

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2012.03.008

虾苗使用呋喃西林和呋喃唑酮的残留评估

赵东豪, 黎智广, 李刘冬, 陈培基, 杨金兰, 古小莉, 陈洁文

(中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部水产品加工重点实验室, 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(广州), 广东 广州 510300)

摘要: 使用质量浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的呋喃西林和呋喃唑酮, 以混饲的方式对凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 幼苗给药, 研究呋喃西林和呋喃唑酮在凡纳滨对虾体内的代谢和消除规律, 对药物的残留时间和残留量等进行风险评估。呋喃西林在凡纳滨对虾幼苗体内的消除速率常数 (k_e) 为 0.041 h^{-1} , 消除半衰期 ($t_{1/2k_e}$) 为 17.091 h , 其代谢物氨基脒 (SEM) 在 50 d 后未检出; 呋喃唑酮的 k_e 为 0.045 h^{-1} , $t_{1/2k_e}$ 为 15.258 h , 其代谢物 3-氨基-2-恶唑烷酮 (AOZ) 在 20 d 内已低于方法检测限。结果表明, 在凡纳滨对虾育苗期, 以此试验方式使用呋喃西林和呋喃唑酮不会导致其在成虾体内的残留。

关键词: 呋喃西林; 呋喃唑酮; 虾苗; 残留评估

中图分类号: S 948

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2012)03-0054-05

Assessment of nitrofurazone and furazolidone residues in shrimp seedling

ZHAO Donghao, LI Zhiguang, LI Liudong, CHEN Peiji, YANG Jinlan, GU Xiaoli, CHEN Jiewen

(Key Lab. of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture; Lab. of Quality & Safety Risky Assessment for Aquatic Product on Storage and Preservation (Guangzhou), Ministry of Agriculture; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China)

Abstract: In order to study the metabolism and disposition of nitrofurazone and furazolidone in *Penaeus vannamei* seedling and assess the risks of their residual time and amount, we fed the shrimp seedling with nitrofurazone and furazolidone at concentration of $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The k_e of nitrofurazone is 0.04 h^{-1} and $t_{1/2k_e}$ is 17.091 h for the shrimp seedling, and its metabolite SEM can be eliminated completely within 50 d. The k_e of furazolidone is 0.045 h^{-1} and $t_{1/2k_e}$ is 15.258 h , and the concentration of its metabolite AOZ is lower than the LOD within 20 d. The results indicate that use of nitrofurazone and furazolidone in shrimp seedling's cultivation with a therapeutic dose will not lead to residues in adult shrimp.

Key words: nitrofurazone; furazolidone; shrimp seedling; residual assessment

凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 又称白肢虾、万氏白虾、南美白对虾等, 原产于美洲太平洋沿岸水域, 目前在中国广泛养殖于广东、广西、福建和海南等省区。凡纳滨对虾具有生长速度快、营养需求低、对环境适应能力较强等优点, 可在 $0.1 \sim 4.0$ 的盐度下生长^[1]。然而, 工业废水和生活污水

的直接排放给海洋和江河湖泊水质环境带来了严重的污染, 同时人工饲料营养不均衡和高密度养殖等给对虾的健康生长带来了极大的风险, 成为养殖过程中病害频发的诱因。中国的对虾养殖从业人员素质良莠不齐, 对虾病害认识不足, 缺少疾病防治及用药方面的专业知识, 病害发生时往往滥用药物,

收稿日期: 2011-12-14; 修回日期: 2012-04-07

资助项目: 农业部 2006 年农业行业标准制定和修订项目 (174)

作者简介: 赵东豪 (1981 -), 男, 博士研究生, 助理研究员, 从事水产品质量安全研究。E-mail: dhao138@126.com

通讯作者: 李刘冬, E-mail: 168lld@163.com

导致药物残留的现象时有发生, 成为水产品质量安全的潜在隐患^[2]。

呋喃西林和呋喃唑酮等硝基呋喃类药物是一类人工合成的具有广谱杀菌作用的抗菌药^[3], 由于其有致突变和致癌的潜在危险^[4-5], 且在动物体内残留时间较长^[6-8], 现已禁用于食品动物^[9]。此研究选择体长约 0.9 cm 的凡纳滨对虾虾苗作为研究对象, 将呋喃西林和呋喃唑酮混合在饲料中给药, 研究了这 2 种药物在凡纳滨对虾体内的代谢与消除规律, 评估虾苗期使用硝基呋喃类药物对成虾体内残留的风险^[10-13], 为成品对虾中呋喃西林和呋喃唑酮等禁用药物残留的溯源提供参考, 为政府和管理部门的决策提供科学依据, 并为虾类食品的质量安全提供可靠保障。

1 材料与方法

1.1 试验动物

体长约 0.9 cm 的凡纳滨对虾虾苗 20×10^4 尾, 购于深圳环球公司。

1.2 试验环境与条件

养殖试验采用室内水泥池, 试验共用 3 个池 (1 个作为空白对照养殖池, 2 个作为试验池), 水泥池体积约 21 m^3 ($6.0 \text{ m} \times 2.7 \text{ m} \times 1.3 \text{ m}$)。混饲给药用玻璃钢水槽体积约 4 m^3 ($\Phi 2.0 \text{ m} \times 1.3 \text{ m}$)。水深约 1.2 m, 水温为 $25.5 \sim 27.0 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 为 7.8 ~ 7.9, 盐度为 28, 溶解氧 (DO) 的质量浓度为 $6.83 \sim 7.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。为更接近生产实际, 同时与室内池试验结果进行对比, 笔者采用相同的试验方案, 在室外水泥池进行了验证试验。

1.3 给药方法

玻璃钢水槽进水后 (从肥水过的水泥池中抽进), 把购回的虾苗分出 1/3 放进空白对照池, 其余虾苗缓慢倒进水槽中并充氧。称取呋喃唑酮和呋喃西林药物各 4 g (按总药物质量浓度 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 水体 4 m^3 计算), 与 20 g 搓成粉状的虾片充分混合, 加少许水调混成面团状, 然后放进 200 目筛绢袋中, 慢慢地洗到玻璃钢水槽中, 让虾苗在药浴中保持 24 h^[14]。

1.4 养殖试验

把给药后的虾苗捞起, 放进干净海水中洗去虾苗表面药物, 再捞起分为 2 份, 放入 2 个试验池养殖, 24 h 充气培养。根据虾苗生长情况, 分阶段

投喂不同饲料, 包括丰年虫、虾片、0# 虾料和 1# 虾料等, 养殖过程记录水温、pH、盐度和 DO 等。

1.5 抽样

给药结束后将对虾转移至试验池的同时抽取 0 h 的样品, 之后按照 0.5 d、1 d、2 d、4 d、8 d、12 d、16 d、20 d、30 d、40 d、50 d 和 60 d 的时间间隔采样。采样时每个样品数量 5 g 以上, 立即放入 $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中冷冻保存待检。

1.6 样品前处理与检测

将样品剁成肉浆, 准确称取 0.50 g 于 15 mL 聚丙烯离心管中, 每个样品做 4 个平行。参考农业部 783 号公告-1-2006 等所述方法处理和检测^[15-17], 呋喃西林的残留标示物为氨基脲 (SEM), 呋喃唑酮的残留标示物为 3-氨基-2-恶唑烷基酮 (AOZ)。

2 结果

2.1 呋喃西林在对虾体内的代谢规律

呋喃西林在对虾体内被转化为其代谢物 SEM, 不同时间 SEM 在对虾体内的残留量见表 1。第 40 天时呋喃西林代谢物在对虾体内的残留量为 $1.10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 第 50 和第 60 天时均未再检出呋喃西林代谢物。

以采样时间为横坐标, 以样品质量分数为纵坐标进行线性回归, 可以得到良好的消除曲线图 (图 1-a)。SEM 在对虾体内的药物质量浓度-时间数据用药物代谢动力学软件 WinNonlin 5.2 处理, 采用二室模型分析, 权重为 1/C, 其消除速率常数 (k_e) 为 0.018 h^{-1} , 消除半衰期 ($t_{1/2k_e}$) 为 39.439 h。

2.2 呋喃唑酮在对虾体内的代谢规律

呋喃唑酮在对虾体内被转化为其代谢物 AOZ, 不同时间 AOZ 在对虾体内的残留量见表 2。可以看出, 第 16 天时呋喃唑酮代谢物在对虾体内的残留量为 $6.31 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 第 20 天时已经降至方法检测限 $0.50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下, 以后时间点采集的样品均未再检出呋喃唑酮代谢物。

以采样时间为横坐标, 以样品质量分数为纵坐标进行线性回归, 可以得到良好的消除曲线图 (图 1-b)。使用 WinNonlin 软件处理, 采用二室模型分析, 权重为 1/C, AOZ 在凡纳滨对虾体内的 k_e 为 0.021 h^{-1} , $t_{1/2k_e}$ 为 33.506 h。

表1 不同时间呋喃西林代谢物在对虾体内的残留量

Tab. 1 Residue of nitrofurazone metabolite in shrimp at different time

时间 time	数据 1/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 1	数据 2/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 2	数据 3/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 3	数据 4/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 4	平均值/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ mean	相对标准偏差/% RSD
0 h	540.00	520.00	510.00	504.00	518.00	3.04
12 h	444.00	396.00	438.00	398.00	419.00	6.09
24 h	296.00	306.00	270.00	288.00	290.00	5.25
2 d	186.00	173.00	170.00	196.00	181.00	6.64
4 d	95.80	103.00	110.00	111.00	105.00	6.73
8 d	20.20	21.80	17.40	23.40	20.70	12.40
12 d	8.08	7.08	7.46	6.66	7.32	8.24
16 d	3.02	3.58	3.12	3.46	3.30	8.12
20 d	2.24	2.32	2.38	2.50	2.36	4.64
30 d	2.30	2.20	2.38	2.14	2.26	4.71
40 d	1.08	1.08	0.98	1.25	1.10	10.20
50 d	ND	ND	ND	ND	-	-
60 d	ND	ND	ND	ND	-	-

注: ND. 未检出, 后表同此

Note: ND. not detected. The same case in the following table.

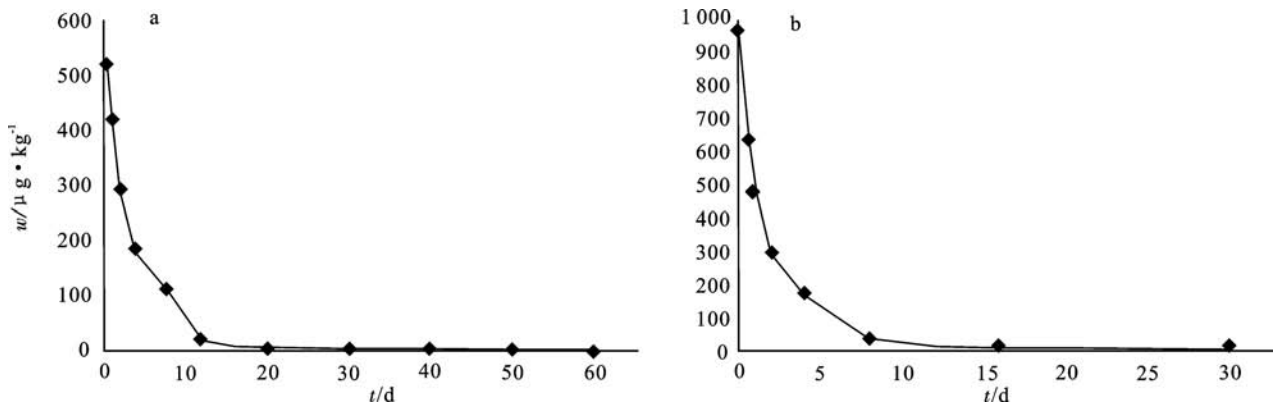


图1 呋喃西林(a)和呋喃唑酮(b)在凡纳滨对虾体内的消除曲线

Fig. 1 Depletion curve of nitrofurazone(a) and furazolidone(b) in *P. vannamei*

表2 不同时间呋喃唑酮代谢物在对虾体内的残留量

Tab. 2 Residue of furazolidone metabolite in shrimp at different time

时间 time	数据 1/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 1	数据 2/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 2	数据 3/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 3	数据 4/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Data 4	平均值/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ mean	相对标准偏差/% RSD
0 h	1 018.00	972.00	942.00	906.00	960.00	4.94
12 h	646.00	608.00	648.00	604.00	626.00	3.79
24 h	484.00	508.00	458.00	454.00	476.00	5.28
2 d	286.00	284.00	304.00	294.00	292.00	3.11
4 d	164.00	184.00	170.00	173.00	173.00	4.85
8 d	34.40	30.40	30.00	30.60	31.40	6.53
12 d	11.50	13.90	13.70	11.80	12.70	9.82
16 d	5.76	6.24	6.62	6.62	6.31	6.47
20 d	ND	ND	ND	ND	-	-
30 d	ND	ND	ND	ND	-	-

2.3 室外池呋喃西林和呋喃唑酮在对虾体内的代谢

采用相同的试验和检测方法, 室外池获得了相似的结果。第20天时呋喃唑酮代谢物在对虾体内的残留量为 $0.50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 之后的样品均未检出AOZ。呋喃西林试验组第20天时SEM在对虾体内的残留量为 $1.49 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 之后采集的样品的SEM残留量为 $1.00 \sim 1.75 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 55 d后的样品均未检出SEM。

3 讨论

3.1 养殖环境的选择

水泥池和玻璃钢水槽在使用前应先清洗, 用石灰水消毒后晾晒干。养殖池水深保持相对稳定, 控制在1.2 m左右。在投放虾苗前完成培藻和肥水等工作, 定期检测水体的盐度、温度、DO和pH等。在整个代谢试验期间必须杜绝外源性的污染, 养殖用水和各种使用的饲料均要经过检测, 确定无呋喃西林和呋喃唑酮后才能使用。

3.2 呋喃西林代谢物的残留情况

呋喃西林代谢试验结果显示, 污染结束时虾苗体内呋喃西林代谢物质量分数为 $518.00 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 第8天时降为 $20.70 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 第20天时降至 $2.36 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。与呋喃唑酮代谢物趋势相同, 呋喃西林代谢物在对虾体内的残留同样呈现先快后慢逐渐下降的趋势, 第50天开始呋喃西林代谢物已未检出(低于方法检出限)。室内试验结果表明, 呋喃西林污染的虾苗其代谢物在体内的残留时间最长不超过50 d, 在虾苗中使用呋喃西林不会对成品虾造成残留影响。

3.3 呋喃唑酮代谢物的残留情况

呋喃唑酮代谢试验结果显示, 污染结束时虾苗体内呋喃唑酮代谢物质量分数为 $960.00 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 第4天时降为 $173.00 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 第16天时降至 $6.31 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 前4 d代谢物下降了82%, 后12 d代谢物下降了17.4%, 呋喃唑酮代谢物在对虾体内的残留呈现先快后慢逐渐下降的趋势, 20 d后呋喃唑酮代谢物已未检出(低于方法检出限)。室内试验结果表明, 呋喃唑酮污染的虾苗其代谢物在体内的残留时间最长不超过20 d, 在虾苗中使用呋喃唑酮不会对成品虾造成残留影响。

3.4 呋喃西林和呋喃唑酮原药的检测

经过24 h药浴给药后, 将虾苗移池的同时抽取0 h的样品, 参考CHU等^[18]、COOPER等^[19]和

WICKRAMANAYAKE等^[20]的方法, 呋喃西林和呋喃唑酮的原药均未检出, 其后各个时间点抽取的样品也未能检测到。说明这2种药在凡纳滨对虾苗的体内代谢速度很快, 24 h内已全部转化为各自的代谢物。根据农业部783号公告-1-2006的编制说明, 硝基呋喃类药物在进入动物体内几个小时后就全部转化为其各自的代谢物, 该研究得到了相同的结果。

3.5 室内池与室外池检测结果的比较

为了尽可能真实地模拟实际生产过程, 通过访问育苗场技术人员, 此研究采用的药物污染质量分数和污染方法参照药物禁用前育苗场的习惯用量和方法进行, 同时选择了室外养殖池, 采用相同的试验方案, 进行了室外池与室内池检测结果的比对和验证。凡纳滨对虾苗使用呋喃西林和呋喃唑酮后在室外池养殖时的药物代谢规律与室内池基本相同, 但消除速度稍快。其原因可能是硝基呋喃类药物及其代谢物见光均易分解, 室内养殖池缺乏直射阳光, 药物的降解速率低。另外, 此试验为单次给药, 室内池藻类比较少, 虾苗生长慢, SEM和AOZ在对虾体内的代谢速度也会比室外养殖池慢。

4 结论

采用混饲的方式对凡纳滨对虾苗给药, 呋喃西林在对虾体内的 $t_{1/2ke}$ 约为39.4 h, 呋喃唑酮的 $t_{1/2ke}$ 约为33.5 h。给药55 d后2种药物及其代谢物在凡纳滨对虾体内均未检测到。试验表明, 凡纳滨对虾成虾产品中呋喃西林和呋喃唑酮代谢物的残留不是由育苗期使用这些药物造成。

参考文献:

- [1] 闵信爱. 南美白对虾养殖技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2002: 1-10.
MIN Xin'ai. *Penaeus vannamei* farming techniques[M]. Beijing: Golden Shield Press, 2002: 1-10. (in Chinese)
- [2] ELEONORA T A, LEOBERT D. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds[J]. *Aquaculture*, 2000, 195(7): 193-204.
- [3] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 241.
CHEN Zhangliu. *Veterinary pharmacology*[M]. 2nd ed. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2002: 241. (in Chinese)
- [4] MCCALLA D R. Mutagenicity of nitrofurans derivatives: review[J]. *Environ Mutagen*, 1983, 5(3): 745.
- [5] LAURENTIUS A P, HOOGENBOOM G D. Absorption of a muta-

- genic metabolite released from protein bound residues of furazolidone [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2002, 11(3): 273–287.
- [6] OBERT J, CRACKEN D, GLENN K. 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.
- [7] 谭志军, 翟毓秀, 冷凯良, 等. 呋喃西林和呋喃唑酮代谢物在大菱鲆组织中的消除规律 [J]. *中山大学学报*, 2008, 47(7): 63–69.
- TAN Zhijun, ZHAI Yuxiu, LENG Kailiang, et al. The depuration rules of the metabolites of furazolidone and nitrofurazone in turbot *Scophthalmus maximus* [J]. *Acta scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2008, 47(7): 63–69. (in Chinese)
- [8] 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 Weihai, LIN Liming, ZHU Xiaobin, et al. The research of residues of furazolidone and its metabolite in tilapias by HPLC/MS [J]. *J Shanghai Fish Univ*, 2005, 14(1): 35–39. (in Chinese)
- [9] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部公告第 235 号 动物性食品中兽药最高残留限量 [EB/OL]. (2002-12-24). [2011-10-10]. http://www.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/gg/200302/t20030226_59300.htm.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. No. 235 Bulletin of Ministry of Agriculture. MRLs of veterinary drugs in animal food [EB/OL]. (2002-12-24) [2011-10-10]. http://www.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/gg/200302/t20030226_59300.htm. (in Chinese)
- [10] RADOVNIKOVIC A, MOLONEY M, BYRNE P, et al. Detection of banned nitrofurantoin metabolites in animal plasma samples using UHPLC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2011, 879(2): 159–166.
- [11] RODZIEWICZ L. Determination of nitrofurantoin metabolites in milk by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 864(1/2): 156–160.
- [12] RODZIEWICZ L, ZAWADZKA I. Determination of nitrofurantoin metabolites residues in animal tissues by LC-MS/MS method [J]. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2007, 58(4): 625–632.
- [13] LEITNER A, ZOLLNER P, LINDNER W. Determination of the metabolites of nitrofurantoin antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 939(1/2): 49–58.
- [14] COOPER K M, KENNEDY D G. Stability studies of the metabolites of nitrofurantoin antibiotics during storage and cooking [J]. *Food Addit Contam*, 2007, 24(9): 935–942.
- [15] 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]. 2006-12-19.
- 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]. 2006-12-19. (in Chinese)
- [16] 赵艳, 张凤桦, 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 Yan, ZHANG Fengping, LIU Yaomin. Determination of residues of nitrofurantoin metabolites in *Litopenaeus vannamei* by UPLC-MS/MS [J]. *South China Fish Sci*, 2011, 7(4): 55–60. (in Chinese)
- [17] 刁石强, 吴燕燕, 李来好, 等. 高效液相色谱法测定水产养殖底泥中呋喃唑酮残留量的研究 [J]. *南方水产*, 2010, 6(2): 53–58.
- DIAO Shiqiang, WU Yanyan, LI Laihao, et al. Study on HPLC determination of furazolidone residue in sediment of aquaculture pond [J]. *South China Fish Sci*, 2010, 6(2): 53–58. (in Chinese)
- [18] CHU P S, LOPEZ M I, ABRAHAM A, et al. Residue depletion of nitrofurantoin drugs and their tissue-bound metabolites in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) after oral dosing [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(17): 8030–8034.
- [19] COOPER K M, MCCracken R J, BURMAN M, et al. Residues of nitrofurantoin antibiotic parent compounds and metabolites in eyes of broiler chickens [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2008, 25(5): 548–556.
- [20] WICKRAMANAYAKE P U, TRAN T C, HUGHES J G, et al. Simultaneous separation of nitrofurantoin antibiotics and their metabolites by using micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *Electrophoresis*, 2006, 27(20): 4069–4077.