

地西洋在鲫鱼不同组织中的残留消除规律研究

白淑艳¹, 黄丽¹, 李晨辉¹, 高磊¹, 郝其睿¹, 陈中祥¹,
杜宁宁¹, 覃东立^{1,2*}, 王鹏^{1*}

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070;

2. 农业农村部水产品质量安全控制重点实验室, 北京 100141)

摘要: 目的 掌握地西洋在鲫鱼不同组织中的残留消除规律, 合理确定休药期。**方法** 以鲫鱼为研究对象, 用地西洋(初始质量浓度为 1.0 µg/L)进行药浴, 水温控制在(20.0±1.0)°C, 分别于给药后的 0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、24、48、72、96、144、240、288、360、480、600、840、1080、1320 h 对鲫鱼肌肉+皮、鳃、肝脏、肾脏、脑、心脏以及血浆等进行检测, 探讨鲫鱼不同组织中地西洋药物残留消除规律, 并利用 WT1.4 软件计算地西洋在鲫鱼体内的休药期。**结果** 地西洋在水产品中的代谢周期较长。肌肉组织的休药期为 74 d, 鳃的休药期为 121 d, 肝脏的休药期为 174 d, 肾脏的休药期为 100 d, 脑的休药期为 78 d, 心脏的休药期为 45 d, 血浆的休药期为 106 d。**结论** 为保证鲫鱼质量和消费者健康, 建议在养殖温度为 20°C 时, 对鲫鱼单剂量(1.0 µg/L)药浴地西洋后的休药期为 174 d。

关键词: 地西洋; 鲫鱼; 残留; 休药期

Study on the elimination of diazepam residues in different tissues of *Carassius auratus*

BAI Shu-Yan¹, HUANG Li¹, LI Chen-Hui¹, GAO Lei¹, HAO Qi-Rui¹,
CHEN Zhong-Xiang¹, DU Ning-Ning¹, QIN Dong-Li^{1,2*}, WANG Peng^{1*}

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Aquatic Sciences, Harbin 150070, China;

2. Key Laboratory of Aquatic Product Quality and Safety Control, Ministry of Agriculture and Rural Areas, Beijing 100141, China)

ABSTRACT: Objective To master the elimination rule of diazepam residues in different tissues of *Carassius auratus*, and determine the withdrawal period reasonably. **Methods** *Carassius auratus* was used as the study object, and diazepam (initial concentration was 1.0 µg/L) was used as the drug bath, the water temperature was controlled at (20.0±1.0)°C, the residual elimination rules of diazepam in different tissues of *Carassius auratus* were investigated at 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 144, 240, 288, 360, 480, 600, 840, 1080, and 1320 hours after administration. The discontinuation period of diazepam in *Carassius auratus* was calculated using WT1.4 software.

基金项目: 中央财政经费政府购买服务项目(ZF2022512400、ZF2022510300)、中央公益性科研院所基本科研业务费项目(HSY202110Q)

Fund: Supported by the Government Procurement Service Projects Funded by Central Finance (ZF2022512400, ZF2022510300), and the Fundamental Research Funds for the Central Public Welfare Research Institutes (HSY202110Q)

*通信作者: 覃东立, 研究员, 主要研究方向为渔业环境及水产品质量安全。E-mail: qd1978@163.com

王鹏, 研究员, 主要研究方向为水产品质量标准与安全。E-mail: 583605805@qq.com

*Corresponding author: QIN Dong-Li, Professor, Heilongjiang River Fishery Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences, No.232, Hesong Street, Daoli District, Harbin 150070, China. E-mail: qd1978@163.com

WANG Peng, Professor, Heilongjiang River Fishery Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences, No.232, Hesong Street, Daoli District, Harbin 150070, China. E-mail: 583605805@qq.com

Results Diazepam had a longer metabolic cycle in the environment and in aquatic products. The rest period was 74 d for muscle tissue, 121 d for gill, 174 d for liver, 100 d for kidney, 78 d for brain, 45 d for heart and 106 d for blood.

Conclusion In order to ensure the quality and safety of *Carassius auratus* and the health of consumers, it is suggested that a single dose (1.0 $\mu\text{g/L}$) of diazepam should be given to *Carassius auratus* for a rest period of 174 d when the breeding temperature is 20°C.

KEY WORDS: diazepam; *Carassius auratus*; residue; withdrawal period

0 引言

地西洋(diazepam, DZP)(7-氯-1,3-二氢-1-甲基-5-苯基-2H-1,4-苯二氮杂-2-酮)是苯二氮卓类的典型代表,又叫安定^[1], 20 世纪 60 年代已被引入兽医医学^[2], 在农牧生产中用于动物抗应激药。苯二氮卓类药物主要作用于大脑和中枢神经系统脊髓中的 γ -氨基丁酸 A 型(type A gamma-aminobutyric acid receptor, GABAA)受体, 具有催眠、抗惊厥、镇定、抗癫痫等作用^[3-5]。长期使用或长期处于含 DZP 的环境中, 有产生蓄积的可能。微量 DZP 残留对人体的危害目前尚不清楚, 但人体长期摄入后, 会产生一系列副作用, 如易怒嗜睡、幻听、头痛、乏力, 甚至产生药物依赖性和耐药性^[6-8]。由于 DZP 在人体或动物体内的违规使用、代谢不完全等原因, 导致药物通过养殖废水、生活及医疗废水等途径进入自然水体, 造成环境污染^[9-12], 而且, DZP 在动物体内残留后可通过食物链进入人体, 威胁人体健康^[13-14]。

在水产养殖行业中, 《2022 年水产养殖用药明白纸(1 号)》明确指出, “依据《中华人民共和国农产品质量安全法》《兽药管理条例》等有关规定, DZP 等畜禽用兽药在我国均未经审查批准用于水产动物, 在水产养殖过程中不得使用”, GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中也有规定 DZP 不得在动物性食品中检出。但近年来水产品中 DZP 残留检出事件在国内多个省份中时有发生。前期工作对大批量水产品进行筛查中发现多例水产品中含有 DZP, 且在鲫鱼、草鱼等水产品中的检出率较高^[15-18]。在《农业农村部关于监督抽查发现的 27 批次问题农产品情况的通告》(农业农村部[2022]3 号)^[19]中, 发现 27 批次样品存在问题, 其中 16 批次问题水产样品中检出 DZP 残留, 涉及省份包括江苏、浙江、福建、山东和云南 5 个省, 问题样品品种包括鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、鳊鱼(*Parabramis pekinensis*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、鲫鱼(*Carassius auratus*)等。

这些报道表明目前水产品中 DZP 残留问题较为突出, 严重影响了水产品养殖业的健康发展, 同时给消费者的身体健康带来了潜在的威胁。因此, 在关注水产品中 DZP 残留量的同时, 更要分析 DZP 在水产动物体内的分布和残留消除规律, 合理确定休药期, 及时避免和减轻其对水产养

殖安全造成的危害。然而, 现有研究多集中于 DZP 检测方法的构建^[20-23]和样品筛查^[24-27], 对于水产品中 DZP 的残留消除规律未见报道。鉴于此, 本研究结合实际生产养殖情况, 以鲫鱼为研究对象, 在(20.0 \pm 1.0)°C 条件下一次性给药, 并连续药浴, 测定了不同时间点 DZP 在鲫鱼肌肉+皮、鳃、肝脏、肾脏、脑、心脏以及血浆中的含量, 分析 DZP 在鲫鱼各组织的残留和消除规律, 评估鲫鱼中 DZP 药物的休药期, 以期在水产养殖相关管控措施的制定及风险评估提供科学依据, 为水产品安全保障提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料及养殖场所

健康鲫鱼 200 尾(体长 20~23 cm, 体重 300~400 g), 饲养于黑龙江水产研究所内养殖实验室水族箱中, 水温控制在(20.0 \pm 1.0)°C。随机分为 2 组: 第 1 组为空白对照组, 为 10 尾; 第 2 组为实验组, 200 尾(分 10 个水族箱养殖)。

1.2 药品与试剂

复方地西洋片(DZP 含量 1.25 mg/片, 济宁市安康制药有限公司); 无硫酸钠、无水硫酸镁(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); DZP 标准溶液(100 $\mu\text{g/mL}$)、DZP-D₅ 标准溶液(10 $\mu\text{g/mL}$)(天津阿尔塔科技有限公司); 甲醇、甲酸、乙腈、二氯甲烷、冰乙酸、氨水、乙酸铵(色谱纯)、 β 葡萄糖#醛甙酶-芳基硫酸酯酶(含 β -盐酸葡萄糖醛甙酶 134600 U/mL, 芳基硫酸酯酶 5200 U/mL)、N-丙基乙二胺吸附剂(primary secondary amine, PSA, 粒径范围 40~60 μm , 平均孔径 100 A)、十八烷基键合硅胶吸附剂(C₁₈-封端, 粒径范围 0~60 μm , 平均孔径 60 A)、石墨化碳黑吸附剂(graphitized carbon black, GCB, 粒径范围 40~60 μm , 平均孔径 60 A)、0.22 μm 有机相滤膜(上海安谱实验科技有限公司); 实验用水为超纯水, 自备; 氮气(纯度>99.9%, 哈尔滨华气体工业有限公司)。

1.3 仪器设备

1290-6470 液相色谱串联三重四极杆质谱联用仪(美国安捷伦公司); KQ-700E 型超声波清洗机(昆山超声仪器有限公司); BIOFUGE STRATOS 高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); MS1 涡旋混匀器(德国 IKA 公司); A10 纯水器(美国 Millipore 公司); XS205Du 电子天平(精度

0.00001 g, 瑞士梅特勒-托利多有限公司); N-EVAP 112 氮吹仪(路易企业有限公司); Waters C₁₈ 柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 给药方式及样品采集

用 DZP 进行药浴, 其初始质量浓度为 1.0 μg/L。于给药后的 0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、24、48、72、96、144、240、288、360、480、600、840、1080、1320 h 随机从水族箱中取 5 尾鱼, 自尾静脉采集血浆 1~2 mL/尾, 用 10 g/L 肝素钠抗凝, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液血浆, 同时解剖分离出肌肉+皮、肝脏、肾脏、鳃等组织。将所采血浆、组织于-20℃避光保存, 待测。

1.4.2 样品前处理

(1)各组织中 DZP 的提取和净化

参考 SN/T 3235—2012《出口动物源食品中多类禁用药物残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。鲫鱼肌肉+皮、鳃、肝脏、肾脏、脑、心脏组织 DZP 提取: 称取试样 2.00 g, 置于 50 mL 具螺旋盖聚丙烯离心管中, 准确加入 20 μL 内标工作液(500 ng/mL)和 8 mL 乙酸铵缓冲液, 高速涡旋混匀 30 s, 室温静置 30 min。加入 15 mL 1%氨水-乙腈溶液和 5.00 g 无水硫酸钠, 涡旋混匀 1 min 后, 在 4℃、9500 r/min 离心 5 min。收集上清液于另一个 50 mL 离心管中。剩余混合物中加入 15 mL 1%乙酸乙酯溶液, 旋紧螺旋盖, 室温振荡 10 min, 在 4℃、9500 r/min 下离心 5 min, 吸取上清液层溶液, 合并两次提取有机相, 待净化。

净化: 一次性全部将 QuEChERS 吸附剂(由 100 mg PSA、50 mg C₁₈、20 mg GCB 和 400 mg 无水 MgSO₂ 混合而成)加入各组织样品的提取液中, 旋紧螺旋盖, 高速涡旋 1 min, 在 4℃、于 9500 r/min 离心 5 min。吸取所有有机相溶液, 在减压旋转蒸发装置上于 42℃蒸发至近干。加入 2.0 mL 的 10%乙腈-水溶液溶解残渣, 涡旋混合 1 min, 过 0.22 μm 滤膜。滤液供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

(2)血浆中 DZP 的提取

准确吸取 0.50 mL, 于 15 mL 离心管中, 加入 DZP-D₅ 内标工作液(100 ng/mL) 25 μL, 加 2.0 mL 二氯甲烷, 旋涡振摇 5 min, 10000 r/min 离心 12 min, 吸取下层液于另一离心管中, 再向残渣加入 2.0 mL 二氯甲烷, 旋涡振摇 5 min 进行二次提取。10000 r/min 离心 12 min, 取下层液与第一次清液混合。用氮气吹干, 用 0.50 mL 流动相溶解, 过孔径为 0.2 μm 滤膜后, 取 10 μL 进样检测。

1.4.3 仪器条件

(1)色谱条件

色谱柱: Waters C₁₈ 柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm); 流速: 0.30 mL/min; 柱温: 30℃; 进样量: 5 μL; 流动相: A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为乙腈。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.00	95.00	5.00
1.00	95.00	5.00
2.50	5.00	95.00
3.90	5.00	95.00
3.91	95.00	5.00
5.00	95.00	5.00

(2)质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI); 扫描方式: 正离子扫描(ESI⁺); 监测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 喷雾电压毛细管电压: 3000 V; 离子传输管温度: 350℃; 鞘气流量: 11.0 L/min; 辅助气流量: 5 L/min; 碰撞气: 氩气; 定性离子对、定量离子对和碰撞能量见表 2。

表 2 DZP 及内标的质谱参数

化合物	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	碰撞能量/eV
DZP	285.2>193.1		35
	285.2>154.1	285.2>193.1	37
DZP-D ₅	290.2>154.1	290.2>154.1	37

1.4.4 标准工作曲线的确定

80%乙腈溶液稀释成质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、125.0、200.0 ng/mL DZP 系列标准溶液, 其中内标溶液质量浓度均为 5.0 ng/mL, 以测得特征离子质量色谱峰外标和内标峰面积比值(Y)为纵坐标, 对应的标准溶液质量浓度(X, ng/mL)为横坐标, 绘制标准曲线, 求回归方程和相关系数。

1.5 数据分析

用 Excel 2010 和 SPSS Statistics 22.0 软件对药物残留数据进行分析, 结果用“平均值±标准偏差”表示。采用 WT1.4 软件按 95%置信区间计算 DZP 在鲫鱼各组织中的休药期。

2 结果与分析

2.1 标准曲线和方法回收率

在质量浓度 0.1~200.0 ng/mL(内标质量浓度 5.0 ng/mL)范围内, 以内标与外标的峰面积之比(Y)为纵坐标, 质量浓度(X, ng/mL)为横坐标制作标准曲线, 得到 DZP 标准曲线的线性方程为: $Y=0.269686X-0.133704$, $r^2=0.9994$ 。这表明 DZP 在 0.1~200.0 ng/mL 范围内呈现良好的线性关系。DZP

在肌肉+皮中回收率为 94.0%；在肾脏中回收率为 94.9%；在肝脏中回收率为 93.7%；在血浆中回收率为 94.1%；在鳃中的回收率为 99.1%；在脑组织中的回收率为 99.9%；在心脏中的回收率为 98.3%。相对标准偏差均小于 15%。表明实验方法回收率较好，重复性高，符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》的要求，可用于鲫鱼实际样品的分析。

2.2 鲫鱼各组织中地西洋残留及消除规律

采用内标法定量，对所采集的鲫鱼样品不同组织(肌肉+皮、鳃、肝脏、肾脏、脑、心脏以及血浆)中 DZP 含量进行检测，结果见图 1。经分析，随着暴露时间的延长，鲫鱼各组织中 DZP 含量先逐渐增加，在 10 h 时，鲫鱼心脏和肝脏中 DZP 含量最先达到峰值，其中以心脏中的含量最高，这可以推出 DZP 在鲫鱼心脏中有“首过效应”^[28]的现象。此时各组织中含量大小依次为：心脏[(62.983±11.705) μg/kg]>脑[(23.113±3.256) μg/kg]>鳃[(13.521±5.098) μg/kg]>肾脏[(13.247±1.536) μg/kg]>肌肉+皮[(10.986±0.990) μg/kg]>肝脏[(8.692±2.175) μg/kg]>血浆[(3.902±0.789) μg/kg]。可见，鲫鱼的心脏和脑对 DZP 的富集能力最强，相比于 DZP 在鲫鱼血浆中的分布，心脏表现出明显的富集能力，心脏中 DZP 含量是血浆中的 20 倍。在 24 h 时，鳃中的 DZP 浓度达到最高值(20.842±2.669) μg/kg，此时心中 DZP 含量降至(43.619±4.158) μg/kg，仍然是鳃中的 2 倍；72 h 时，肾脏中 DZP 含量达到了最高值(15.546±0.514) μg/kg；96 h 时，脑中 DZP 含量达到最高值(49.739±16.397) μg/kg；在 144 h 时血浆中的浓度达到最高值(8.359±1.215) μg/kg，此时鲫鱼心脏中的含量降至(26.116±6.091) μg/kg，是血浆中的 3 倍，而脑中 DZP 含量降至(37.662±10.266) μg/kg，是血浆中的 4

倍；鲫鱼肌肉+皮中 DZP 含量最晚(240 h)达峰，峰值为(31.068±2.263) μg/kg。由此可见，药浴后鲫鱼心脏对 DZP 的富集能力最强，含量也最高，而血浆中富集能力相对较弱，且含量较低。

由图 1 可以看出，在水温为(20.0±1.0)°C 时，单剂量(1.0 μg/L)药浴 DZP 后，发现 DZP 在其肌肉+皮、肝脏、肾脏、脑和血浆组织中的药-时曲线都有双峰或多峰现象。例如，在 72 h 时，肾脏中 DZP 含量达到了最高值，此时，肝脏达到了第二次吸收高峰(如图 1)，药物含量为(8.288±1.727) μg/kg，呈“双峰”曲线。在药物吸收的研究中，对多峰现象及其机制的探讨多见于人体和哺乳动物体内，而在水生动物中未见深入探讨。有研究者认为造成这一现象的原因是肠肝循环(entero-hepatic circulation, EHC)、胃肠循环以及多部位吸收等，而 EHC 被认为是最可能产生吸收多峰现象的机制之一^[29-30]，刘海新等^[31]在研究斜带髯鲷体内丁香酚以及徐闪浪^[32]在研究石斑鱼体内喹哪啶的残留消除规律中也发现过类似的消除结果。此外，由于通过胆汁排出的药物或其代谢物只有一部分被重吸收，所以如果存在 EHC，第 2 峰的浓度则要低于第 1 峰的浓度。由以上分析可以推断，EHC 可能是造成 DZP 在鲫鱼肝脏中含量出现“双峰”现象的原因。

各组织在达到最大值后，呈现出不同程度的下降趋势(如图 1)，其中脑和心脏中下降速度最快，肌肉+皮和鳃次之，而肝脏、肾脏和血浆中下降的速度最慢。直到 1320 h 时，鲫鱼各组织中 DZP 含量排序为：脑[(5.350±0.742) μg/kg]>肾脏[(3.985±0.372) μg/kg]>肌肉+皮[(3.191±0.138) μg/kg]>肝脏[(2.311±0.158) μg/kg]>血浆[(1.740±0.564) μg/kg]>鳃[(1.694±0.629) μg/kg]>心脏(ND)。

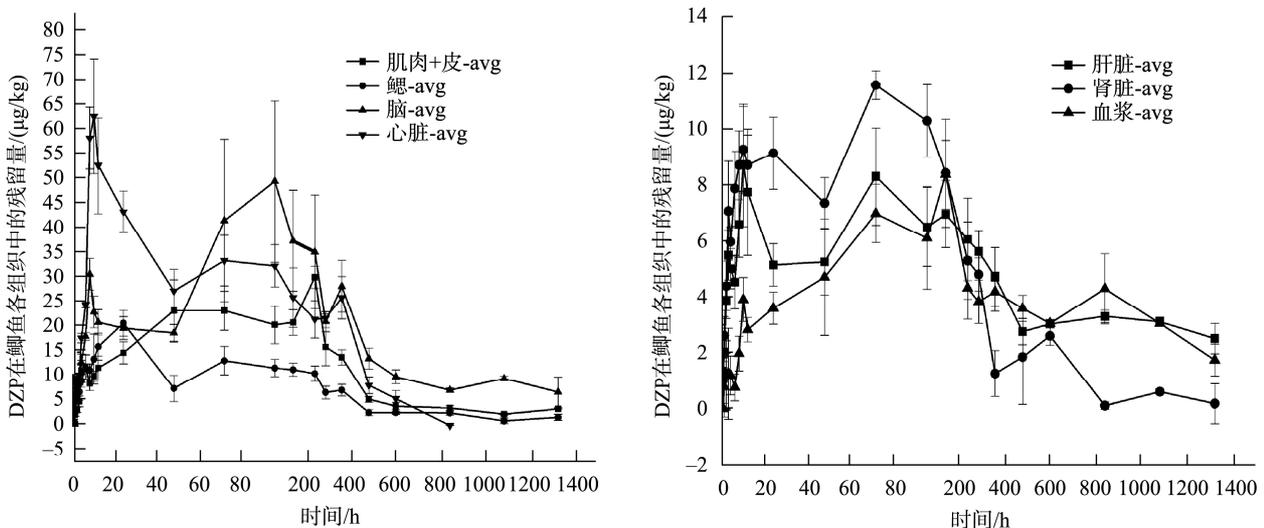


图 1 DZP 在鲫鱼各组织中的残留消除曲线

Fig.1 Elimination curves of DZP residues in various tissues of crucian carp

2.3 休药期计算

依据《中华人民共和国农产品质量安全法》《兽药管理条例》等有关规定, DZP 等畜禽用兽药在我国均未经审查批准用于水产动物, 在水产养殖过程中不得使用, 因此, 在水产品各组织中不得检出。鉴于 DZP 往往是在养殖户不知情的背景下引入的, 目前对检出 DZP 的养殖场一般采取封塘处理, 待渔池中水产品 DZP 含量降至 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ (SN/T 3235—2012 方法检出限) 以下后再允许售卖。本研究结合实际生产养殖情况, 在 $(20.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$ 条件下一次性给药, 连续药浴, 水体中 DZP 初始质量浓度为 $1.0 \mu\text{g}/\text{L}$, 采用兽药委员会(Committee for Veterinary Medicinal Products, CVMP)制定的统计方法(双单侧 95% 置信区间), 对 DZP 在鲫鱼组织中休药期进行计算。对鲫鱼各组织中 DZP 的残留消除情况进行拟合, 根据 WT1.4 软件^[33] 计算出 DZP 在鲫鱼各组织中的休药期, 结果显示, 在 20°C 下, 鲫鱼经 $1.0 \mu\text{g}/\text{L}$ DZP 药浴后, 肌肉+皮、鳃、肝脏、肾脏、脑、心脏、血浆等组织中 DZP 含量降至检出限($0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$) 以下的时间分别为 74、121、174、100、78、45、106 d。可见, 在本研究条件下, DZP 在鲫鱼各组织中的消除时间较长, 有相关报道揭示 DZP 在环境中的代谢周期较长^[34], 在水产养殖环境中的水体及底泥中累积进而对水产品造成长期的影响^[4]。因此, 根据本研究结果, 若养殖水体平均温度为 20°C , 则 DZP 休药期约为 174 d, 即至少封塘半年后方可再次销售。

3 结 论

通过模拟实际生产养殖, 在 $(20.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$ 的水温条件下, 将 DZP 按 $1.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 用量对鲫鱼进行药浴后, 检测 DZP 在鲫鱼各组织中的残留消除规律。得出以下结论: 药浴后, 发现该药物在鲫鱼体内组织分布广泛, 且消除较慢。其中, 鲫鱼心脏对 DZP 的富集能力最强, 含量也最高, 而血浆中富集能力相对较弱, 且含量较低。各组织在达到最大值后, 呈现出不同程度的下降趋势, 其中心和脑下降速度最快, 肌肉+皮和鳃次之, 而肝脏、肾脏和血浆中下降的速度最慢。为满足 GB 31650—2019 等有关规定, 建议对检出 DZP 的水产品实施封塘管理, 在养殖温度为 20°C 时, 对鲫鱼单剂量($1.0 \mu\text{g}/\text{L}$) 药浴地西洋后, 执行休药期不低于 174 d。在实际生产过程中, 可根据水温等实际情况和养殖习惯适当缩短或延长休药期, 以保障食用者的安全与健康。

参考文献

- [1] INA S, MARC M, DIANE B, *et al.* Kinetic disposition of diazepam and its metabolites after intravenous administration of diazepam in the horse: Relevance for doping control [J]. *J Vet Pharmacol Therap*, 2021, 44(5): 733–744.
- [2] SHINI S. A review of diazepam and its use in the horse [J]. *J Equine Vet Sci*, 2000, 20(7): 443–449.
- [3] 丁宇琦, 朱价, 梁晶晶, 等. 动物源性食品中地西洋残留量的检测方法研究[J]. *浙江大学学报*, 2019, 46(3): 339–344.
DING YQ, ZHU J, LIANG JJ, *et al.* Research on methods for determination of diazepam residue in animal original food [J]. *J Zhejiang Univ*, 2019, 46(3): 339–344.
- [4] 杨光昕, 汤云瑜, 程逸凡, 等. 鱼饵料中地西洋含量调查及其对水产品养殖影响分析[J]. *中国渔业质量与标准*, 2022, 12(4): 1–9.
YANG GX, TANG YY, CHENG YF, *et al.* Investigation of diazepam content in fish bait and analysis of its impact on aquaculture [J]. *Qual Stand Chin Fish*, 2022, 12(4): 1–9.
- [5] KAWANO T, OSHIBUCHI H, KAWANO M, *et al.* Diazepam suppresses the stress-induced dopaminergic release in the amygdala of methamphetamine-sensitized rat [J]. *Europ J Pharmacol*, 2018, 833: 247–254.
- [6] WU M, QIU X, CHEN C, *et al.* Short-term and persistent impacts of sublethal exposure to diazepam on behavioral traits and brain GABA levels in juvenile zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 740(20): 140392.
- [7] DE SC, TALLARICO M, PISANO M, *et al.* Liraglutide chronic treatment prevents development of tolerance to antiseizure effects of diazepam in genetically epilepsy prone rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 928(5): 175098.
- [8] CALCATERRA NE, BARROW JC. Classics in chemical neuro-science: Diazepam (valium) [J]. *Acs Chem Neurosci*, 2014, 5(4): 53–60.
- [9] LEI HJ, YANG B, YE P, *et al.* Occurrence, fate and mass loading of benzodiazepines and their transformation products in eleven wastewater treatment plants in Guangdong Province, China [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 755(2): 142648.
- [10] ZHANG X, YANG YJ, ZHANG J, *et al.* Determination of emerging chlorinated byproducts of diazepam in drinking water [J]. *Chemosphere*, 2019, (218): 223–231.
- [11] ZHAO X, HUANG XY, PENG WJ, *et al.* Chlorine disinfection byproduct of diazepam affects nervous system function and possesses gender-related difference in zebrafish [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2022, (238): 113568.
- [12] YANG B, PENG T, CAI WW, *et al.* Transformation of diazepam in water during UV/chlorine and simulated sunlight/chlorine advanced oxidation processes [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 746(1): 141332.
- [13] 桑丽雅, 陈笑笑, 王扬, 等. 基于免疫磁珠的胶体金免疫层析法快速检测水产品中地西洋残留[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(20): 255–260.
SANG LY, CHEN XX, WANG Y, *et al.* Rapid determination of diazepam residue in aquatic products by immunomagnetic beads-colloidal gold immunochromatography assay [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(20):

- 255–260.
- [14] 刘正富, 敖云胜, 孙东红, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定淡水鱼中地西洋含量的不确定度评定[J]. 轻工标准与质量, 2022, (3): 70–73.
- LIU ZF, AO YS, SUN DH, *et al.* Determination of diazepam in freshwater fish by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry evaluation of uncertainty in content [J]. Light Ind Stand Qual, 2022, (3): 70–73.
- [15] 王守英, 孔聪, 杨光昕, 等. 上海市售水产品地西洋及去甲地西洋残留调查分析[J]. 农产品质量与安全, 2020, (3): 31–35.
- WANG SY, KONG C, YANG GX, *et al.* Diazepam and nordazepam residue in the aquatic product from market in Shanghai [J]. Qual Saf Agro-products, 2020, (3): 31–35.
- [16] 曾军杰, 陈思, 张小军, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中的地西洋[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(12): 198–201.
- ZENG JJ, CHEN S, ZHANG XJ, *et al.* Determination of diazepam in aquatic products by dispersive solid-phase extraction-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Anhui Agric Sci, 2021, 49(12): 198–201.
- [17] 崔瑞霞, 宋润娜, 赵喜华. 同位素内标法快速筛查分析动物源性食品中地西洋残留[J]. 现代食品, 2021, 12(12): 168–172.
- CUI RX, SONG RN, ZHAO XH. Rapid screening and analysis of diazepam residues in food of animal origin by isotope internal standard method [J]. Mod Food, 2021, 12(12): 168–172.
- [18] 尹文林, 姚嘉赟, 曲焕韬. 水产品中地西洋残留来源和应对措施[J]. 科学养鱼, 2022, (9): 51–52.
- YIN WL, YAO JY, QU HT. Sources of diazepam residues in aquatic products and countermeasures [J]. Sci Fish Farm, 2022, (9): 51–52.
- [19] 中华人民共和国农业农村部. 农业农村部关于监督抽查发现的 27 批次问题农产品情况的通告(2022 年 3 号) [2022-06-10]. http://www.moa.gov.cn/xw/bmdt/202207/t20220713_6404619.htm [2022-07-13].
- Department of Agriculture in China and rural affairs. Circular of the Ministry of Agriculture and rural areas on the supervision and random inspection of 27 batches of problematic agricultural products (No. 3, 2022) [2022-06-10]. http://www.moa.gov.cn/xw/bmdt/202207/t20220713_6404619.htm [2022-07-13].
- [20] 钱晓东, 于慧娟, 惠芸华, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中地西洋及其代谢物残留量[J]. 湖南农业科学, 2010, (16): 46–48.
- QIAN XD, YU HJ, HUI YH, *et al.* Determination of diazepam and its metabolites in aquatic products by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Hunan Agric Sci, 2010, (16): 46–48.
- [21] 刘洋锋, 孔聪, 张海燕, 等. 基于高分辨质谱法筛查养殖水体中地西洋含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 3300–3305.
- LIU YF, KONG C, ZHANG HY, *et al.* Screening of diazepam in aquaculture water based on high resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(8): 3300–3305.
- [22] 杨霄, 李小玲, 索纹纹, 等. 同位素稀释-超高效液相色谱串联质谱法测定渔用饲料中地西洋和安眠酮残留[J]. 饲料研究, 2022, 45(19): 114–117.
- YANG X, LI XL, SUO WW, *et al.* Determination of diazepam and high-performance liquid chromatography residues in fish feed by isotope dilution-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Feed Res, 2022, 45(19): 114–117.
- [23] 何连军, 王鼎南, 张宜明, 等. 通过型固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中的 5 种硝基咪唑和地西洋[J]. 核农学报, 2021, 35(8): 1865–1874.
- HE LJ, WANG DN, ZHANG YM, *et al.* Simultaneous determination of five nitroimidazole and diazepam in aquatic products by solid phase extraction-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Nucl Agric, 2021, 35(8): 1865–1874.
- [24] 于慧娟, 钱蓓蕾, 黄冬梅, 等. 液相色谱串联质谱法测定大菱鲆和鳊鱼体中地西洋及其代谢物残留的研究[J]. 中国渔业质量与标准, 2011, (1): 54–59.
- YU HJ, QIAN BL, HUANG DM, *et al.* Determination of diazepam and its metabolites in *Scophthalmus maximus* and *Siniperca chuatsi* by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Fish Qual Stand, 2011, (1): 54–59.
- [25] 刘洋锋, 张海燕, 孔聪, 等. 上海地区水产养殖环境及非药品类渔药投入品中农兽药的污染特征及风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(9): 2055–2063.
- LIU YF, ZHANG HY, KONG C, *et al.* Pollution characteristics and risk assessment of pesticides and veterinary drugs in aquaculture environment and non-pharmaceutical fishery drug inputs in Shanghai [J]. J Agric Environ Sci, 2022, 41(9): 2055–2063.
- [26] 张璇, 杨光昕, 孔聪, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中镇静剂及其代谢物残留[J]. 分析化学, 2021, 49(3): 460–469.
- ZHANG X, YANG GX, KONG C, *et al.* Determination of high-performance liquid chromatography and its metabolite residues in aquatic products by tandem mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2021, 49(3): 460–469.
- [27] 董曼曼, 李卓, 张艳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测动物源性食品中 22 种兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(16): 6363–6370.
- DONG MM, LI Z, ZHANG Y, *et al.* Simultaneous determination of 22 veterinary drug residues in food of animal origin by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(16): 6363–6370.

- [28] 邓建朝, 丁军伟, 杨贤庆, 等. 磺胺甲噁唑和磺胺嘧啶在青石斑鱼组织中的分布及代谢规律[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 301–306.
DENG JC, DING JW, YANG XQ, *et al.* Distribution and metabolism patterns of sulfamethoxazole and sulfadiazine in yellow grouper (*Epinephelus awoara*) tissues [J]. Food Sci, 2018, 39(4): 301–306.
- [29] KATHARIOS P, PAVLIDIS M, JOAN IG. Accumulation of ivermectin in the brain of sea bream, *Sparus aurata* after intraperitoneal administration [J]. Environ Toxicol Harmacol, 2004, 17(1): 9–12.
- [30] 周怀梧. 药物吸收多峰现象的动力学研究[J]. 中国现代应用药学, 1989, 6(2): 37–40.
ZHOU HW. Multi-peak phenomena of drug absorption in molecular dynamics research [J]. J Mod Appl Pharm, 1989, 6(2): 37–40.
- [31] 刘海新, 余颖, 罗方方, 等. 丁香酚在斜带髭鲷体内蓄积与消除规律及消除期限[J]. 广东海洋大学学报, 2020, 40(1): 19–28.
LIU HX, YU Y, LUO FF, *et al.* The accumulation and elimination regularity of eugenol in *Hapalopagus obliquus* and its elimination period [J]. J Guangdong Ocean Univ, 2020, 40(1): 19–28.
- [32] 徐闪浪. 水产品中喹哪啶麻醉剂检测方法及其残留消除的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2021.
XU SL. Determination method and the residue elimination rule of quinaldine in aquatic products [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2021.
- [33] 唐敏敏, 朱磊, 栾枫婷, 等. 恩诺沙星在雪山鸡不同组织中残留消除规律研究[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(21): 215–219.
TANG MM, ZHU L, LUAN FT, *et al.* Studies on the elimination of enrofloxacin residues in different tissues of snow pheasant [J]. Jiangsu Agric Sci, 2020, 48(21): 215–219.
- [34] CHARLES EW, STEVEN JR. Aqueous photo transformation of diazepam and related human metabolites under simulated sunlight [J]. Environ Sci Technol, 2012, 46(9): 4749–4756.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介

白淑艳, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为水产品质量与安全。
E-mail: baishuyan1216@163.com

覃东立, 研究员, 主要研究方向为渔业环境及水产品质量安全。
E-mail: qdl978@163.com

王 鹏, 研究员, 主要研究方向为水产品质量标准与安全。
E-mail: 583605805@qq.com