素循环相关物质含量进行了测定。通过对整个生长周期中氨基脲和氨基酸含量变化的检测,精氨酸可能是内源性氨基脲的潜在前体。结合尿素循环中主要物质的变化分析,内源性氨基脲的形成与精氨酸的酰胺基及瓜氨酸和尿素的酰胺结构密切相关。

3 氨基脲检测技术

关于呋喃西林及其代谢物的检测,国内外一直有相关研究的报道^[50-53]。目前以呋喃西林代谢特征产物氨基脲为检测对象最常用的检测方法有高效液相色谱法^[54-55]、液相色谱-串联质谱法^[56-57]、免疫分析法^[58-59]等。表 3 列出了相关应用数据。

3.1 高效液相色谱法

高效液相色谱具有检测灵敏度高,标准性和可靠性好

的优点,并且可以有效分离和纯化有机化合物,在药物残留检测方面应用广泛。TANG 等^[60]以鱼为研究对象,建立了分子印迹搅拌棒吸附萃取-高效液相色谱-紫外联用测定氨基脲的方法,相关系数为 0.9985,检出限约为 0.59 ng/mL,低于欧盟规定的肉制品中氨基脲的最低性能限值。KONG 等^[61]采用高效液相色谱-荧光法(high performance liquid chromatography-fluorescence detection, HPLC-FLD)对面包、虾和猪肉中的氨基脲进行了测定,在 10、50、100 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平下,将加标样品的回收率进行了比较,加标回收率为 86.7%~96.4%,线性相关系数为 0.995,准确度为 94.42%~106.78%。WANG 等^[62]采用高效液相色谱-荧光检测方法对鱼和面包中的氨基脲进行了测定,鱼肉中的回收率在 96.6%~98.7%,面包的回收率在 97.9%~100.4%,检出限为 0.15 $\mu\text{g/kg}$ 。

3.2 液相色谱-串联质谱法

将色谱和质谱联用,以色谱为分离系统,质谱为检测系统,可以实现对复杂体系进行定性和定量分析。串联质谱的方法应用了两级质谱法,第一级分离感兴趣的离子,第二级通过在碰撞过程中产生的碎片谱来表示其特征。PIERRE 等^[63]建立了肉类和水产品中硝基呋喃代谢物的液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)鉴定方法,准确度范围为 86.5%~103.7%,精密度范围为 2.0%~6.5%。检出限范围为 0.032~0.233 $\mu\text{g/kg}$ 。刘琴芳^[64]采用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)测定面粉制品中的氨基脲,氨基脲的加标回收率为 95.5%~101.1%,检出限为 0.25 $\mu\text{g/kg}$,相对标准偏差小于 10%。WU 等^[65]采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)分析了鱼类中的基呋喃代谢物回收率为 64.6%~75.8%,检出限为 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 。目前,液相色谱和串联质谱已经成为水产品中硝基呋喃类代谢物残留量测定常用的方法,随着超高效液相色谱的出现,检测过程效率更高,灵敏度也有了大的提升。

3.3 免疫分析法

免疫分析方法反应灵敏度高,特异性和精密度都比较好,可在较短的检测时间对大量样品进行批量分析,已成为目前最有效的初筛技术手段^[15]。酶联免疫方法是目前最常用的药物残留检测手段之一,它主要是在聚苯乙烯等固相载体的表面进行抗原抗体的特异性结合。固体载体可将酶与抗原抗体有效结合,从而提高反应效率。

徐冬梅等^[66]建立动物源性食品中呋喃西林代谢物酶联免疫吸附测定方法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA),结果表明该检测方法的检测灵敏度为 0.03 mg/kg,在 0.03~2.43 mg/L 范围内呈线性,鱼肉组织样本、虾肉组织样

本的检测限分别为 0.236、0.229 $\mu\text{g/kg}$, 回收率均在 75%~120% 之间。柳爱春等^[67]建立了水产品中硝基呋喃代谢物胶体金免疫分析法快速检测方法, 对氨基脒、5-甲基吗啉-3-氨基-2-噻烷基酮和 1-氨基-乙内酰脲的最低检出限为 1.0 $\mu\text{g/kg}$, 并与 LC-MS/MS 法的检测结果对比, 符合率为 98%。

尽管研究者已经开发了多种呋喃西林的检测方法, 也有较高的灵敏度及准确度, 但依旧无法解决呋喃西林检测假阳性的问题。一些学者为避免和生物体内自有的氨基脒相混淆, 探究了呋喃西林的其他代谢物质, 结构图如图 3 所示。WANG 等^[68]以 2,4-二硝基苯胍衍生化糠醛为内标, 建立了一种以 5-硝基-2-糠醛为替代物的超高效液相色谱-串联质谱测定方法, 对养殖虾中呋喃西林进行检测及定量, 平均回收率在 80.8%~104.4%, 检出限为 0.05 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 。ZHANG 等^[69]以 2,4-二硝基苯胍和对二甲基氨基苯甲醛为内标进行了预柱化, 从而确定了生物标记物 5-硝基-2-糠醛, 结果表明, 以对二甲基氨基苯甲醛为内标用于复杂生物样品中呋喃西林代谢物的鉴定和定量, 平均回收率为 86.3%~103.1%, 5-硝基-2-糠醛衍生物的检出限和定量限分别为 0.1 和 0.2 ng/g , 相对标准偏差<6.02%, 精密度高。

4 结束语

根据现有的研究表明, 在对水产食品中的氨基脒进行检测时, 要考虑到氨基脒是在加工过程中形成的还是环境

污染物或反应产物, 此外还应考虑甲壳类水产品中内源性氨基脒的存在。不能单以氨基脒作为非法使用抗生素呋喃西林的标志物, 这样容易造成误判, 导致不必要的损失。因此, 我们应考虑所有已知/天然来源的氨基脒, 然后再断定食品中氨基脒的存在是不是呋喃西林的滥用。对于甲壳类水产品中氨基脒残留的问题, 我国标准规定食品中氨基脒含量不得超过 0.5 $\mu\text{g/kg}$, 欧盟标准为不超过 1.0 $\mu\text{g/kg}$, 各国缺乏统一标准。致使相关的检测机构不能合理判断是否为呋喃西林滥用, 很难做到有效地监管。因此, 建立一种全球统一的食物安全管理方法, 优化检测氨基脒含量的方法, 研究氨基脒的形成途径, 修订相关的限量标准, 从而能有效控制甲壳类水产品中氨基脒污染, 排除水产品贸易中假阳性的干扰。

虽然国内外已研究出了一系列相关氨基脒的检测方法, 但基本都是利用色谱进行定量检测, 无法识别样品中的氨基脒是内源性还是呋喃西林代谢来的。目前对内源性氨基脒生物合成途径的研究仍处于推断阶段, 国内外虽已有相关研究表明甲壳类水产品中存在内源性氨基脒, 但暂未找到其完整的产生机理及路径。针对当前这种情况, 深入开展甲壳类水产品中氨基脒来源途径与内源性氨基脒验证的研究是十分有必要的, 可以使我们从源头上区分内源性氨基脒, 解决假阳性问题带来的困扰, 同时为将来甲壳类水产品中氨基脒残留限量的标准化提供相关数据。

表 3 氨基脒检测技术的应用
Table 3 Application of semicarbazide detection technologies

样品	方法	初始浓度	添加量/($\mu\text{g/kg}$)	回收率/%	检测限/($\mu\text{g/kg}$)	参考文献
鱼	超高效液相色谱-紫外线法 (ultra performance liquid chromatography-ultra-violet ray, UPLC-UV)	7.4	5.9~23.6	96.2~105.1	0.59	[60]
鱼	高效液相色谱-荧光法(high performance liquid chromatography-fluorescence detection, HPLC-FLD)	-	5~50	86.7~94.4	0.18	[61]
猪肉	HPLC-FLD	-	5~50	88.7~93.9	0.18	[61]
面包	HPLC-FLD	19.4	10~100	92.3~96.4	0.18	[61]
虾	HPLC-FLD	4.3	5~50	93.6~95.3	0.18	[61]
方便面	HPLC-FLD	36.4	10~100	92.2~94.6	0.18	[61]
鱼	HPLC-FLD	-	10~100	96.6~98.7	0.15	[62]
面包	HPLC-FLD	-	10~100	97.9~100.4	0.15	[62]
肉和水产品	液相色谱-串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)	-	-	86.5~108.2	0.032~0.233	[63]
面制品	高效液相色谱-串联质谱法 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)	-	0.5~2.0	95.5~101.1	0.25	[64]
鱼肉	酶联免疫吸附测定方法 (enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)	-	0.03~2.43	75~120	0.236	[66]
虾肉	ELISA	-	0.03~2.43	75~120	0.229	[66]

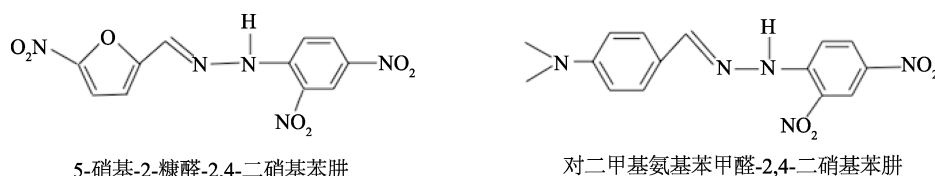


图 3 呋喃西林其他代谢标志物

Fig.3 Other metabolic markers of nitrofurazone

参考文献

- [1] YU M, FENG Y, ZHANG X, *et al.* Semicarbazide disturbs the reproductive system of male zebrafish (*Danio rerio*) through the gabaergic system [J]. *Reprod Toxicol*, 2017, 73: 149–157.
- [2] POINTS J, BURNS DT, WALKER MJ. Forensic issues in the analysis of trace nitrofurazone veterinary residues in food of animal origin [J]. *Food Control*, 2015, 50: 92–103.
- [3] MULDER PPJ, BEUMER B, VAN RHIJN JA. The determination of biurea: A novel method to discriminate between nitrofurazone and azodicarbonamide use in food products [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 586(1-2): 366–373.
- [4] 曹爱玲, 陈怡琳, 蔡路昀, 等. 不同烘干温度对甲壳类水产品中氨基脒检出量的影响[J]. *中国动物检疫*, 2020, 37(1): 94–99.
- CAO AL, CHEN YL, CAI LY, *et al.* The effects of different drying temperatures on the detectable amount of semicarbazide in crustacean aquatic products [J]. *China Anim Heal Inspect*, 2020, 37(1): 94–99.
- [5] LEITNER A, ZÖLLNER P, LINDNER W. Determination of the metabolites of nitrofurazone antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 939(1/2): 49–58.
- [6] 中华人民共和国农业部公告. 中华人民共和国农业部公告第 560 号 [EB/OL]. [2005-10-28]. http://www.moa.gov.cn/gk/zcfg/nybgz/200806/t20080606_1057240.htm [2020-12-26].
- Announcement of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Announcement No.560 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2005-10-28]. http://www.moa.gov.cn/gk/zcfg/nybgz/200806/t20080606_1057240.htm [2020-12-26].
- [7] SAARI L, PELTONEN K. Novel source of semicarbazide: Levels of semicarbazide in cooked crayfish samples determined by LC/MS/MS [J]. *Food Addit Contam A*, 2004, 21(9): 825–832.
- [8] STADLER RH, VERZEGNASSI L, SEEFELDER W, *et al.* Why semicarbazide (SEM) is not an appropriate marker for the usage of nitrofurazone on agricultural animals [J]. *Food Addit Contam A*, 2015, 32(11): 1842–1850.
- [9] JOHN J, RANDOLPH D, MICHAEL W, *et al.* Investigating the suitability of semicarbazide as an indicator of preharvest nitrofurazone use in raw chicken [J]. *J Food Prot*, 2020, 83(8): 1368–1373.
- [10] YU WL, LIU WH, TIAN WR, *et al.* Semicarbazide universality study and its speculated formation pathway [J]. *J Food Saf*, 2019, 39(1). DOI: 10.1111/jfs.12591
- [11] 王鼎南, 周凡, 李诗言, 等. 甲壳类水产品中呋喃西林代谢物氨基脒的本底调查及来源分析[J]. *中国渔业质量与标准*, 2016, 6(6): 6–11.
- WANG DN, ZHOU F, LI SY, *et al.* Background value survey and source analysis of semicarbazide in shellfish [J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2016, 6(6): 6–11.
- [12] 丁春燕. 青虾中硝基呋喃代谢物残留的检测研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2019.
- DING CY. Study on the determination of nitrofurazone metabolite residues in green shrimp [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2019.
- [13] CHU PS, LOPEZ MI, ABRAHAM A, *et al.* Residue depletion of nitrofurazone drugs and their tissue-bound metabolites in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) after oral dosing [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(17): 8030–8034.
- [14] MCCracken RJ, KENNEDY DG. Determination of the furazolidone metabolite, 3-amino-2-oxazolidinone, in porcine tissues using liquid chromatography-thermospray mass spectrometry and the occurrence of residues in pigs produced in Northern Ireland [J]. *J Chromatogr B*, 1997, 691(1): 87–94.
- [15] NOUWS JFM, LAURENSEN J. Postmortem degradation of furazolidone and furaltadone in edible tissues of calves [J]. *Vet Quart*, 2011, 12(1): 56–59.
- [16] HOOGENBOOM LAP, VAN BRUCHEM GD, SONNE K, *et al.* Absorption of a mutagenic metabolite released from protein-bound residues of furazolidone [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2002, 11(3-4): 273–287.
- [17] 黄宣运, 沈晓盛, 黄冬梅, 等. 室外池塘自然养殖条件下呋喃西林代谢物在中华绒螯蟹体内残留和消除规律[J]. *海洋渔业*, 2017, 39(6): 674–681.
- HUANG XY, SHEN XS, HUANG DM, *et al.* Elimination rules of nitrofurazone metabolite residue in *Eriocheir sinensis* cultured in outdoor ponds [J]. *Mar Fish*, 2017, 39(6): 674–681.
- [18] YUE ZH, YU M, ZHANG XN, *et al.* The anti-androgenic effect of chronic exposure to semicarbazide on male Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and its potential mechanisms [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2018, 210: 30–34.
- [19] 丁军伟, 邓建朝, 杨贤庆, 等. 4 种硝基呋喃类代谢物在青石斑鱼肌肉中的富集与消除规律[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(1): 60–67.
- DING JW, DENG JC, YANG XQ, *et al.* Accumulation and elimination of four nitrofurazone metabolites in muscle of grouper *Epinephelus awoara* [J]. *South China Fish Sci*, 2018, 14(1): 60–67.
- [20] 贺永健, 刘瑞菁, 刘焕, 等. 氨基脒诱导的大鼠神经行为毒性及其生化机制[J]. *中国环境科学*, 2018, 38(12): 4713–4719.
- HE YJ, LIU RJ, LIU H, *et al.* The neurobehavioral toxicity and biochemical mechanism of semicarbazide in rats [J]. *China Environ Sci*, 2018, 38(12): 4713–4719.
- [21] KWON JW. Semicarbazide (SEM): Natural occurrence and uncertain evidence for its formation from food processing [J]. *Food Control*, 2017, 72: 268–275.
- [22] 田秀慧. 山东北部三个典型养殖海湾氨基脒的时空分布及对刺参的生物毒性效应研究[D]. 烟台: 中国科学院大学(中国科学院烟台海岸带研究所), 2018.
- TIAN XH. Temporal and spatial distribution of semicarbazide and its biological toxicity to sea cucumber *Apostichopus japonicus* in three typical cultured bays of northern Shandong province [D]. Yantai: University of Chinese Academy of Sciences (Yantai Institute of Coastal

- Zone, Chinese Academy of Sciences), 2018.
- [23] TIAN XH, XU YJ, SONG XK, *et al.* Temporal and spatial distribution of semicarbazide in western Laizhou bay [J]. *Mar Pollut Bull*, 2016, 112(1-2): 393–398.
- [24] 徐英江, 孙玉增, 宋秀凯, 等. 潮河口邻近海域氨基脒污染现状调查研究[J]. *海洋与湖沼*, 2010, 41(4): 538–542.
- XU YJ, SUN YZ, SONG XK, *et al.* Survey of semicarbazide contamination in coastal waters adjacent to the Chaohe river estuary [J]. *Oceanol Limnol Sin*, 2010, 41(4): 538–542.
- [25] 朱暖飞, 董帅兵, 张祯. 环境中氨基脒的高通量酶联免疫法检测[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(20): 313–315, 324.
- ZHU NF, DONG SB, ZHANG Z. High throughput enzyme linked immune sorbent assay for detection of semicarbazide in environment [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2018, 46(20): 313–315, 324.
- [26] 宋庆武, 王文哲, 张亮, 等. 食品加工过程中常见的消毒方式[J]. *中国果菜*, 2020, 40(9): 69–72.
- SONG QW, WANG WZ, ZHANG L, *et al.* Common disinfection methods in food processing [J]. *China Fruit Veg*, 2020, 40(9): 69–72.
- [27] 肖兴宁, 汪雯, 张巧艳, 等. 次氯酸钠对肉鸡屠宰预冷清洗中沙门氏菌交叉污染的控制效果[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(12): 206–210, 217.
- XIAO XN, WANG W, ZHANG QY, *et al.* Control effect of sodium hypochlorite on cross contamination of *Salmonella* in precooling cleaning of broilers [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(12): 206–210, 217.
- [28] 孙永才, 孙京新, 李鹏, 等. 超声协同次氯酸钠处理对冷藏鸡胸肉品质的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(9): 262–268.
- SUN YC, SUN JX, LI P, *et al.* The effect of ultrasonic treatment with sodium hypochlorite on the quality of frozen chicken breast meat [J]. *Food Sci*, 2019, 40(9): 262–268.
- [29] HOENICKE K, GATERMANN R, HARTIG L, *et al.* Formation of semicarbazide (SEM) in food by hypochlorite treatment: Is SEM a specific marker for nitrofurazone abuse? [J]. *Food Addit Contam A*, 2004, 21(6): 526–537.
- [30] 王建. 甲壳类水产中呋喃西林及氨基脒的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015.
- WANG J. Study on nitrofurazone and semicarbazide in crustacean aquatic products [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2015.
- [31] 杨曦, 李红光. 水产品消毒水作用下产生呋喃西林代谢物的研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(4): 158–159.
- YANG X, LI HG. Study on the metabolites of furacilin produced by aquatic products under the action of disinfected water [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2011, 32(4): 158–159.
- [32] ZHANG XJ, CHEN S, XU HX, *et al.* Identification and occurrence of endogenous semicarbazide in prawns and crabs from Zhejiang province, China [J]. *Food Addit Contam A*, 2016, 33(2): 252–258.
- [33] 黄晓姗, 关铭鑫, 杭义萍. 面制品添加剂偶氮甲酰胺热处理下转化为氨基脒的研究[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(8): 977–980.
- HUANG XS, GUAN MX, HANG YP. Study on degradation of flour additive azodicarbamide to semicarbazide under heat treatment [J]. *J Instrum Anal*, 2018, 37(8): 977–980.
- [34] NOONAN GO, BEGLEY TH, DIACHENKO GW. Semicarbazide formation in flour and bread [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(6): 2064–2067.
- [35] 蒋志红, 吴晓萍, 王明兴, 等. 偶氮甲酰胺与氨基脒在面粉及面包虾中的形成关系[J]. *食品科学*, 2014, 35(19): 91–95.
- JIANG ZH, WU XP, WANG MX, *et al.* Relationship of added azodicarbamide with the formation of semicarbazide in heated flour and deep-fried breaded shrimp [J]. *Food Sci*, 2014, 35(19): 91–95.
- [36] 胡荷, 刘小玲, 于晖, 等. 江西省面制品中氨基脒污染监测分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(3): 340–342.
- HU K, LIU XL, YU H, *et al.* Monitoring and analysis of semicarbazide contamination in flour products in Jiangxi [J]. *Chin J Heal Lab Technol*, 2018, 28(3): 340–342.
- [37] 阮莎莎, 刘桂华, 朱舟, 等. 深圳市面粉与面制品中偶氮甲酰胺及其转化产物膳食暴露评估[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(12): 3857–3862.
- RUAN SS, LIU GH, ZHU Z, *et al.* Dietary exposure assessment of azodicarbamide and its transformation products in flour and flour products in Shenzhen [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(12): 3857–3862.
- [38] YE J, WANG XH, SANG YX, *et al.* Assessment of the determination of azodicarbamide and its decomposition product semicarbazide: Investigation of variation in flour and flour products [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(17): 9313–9318.
- [39] PEREIRA AS, DONATO JL, NUCCIG DE. Implications of the use of semicarbazide as a metabolic target of nitrofurazone contamination in coated products [J]. *Food Addit Contam*, 2004, 21(1): 63–69.
- [40] BECALSKI A, LAU PY, LEWIS D, *et al.* Semicarbazide formation in azodicarbamide-treated flour: A model study [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(18): 5730–5734.
- [41] 赵芸, 翁丽萍, 张乐. 河虾中氨基脒的来源初探[J]. *杭州农业与科技*, 2019, (4): 43–44.
- ZHAO Y, WONG LP, ZHANG L. Preliminary study on the source of semicarbazide in river shrimp [J]. *Hangzhou Agric Sci Technol*, 2019, (4): 43–44.
- [42] 舒秀君, 程波, 徐娟娟, 等. 日本沼虾养殖过程中氨基脒存在特征研究[J]. *淡水渔业*, 2020, 50(3): 11–16.
- SHU XJ, CHENG B, XU JJ, *et al.* Study on the characteristics of semicarbazide (SEM) in *Macrobrachium nipponense* during the culture period [J]. *Freshw Fish*, 2020, 50(3): 11–16.
- [43] POUCKE CV, DETAVERNIER C, WILLE M, *et al.* Investigation into the possible natural occurrence of semicarbazide in *Macrobrachium rosenbergii* prawns [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(5): 2107–2112.
- [44] MCCracken R, HANNA B, ENNIS D, *et al.* The occurrence of semicarbazide in the meat and shell of Bangladeshi fresh-water shrimp [J]. *Food Chem*, 2013, 136(3-4): 1562–1567.
- [45] 彭婕, 吕磊, 喻亚丽, 等. 中华绒螯蟹中内源性氨基脒的产生途径研究[J]. *淡水渔业*, 2019, 49(3): 108–112.
- PENG J, LV L, YU YL, *et al.* Production pathway of endogenous semicarbazides in *Eriocheirs sinensis* [J]. *Freshw Fish*, 2019, 49(3): 108–112.
- [46] AILING C, YILIN C, ZAN N, *et al.* Production mechanism of semicarbazide from protein in Chinese softshell turtles at different drying temperatures based on tmt-tagged quantitative proteomics [J]. *J Food Compos Anal*, 2021, 99: 103872.
- [47] CREWS C. Potential natural sources of semicarbazide in honey [J]. *J Apic Res*, 2014, 53(1): 129–140.
- [48] ABERNETHY GA. Generation of semicarbazide from natural azine development in foods, followed by reaction with urea compounds [J]. *Food Addit Contam A*, 2015, 32(9): 1416–1430.
- [49] YU WL, LIU WH, SANG YX, *et al.* Analysis of endogenous semicarbazide during the whole growth cycle of *Litopenaeus vannamei* and its possible biosynthetic pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(29): 8235–8242.
- [50] 胡梦玲, 张小军, 严忠雍, 等. UPLC-MS/MS法测定凡纳滨对虾中呋喃

- 西林新型生物标志物[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2019, 38(6): 546–553.
- HU ML, ZHANG XJ, YAN ZY, *et al.* Determination of new biomarker of nitrofurazone in *Litopenaeus vannamei* by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of new biomarker of nitrofurazone in *Litopenaeus vannamei* by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci), 2019, 38(6): 546–553.
- [51] 戴安印, 刘洁琼, 谷娜, 等. 反相高效液相色谱法同时测定呋喃类中水杨酸、苯甲酸和呋喃西林含量[J]. 中国药业, 2019, 28(8): 14–16.
- DAI AY, LIU JQ, GU N, *et al.* Simultaneous determination of salicylic acid, benzoic acid and nitrofurazone in furosemide powder by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. China Pharm, 2019, 28(8): 14–16.
- [52] ZHU Y, HANG Y, HUANG X, *et al.* Sensitive determination of semicarbazide in flour by differential pulse voltammetry [J]. J Anal Chem, 2019, 74(9): 913–919.
- [53] 李泳宁, 彭臻菲, 黄慧, 等. 一种呋喃西林酶联免疫检测方法的建立[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(4): 193–195.
- LI YN, PENG ZF, HAUNG H, *et al.* Establishment of an enzyme-linked immunoassay method for nitrofurazone [J]. J Anhui Agric Sci, 2020, 48(4): 193–195.
- [54] 杨俊华, 陈海燕, 马静, 等. HPLC 测定鱼饲料中硝基呋喃类违禁药物的方法研究[J]. 宁夏农林科技, 2020, 61(11): 55–57.
- YANG JH, CHEN HY, MA J, *et al.* Determination of 4 nitrofurans in fish feed by HPLC [J]. Ningxia J Agric Forest Sci Technol, 2020, 61(11): 55–57.
- [55] 于芳. 高效液相色谱在蜂王浆药物残留检测中的应用[J]. 养殖与饲料, 2020, (2): 54–55.
- YU F. Application of high performance liquid chromatography in the detection of royal jelly drug residues [J]. Anim Breed Feed, 2020, (2): 54–55.
- [56] KULIKOVSKII AV, GORLOV IF, SLOZHENKINA MI, *et al.* Determination of nitrofurans metabolites in muscular tissue by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection [J]. J Anal Chem, 2019, 74(9): 906–912.
- [57] CHEN D, DELMAS JM, HURTAUD-PELLE D, *et al.* Development of a multi-class method to determine nitroimidazoles, nitrofurans, pharmacologically active dyes and chloramphenicol in aquaculture products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2020, 311: 125924.1–125924.10.
- [58] WENLONG Y, MINXUAN L, RUOBING L, *et al.* Development of biomimetic enzyme-linked immunosorbent assay based on molecular imprinting technique for semicarbazide detection [J]. Food Agric Immunol, 2019, 31(1): 17–32.
- [59] 袁利鹏, 刘波, 马莹, 等. 免疫分析多残留同步法测定饲料中硝基呋喃类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(16): 5427–5431.
- YUAN LP, LIU B, MA Y, *et al.* Determination of nitrofurans drugs in feed by multi-residue immunoassay method [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(16): 5427–5431.
- [60] TANG T, WEI F, WANG X, *et al.* Determination of semicarbazide in fish by molecularly imprinted stir bar sorptive extraction coupled with high performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr B, 2018, 1076: 8–14.
- [61] KONG X, SUN Z, LIU S, *et al.* Determination of semicarbazide in foodstuffs by HPLC with fluorescence detection using 2-formylphenylboronic acid as derivatization reagent [J]. Chromatographia, 2019, 82(7): 1051–1058.
- [62] WANG Y, CHAN W. Automated in-injector derivatization combined with high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of semicarbazide in fish and bread samples [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(13): 2802–2808.
- [63] PIERRE G, MICHEL L, DOMINIQUE HP, *et al.* Confirmation of five nitrofurans metabolites including nitrofurans metabolite in meat and aquaculture products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Validation according to european union decision 2002/657/EC [J]. Food Chem, 2020: 128389. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2020.128389
- [64] 刘琴芳. 液相色谱串联质谱法测定面粉熟食制品中的氨基脒[J]. 安徽化工, 2013, 39(5): 79–81.
- LIU QF. Determination of semicarbazides in flour cooked food products by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Anhui Chem Ind, 2013, 39(5): 79–81.
- [65] WU SY, YANG BH, YU HQ, *et al.* A rapid derivatization method for analyzing nitrofurans metabolites in fish using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2020, 310: 125814.1–125814.5.
- [66] 徐冬梅, 李亚英, 李玉静. 呋喃西林代谢物酶联免疫吸附测定方法的建立及性能测定[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(6): 164–168.
- XU DM, LI YY, LI YJ. Establishment of an enzyme linked immunosorbent assay for furacilin metabolites [J]. Food Res Dev, 2020, 41(6): 164–168.
- [67] 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类代谢物的研究[J]. 浙江农业学报, 2013, 25(1): 95–102.
- LIU AC, LIU C, ZHAO Y, *et al.* Rapid detection of nitrofurans metabolites in aquatic products by immune colloidal gold assay [J]. Acta Agric Zhejiangensis, 2013, 25(1): 95–102.
- [68] WANG Q, WANG XF, JIANG YY, *et al.* Determination of 5-nitro-2-furaldehyde as marker residue for nitrofurazone treatment in farmed shrimps and with addressing the use of a novel internal standard [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 268–275.
- [69] ZHANG S, LI PP, YAN ZY, *et al.* Identification and quantification of nitrofurazone metabolites by ultraperformance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight high-resolution mass spectrometry with precolumn derivatization [J]. Anal Bioanal Chem, 2017, 409(9): 2255–2260.

(责任编辑: 张晓寒 郑丽)

作者简介



张 玮, 硕士研究生, 主要研究方向为水产品质量安全。
E-mail: 864398685@qq.com



陈霞霞, 工程师, 主要研究方向为水产品加工与质量安全。
E-mail: 1551942341@qq.com