

罗氏沼虾氨基脒分布特征及贮藏变化研究

高芳芳^{1,2}, 王迪², 陈胜军¹, 邓建朝¹, 冯阳², 潘创², 李春生²

1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306

2. 中国水产科学研究院南海水产研究所/国家水产品加工技术研发中心/农业农村部水产品加工重点实验室, 广东 广州 510300

摘要:氨基脒 (Semicarbazide, SEM) 为一种有毒物质, 是判断呋喃西林是否违规使用的标记性残留物。为探讨甲壳类产品中氨基脒的检出情况, 采用高效液相色谱-串联质谱联用法 (High performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 对罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 中的SEM进行了检测。结果显示, 罗氏沼虾不同部位均检出SEM, 其中头胸甲和虾壳等甲壳部位SEM检出值较高 [平均 (32.02 ± 3.75) 和 $(26.85 \pm 13.90) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$], 肌肉和肝脏的SEM检出值较低 [平均 (1.35 ± 0.67) 和 $(5.56 \pm 0.87) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$], 均超过我国现行规定的残留限量标准 ($1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$); 罗氏沼虾壳和虾肉中的SEM检出值随贮藏时间的增加而减小, 甲壳组织中SEM检出值始终高于 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而不同贮藏温度对罗氏沼虾中SEM检出值影响较小。因此, 以SEM为标志物对罗氏沼虾进行呋喃西林残留检测时, 应考虑样品贮藏时间及本底含量因素, 以避免误判; 同时为确保检测结果的真实性和准确性, 在制备样品时应避免将碎壳混入虾肉中。

关键词: 罗氏沼虾; 氨基脒; 分布特征; 贮藏时间; 贮藏温度

中图分类号: S 984.2⁺1

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Study on distribution characteristics and storage variation of semicarbazide in *Macrobrachium rosenbergii*

GAO Fangfang^{1,2}, WANG Di², CHEN Shengjun¹, DENG Jianchao¹, FENG Yang², PAN Chuang², LI Chunsheng²

1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/National R&D Center for Aquatic Product Processing/Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China

Abstract: Semicarbazide (SEM) is a toxic substance, which is a marker residue to determine whether Nitrofurazone is used illegally or not. To explore the detection of SEM in Crustacean aquatic products, we detected the SEM content of *M. rosenbergii* by High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS). The results show that SEM was detected in different parts of *M. rosenbergii*, higher in the cephalothorax and shrimp shell [Average: (32.02 ± 3.75) and $(26.85 \pm 13.90) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$], but lower in the muscle and liver [Average: (1.35 ± 0.67) and $(5.56 \pm 0.87) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$], and all exceeded the residue limit standards in China ($1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The SEM content in the shrimp shell and shrimp meat increased with the prolongation of storage time, but that in the shrimp shell was higher than $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Different storage temperatures had a little effect on the SEM content of *M. rosenbergii*. Therefore, when taking SEM as a marker for Nitrofurazone residue detection of *M. rosenbergii*, the detection time and background content factors should be considered so as to avoid false judgment; and in order to ensure the authenticity and accuracy of the test results, the crushed shell should be avoided in preparing samples.

收稿日期: 2022-05-14; 修回日期: 2022-06-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32072147); 广东省重点领域研发计划项目 (2019B020225001); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项资金 (2020TD69); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金 (2022KJ151)

作者简介: 高芳芳 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产品质量安全。E-mail: gff2201719230@163.com

通信作者: 陈胜军 (1973—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为水产品加工与质量安全控制。E-mail: chenshengjun@scsfri.ac.cn

Keywords: *Macrobrachium rosenbergii*; Semicarbazide; Distribution characteristics; Storage time; Storage temperature

硝基呋喃醛的衍生物呋喃西林是一种人工合成的广谱抗菌剂。作为饲料添加剂,呋喃西林在水产养殖中用于水生动物肠道细菌感染等疾病预防和治疗,并可促进水生动物的生长^[1-2]。氨基脒(Semicarbazide, SEM)是判断呋喃西林是否违规使用的标记性残留物,在动物体内与蛋白质结合后长期稳定存在^[3-4]。研究表明,呋喃西林对人体健康表现出显著的致癌、致突变和致畸作用。SEM是化学致癌物联氨的一种,在动物源性食品中的残留可以通过食物链传递给人类,摄入过多会导致贫血、肝坏死、神经炎等疾病,对人体眼球及DNA也会造成一定的损伤^[5-6]。中国、美国、日本及欧盟等多个国家禁止在食品和动物生产中使用呋喃西林化合物,规定呋喃西林及代谢物在动物源性食品中不得检出^[7]。农业农村部在下达监督抽查任务时,对动物性食品中的呋喃西林代谢物设定的最低检出值为 $1.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[8]。尽管世界各国对使用呋喃西林药物有明确的法律禁止,但由于其低廉的价格、良好的药效及促生长作用^[9],呋喃西林在水产养殖中被违规使用的情况频繁发生。近年来,有学者在甲壳类水产品中检测到内源性SEM,甲壳类水产品中SEM检出率高达50%以上^[10-11]。SEM成为了一种重要的水产品污染物。

罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*),俗称淡水长臂大虾,原产于印度、太平洋地区,1976年由日本引入中国,已在广东、广西、福建等南方沿海省市实现大面积养殖,并逐步向北方内陆地区扩展^[12]。罗氏沼虾生长迅速、繁殖能力强、营养价值高,具有较高的经济价值。2020年我国罗氏沼虾养殖产量达16.18万吨,比2019年增长15.96%,成为支撑我国淡水渔业的主要养殖产品之一^[13]。然而,近年来频繁出现罗氏沼虾中SEM检出超标,使其品质与安全备受质疑。2017年,在水产品质量安全监督抽查中,广东省肇庆市罗氏沼虾SEM超标率达100%,导致肇庆市超过1万吨罗氏沼虾无法出售,造成经济损失达10亿元^[14]。过高的SEM超标率使罗氏沼虾的质量备受争议,因此,本实验以罗氏沼虾为研究对象,采用高效液相色谱-串联质谱联用法(High performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS/MS),研究了罗氏沼虾不同部位的SEM检出量

以及不同贮藏时间与温度对罗氏沼虾SEM检出量的影响,为罗氏沼虾SEM残留限量的制定及其贮藏动态变化规律提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集及制备

罗氏沼虾成虾采自广东肇庆养殖基地,用便携冰箱运回实验室,平均体质量为 $(45.23\pm 7.65)\text{ g}$,平均生物学体长为 $(10.34\pm 0.74)\text{ cm}$ 。解剖样品,取虾肉、虾壳(背壳)、头胸甲、肢足(大小触角、颚足、步足及腹足)、尾扇及肝等组织样品,将虾肉等样品绞成糜状,虾壳等样品粉碎制成小颗粒状。所有制备好的样品于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存备用。另取足够实验量的虾壳和虾肉分别置于 -5 、 -20 、 -40 和 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 实验冰柜,分别于第0、第7、第14、第21、第28和第60天取样检测SEM。

1.2 化学试剂

SEM标准品,纯度为99.5%(美国Sigma-Aldrich公司);SEM内标($\text{SEM-}^{15}\text{N}_2\text{-}^{13}\text{C}$),纯度为99.5%(美国Sigma-Aldrich公司)。乙腈和2-硝基苯甲醛(质谱纯,美国Thermo Fisher公司);实验用水为MiliQ超纯水;二甲基亚砜($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$)、磷酸氢二钾(K_2HPO_4)、乙酸乙酯($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$)、盐酸(HCl)、氢氧化钠(NaOH)和正己烷(C_6H_{14})(分析纯,广州化学试剂厂)。

1.3 仪器设备

IKA T50全自动样品快速研磨仪(深圳恒鑫兴有限公司);KH19A台式高速离心机(湖南凯达仪器有限公司);低温冷冻机组(深圳市德尔制冷设备有限公司);Milli-Q超纯水系统(美国Millipore公司);ELMA Transsonic T1-H-10超声波清洗机(深圳福洋科技集团有限公司);涡旋仪(美国Henry Troemner);Waters TQ-S-MicroHPLC-MS/MS(美国Waters公司)。

1.4 样品前处理

1.4.1 水解和衍生化

参考范清涛等^[15],将制备好的样品置于50 mL离心管中,分别加入 $100\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内标工作液0.1 mL, $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 2-硝基苯甲醛溶液0.2 mL,虾肉和内脏中加入 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液5 mL,虾壳中 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液10 mL,涡旋15 min,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒温水浴振荡器中避光振荡16 h。

1.4.2 提取和净化

样品衍生后至室温, 加 2~3 mL 磷酸氢二钾 (K₂HPO₄) 溶液, 调 pH 至中性, 加 6 mL 乙酸乙酯, 涡旋 15 min, 4 200 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液于 10 mL 离心管, 重复提取操作一次, 合并上清液, 水浴 40 ℃ 氮气 (N₂) 吹干。加 0.1% 甲酸水-乙腈 1.5 mL 复溶, 正己烷 1.5 mL 除脂, 涡旋 10 min, 10 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取下清液过 0.22 μm 滤膜, 待测。

1.5 仪器工作条件^[15]

1.5.1 液相色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm×1.7 μm) 反相色谱柱; 流动相: A 为体积分数 0.1% 甲酸水+5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵溶液 (质谱纯), B 为乙腈 (质谱纯); 进样量: 5.0 μL; 柱温: 35 ℃; 流速: 0.35 mL·min⁻¹; 梯度洗脱程序见表 1。

表1 液相色谱梯度洗脱条件
Table 1 Program of gradient elution

时间 t/min	流速 Flow rate/(mL·min ⁻¹)	流动相 A Mobile phase A/%	流动相 B Mobile phase B/%
0	0.35	75	25
3.0	0.35	70	30
4.0	0.35	30	70
4.5	0.35	75	25
6.0	0.35	75	25

1.5.2 SEM 及内标质谱条件

离子源: 电喷雾电离正离子 (electrospray ionization positive ion, ESI+) 模式扫描; 扫描方式: 多反应监测 (Multiple-reaction monitoring, MRM) 模式; 喷雾电压: 3 500 V; 毛细管电压: 1 000 V; 离子源温度: 120 ℃; 去溶剂温度: 600 ℃; 去溶剂气流: N₂, 流速 1 000 L·h⁻¹; 锥孔气流: N₂, 流速为 50 L·h⁻¹。母离子、子离子、锥孔电压、碰撞能量见表 2。

1.6 标准曲线和检出限

准确移取 1 ng·mL⁻¹ SEM 标准工作溶液 0.5 mL, 10 ng·mL⁻¹ SEM 标准工作溶液 0.1、0.5 mL; 100 ng·mL⁻¹ SEM 标准工作溶液 0.1、0.2、0.5 和 1.0 mL 于 7 个 50 mL 离心管中, 除不加样品外^[15]。按 1.4 步骤操作, 按 1.5 条件检测。

1.7 回收率和精密度

为考察本方法对虾体中 SEM 检测结果的准确

表2 呋喃西林代谢物及其内标的质谱条件

Table 2 Nitrofurazone metabolites and their internal target mass spectrometry conditions

被测物 Analyte	母离子 Precursor ion/ (m/z)	子离子 Product ion/ (m/z)	锥孔电压 DP/V	碰撞能量 CE/V
氨基脒 SEM	209.1	166.1*	24	9
		192.1	24	10
氨基脒内标 SEM- ¹⁵ N ₂ - ¹³ C	212.1	168.1	24	9

注: *. 定量离子。

Note: *. Quantitative ion.

性和稳定性, 以虾肉为样品进行加标回收实验, 添加水平为 1~10 μg·kg⁻¹。

1.8 数据处理与分析

实验数据采用 Origin 2021、SPSS 2019 和 Excel 2016 软件进行处理和分析。

2 结果

2.1 色谱质谱特征分析

选用 1 μg·mL⁻¹ SEM 标准品和 1 μg·mL⁻¹ SEM 内标工作液对该仪器相关参数进行分析, 分别准确移取 1 mL 标液定容于 2 mL 容量瓶中, 按 1.4 的方法及 1.5 的条件检测, 总离子流图见图 1。SEM 出峰时间约在 1.28 min, 峰形尖锐良好, 灵敏度高, 分离效果良好, 适用于现代水产品安全质量的监测。

2.2 分析方法验证

按 1.6 的方法, 经高效液相色谱质谱联用分析, 绘制标准工作曲线 (图 2)。在 0.5~100 μg·kg⁻¹ 范围内, SEM 质量分数与其峰面积比值线性关系良好, 典型回归方程为: $y=0.111x+0.0078$, $R^2=0.9999$ 。经加标实验确定该方法检出限为 0.25 μg·kg⁻¹ (S/N≥3), 定量限为 0.50 μg·kg⁻¹ (S/N≥10), 能满足本实验 SEM 检测需求。标准添加实验结果见表 3。该方法检测时间短, 准确度、重复性和适用性均良好, 能满足罗氏沼虾中 SEM 分析要求。

2.3 罗氏沼虾中 SEM 的分布特征

本次所检罗氏沼虾的头胸甲、虾壳、尾扇、肢足、肝和虾肉等不同部位均检出 SEM (表 4)。不同组织中 SEM 检出值从高到低依次为: 头胸甲>虾壳>虾尾>肢足>头部组织。莫梦松等^[16] 研究发现罗氏沼虾不同部位的 SEM 检出值不同, 平均为 (12.90±2.47) μg·kg⁻¹, 不同组织中 SEM 检出值从高

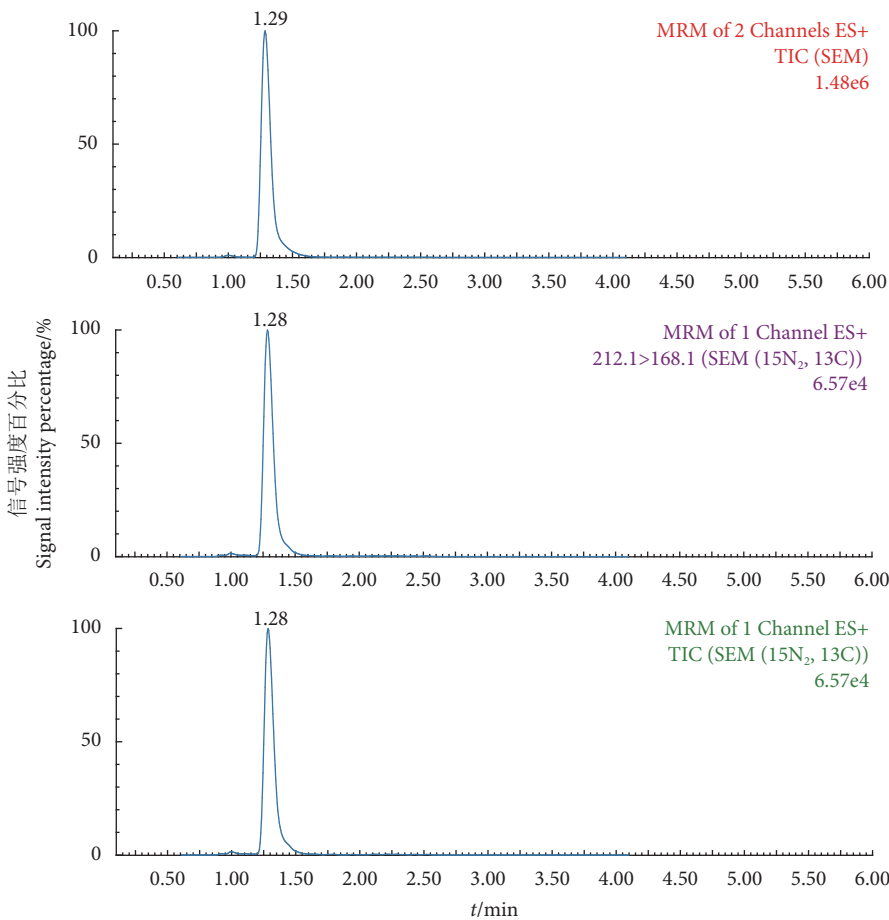


图1 SEM及其内标总离子流图

Fig. 1 SEM and its internal standard total ion flow diagram

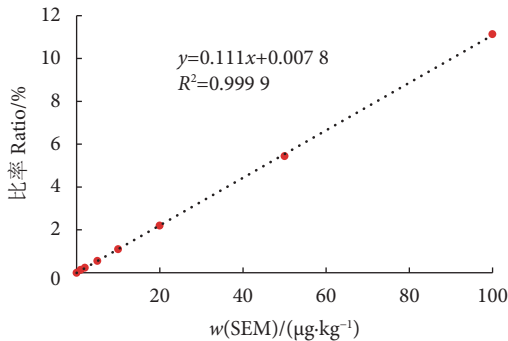


图2 SEM标准曲线图

Fig. 2 SEM standard curve

到低依次为：复眼>外壳>肢足>肠>鳃>肌肉表皮层>肝>生殖腺>肌肉。范清涛^[14]研究发现，无药（呋喃西林）饲养的罗氏沼虾的虾壳和虾肉 SEM 检出值在生长过程中呈现先逐渐上升后又趋于平缓的变化趋势；在养殖过程中罗氏沼虾虾壳和虾肉中均检出 SEM，且虾壳中 SEM 检出量远高于虾肉（15.33~32.10 倍）。Mccracken 等^[17]研究发现孟加拉国野生罗氏沼虾肌肉组织中 SEM 最高检出值为 4.18 μg·kg⁻¹，甲壳中 SEM 平均检出值为虾肉的 100 倍。由此可

表3 样品中SEM的加标回收率和精密度
Table 3 Standard recovery and precision of SEM in samples

加标量 Added amount/(μg·kg ⁻¹)	回收率 Recovery rate/%	相对标准偏差 RSD/%
1	96.00	8.84
5	92.20	6.11
10	97.30	2.02

见，SEM 存在于罗氏沼虾不同部位，但主要集中在甲壳部位，且在生长过程中其含量不断富集。

罗氏沼虾不同部位 SEM 检出值的统计结果见图 3。头胸甲的 SEM 检出值介于 30~40 μg·kg⁻¹ 的占样本总数的 75%，而 SEM 检出值介于 20~30 μg·kg⁻¹ 的占样本总数的 25%；虾壳中 SEM 检出值介于 10~20 μg·kg⁻¹ 的占样本总数的 37.5%，介于 0~10 μg·kg⁻¹、20~30 μg·kg⁻¹、30~40 μg·kg⁻¹ 和 40~50 μg·kg⁻¹ 的分别占样本总数的 12.5%、12.5%、25% 和 12.5%；尾扇中 SEM 检出值介于 20~30 μg·kg⁻¹ 的占样本总数的 75%，其余分别介于

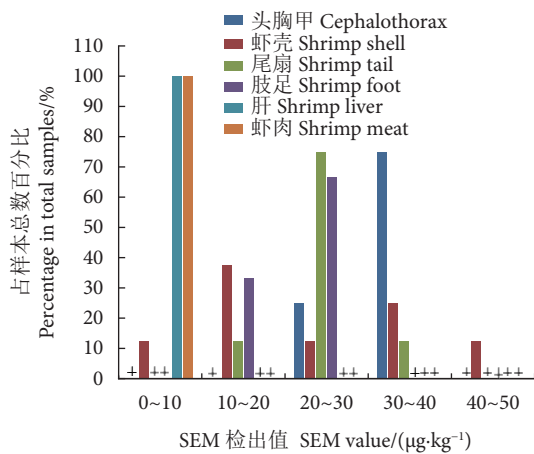
表4 罗氏沼虾不同部位SEM检出值
Table 4 SEM content in different parts of *M. rosenbergii*

样品 Sample	样品数 Number of samples	SEM检出值 SEM content/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	均值 $\pm$ 标准差 $\bar{X}\pm\text{SD}/(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	检出率 Detection rate/%
头胸甲 Cephalothorax	8	26.31~37.54	32.02 $\pm$ 3.75	100
虾壳 Shrimp shell	8	10.80~50.17	26.85 $\pm$ 13.90	100
尾扇 Shrimp tail	8	16.45~30.11	23.97 $\pm$ 4.11	100
肢足 Shrimp foot	6	17.45~24.15	21.03 $\pm$ 2.51	100
肝 Shrimp liver	6	4.59~7.31	5.56 $\pm$ 0.87	100
虾肉 Shrimp meat	8	ND~2.72	1.35 $\pm$ 0.67	87.5

注: ND. 检测结果小于 $0.50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

Note: ND. The result is less than $0.50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

$10\sim20$ 和 $30\sim40\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 均占样本总数的 12.5%; 虾肢足中 SEM 检出值介于 $20\sim30\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的占样本总数的 66.7%, 其余介于 $10\sim20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 均占样本总数的 33.3%; 虾肉和肝中 SEM 检出值介于 $10\sim20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 占样本总数的 100%。



+. 该组织 SEM 含量不在该检出范围内。
+. The SEM content in this tissue is not within this detection range.

图3 罗氏沼虾不同部位SEM检出值的分布情况

Fig. 3 Distribution of SEM values in different parts of *M. rosenbergii*

2.4 罗氏沼虾贮藏期间 SEM 含量变化

采用 HPLC-MS/MS 法对不同贮藏条件下罗氏沼虾虾壳和虾肉的 SEM 检出值进行分析 (图 4)。结果显示, 贮藏期 60 d 内, 随着贮藏时间延长, 罗氏沼虾虾壳和虾肉的 SEM 检出值呈现逐渐下降的趋势。贮藏第 0 天, 虾壳和虾肉的 SEM 检出值分别为 45.50 和 $2.14\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 贮藏第 7 天分别为 34.65 和 $1.93\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 贮藏第 14 天分别为 27.65 和 $1.35\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 贮藏第 28 天分别为 17.52 和 $1.08\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 贮藏第 60 天分别为 11.34 和 $0.74\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

其中虾壳 SEM 检出值在前 7 d 内下降最为明显 (下降 23.85%); 虾肉 SEM 检出值在第 7 至第 14 天下降最明显 (下降 30.05%)。第 28 天开始, 虾壳和虾肉 SEM 检出值的下降趋势逐渐平稳。到贮藏第 60 天, 虾壳和虾肉中的 SEM 检出值较第 0 天分别下降了 65% 和 75.09%。与贮藏第 7 天相比, 虾壳和虾肉中的 SEM 检出值显著高于贮藏第 0 天 ($P<0.05$)。不同贮藏时间的罗氏沼虾虾壳和虾肉 SEM 检出值均存在显著性差异 ($P<0.05$)。此外, 贮藏期 60 d 内, 不同贮藏温度下, 罗氏沼虾虾壳和虾肉中 SEM 检出值不存在显著性差异 ($P>0.05$), 说明低温贮藏可能对罗氏沼虾的其他品质有影响, 但对 SEM 检测量的影响较小。

2.5 SEM 来源分析

罗氏沼虾虾壳中 SEM 检出量始终高于虾肉, 最高可达虾肉的 21.14 倍 (表 5), 由此推测虾壳是罗氏沼虾 SEM 的主要来源。王鼎南等^[18] 研究发现日本沼虾 (*M. nipponense*) 虾壳中 SEM 检出量是虾肉的 4.11~31.52 倍; 倪永付等^[19] 检测发现微山湖小青虾虾壳中 SEM 检出量是虾肉的 9.11 倍, 与 van Poucke 等^[20] 对罗氏沼虾、Mccracken 等^[17] 对孟加拉国野生淡水明虾 (*M. agwi*) SEM 的检测结果一致。于慧娟等^[21] 对日本沼虾、克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*)、罗氏沼虾等 SEM 检出情况进行研究, 结果显示 SEM 在甲壳组织中的检出量最高, 在肌肉组织中最低。舒秀君^[22] 也发现养殖日本沼虾甲壳组织的 SEM 检出量最高。此外, SEM 还是蜜蜂等昆虫壳组织的成分基团^[23-25]。综上, 甲壳是甲壳类水产动物中 SEM 的主要来源。

王鼎南等^[18] 研究发现, 用甲醇清洗过的日本

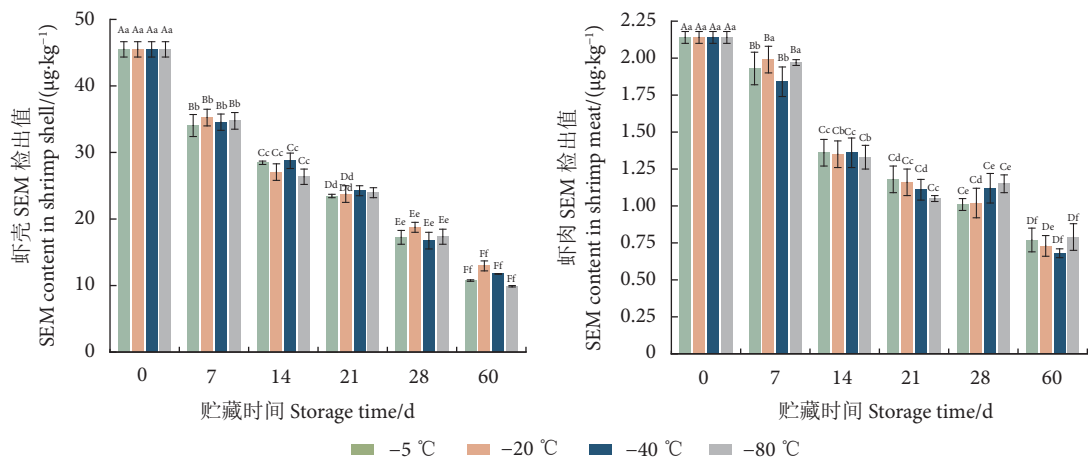


图4 罗氏沼虾贮藏期间SEM检出值变化
注：不同大写字母表示不同贮藏时间下罗氏沼虾 SEM 检出值差异显著 ($P<0.05$)；不同小写字母表示不同贮藏温度下罗氏沼虾 SEM 检出值差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 4 Changes of SEM contents during storage of *M. rosenbergii*
Note: Different uppercase letters indicate significant difference in the SEM content of *M. rosenbergii* at different storage times ($P<0.05$); different lowercase letters indicate significant difference in the SEM content of *M. rosenbergii* at different storage temperatures ($P<0.05$).

表5 罗氏沼虾虾壳和虾肉中SEM的检出值
Table 5 Detection of SEM in shrimp shell and meat of *M. rosenbergii*

样品 Sample	SEM检出值 SEM content/(μg·kg ⁻¹)				
	平行样1 Replicate 1	平行样2 Replicate 2	平行样3 Replicate 3	平行样4 Replicate 4	平均值 Mean
虾壳 Shrimp shell	31.80±1.11	27.63±1.67	29.18±2.03	32.23±1.76	30.21±1.64
虾肉 Shrimp meat	1.93±0.17	1.63±0.09	1.38±0.13	1.73±0.29	1.66±0.17
比值 Ratio	16.47	16.95	21.14	18.63	18.19

沼虾虾肉 SEM 检出量明显低于未清洗的,说明虾肉中除了与蛋白质牢固结合的“结合态”SEM外,还存在部分未结合的“游离态”SEM,推测可能是由于虾壳与虾肉未完全分离所致。Mccracken 等^[17]研究发现在虾壳和虾肉之间存在着一层单细胞表皮层,靠近该表皮层的虾肉 SEM 检出量是内层虾肉的 3 倍以上,推测可能是甲壳组织中的 SEM 通过某种方式经过该表皮层转移到虾肉中,这解释了“游离态”SEM 的存在,其转移方式尚待研究。Saari 和 Peltonen^[26]在未食用呋喃西林的野生克氏原螯虾中检测到 SEM,检出量为 12 μg·kg⁻¹,首次提出了甲壳动物自身产生 SEM 的观点。彭婕等^[27]在中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 脱壳后新长出的软壳中检测到 SEM 的存在,而蟹肉中未检出,推测水生动物的甲壳是其内源性 SEM 的主要来源。因此笔者推测,罗氏沼虾虾壳中高含量的 SEM 通过连接壳与肉的单细胞表皮层转移到

虾肉中,且这种转移随着虾的蜕皮成长不断累积,致使虾肉中 SEM 含量随着虾体的生长不断增加。甲壳是虾体所检 SEM 的来源,其生成机理还需要进一步探讨。

3 讨论

基于现有的研究结论,如果继续按照现行的 SEM 残留限量规定执行甲壳类水产品质量监控,不仅会导致呋喃西林药物在水产品中的非法使用,也会对养殖户的养殖积极性和权益产生消极影响,故有必要对甲壳类水产品中内源性 SEM 的形成途径进行深入研究。周萍等^[28]研究发现未食用任何药物的蜂蛹在生长后期 SEM 检出量随着蜜蜂外壳中甲壳素含量的增加而逐渐上升,推测内源 SEM 的形成或与内源甲壳素形成有关。彭婕等^[29]实验证明蟹壳中内源 SEM 的产生与蟹壳中甲壳素和氨基酸组成有关。对于甲壳类水生动物中内源性 SEM

的形成, 目前认为是富含高蛋白质的甲壳动物中的含氮物质, 如精氨酸等参与尿素循环等过程形成的^[30-31]。现有的研究仅推测内源性 SEM 和甲壳有关, 而关于 SEM 的具体形成途径尚无明确的结论。研究已证实, 甲壳类水产品存在内源性 SEM, 且外源摄入不止于呋喃西林药物代谢产生, 显然, 现行的以呋喃西林代谢物 SEM 为标志物建立的 HPLC-MS/MS 检测呋喃西林是否超标的方法不可行。王建^[32]通过研究呋喃西林原药在动物体内的其他代谢物 5-硝基-2-糠醛, 建立了呋喃西林检测新方法, 但由于 5-硝基-2-糠醛的光敏感性和液相检出限过高等原因, 目前仍未取得良好的效果。

SEM 在人体组织形态学研究水平上会直接导致多种人体器官的组织形态发生改变, 并且对神经系统、内分泌系统的免疫功能也会产生重大影响^[33-34]。深入分析研究甲壳类水产品中 SEM 的主要来源及形成作用机理对于促进 SEM 生物残留量国家标准不断修订、食品检测检验方法不断优化以及保障我国水产品养殖业健康有序发展等均将具有十分重大的意义。未来应继续加强对甲壳类水产品 SEM 的主要来源、形成机理的研究, 为当前制订国家 SEM 食品环境标准和实施食品安全质量标准工作提供大量基础科学数据。

4 结论

本研究对罗氏沼虾不同部位的 SEM 检出情况及 SEM 在贮藏期间的变化进行了研究, 发现其不同部位均检出不同程度的 SEM, 其中头胸甲、虾壳等甲壳部位的检出量较高, 肌肉和肝的检出量较低, 但均超过我国现行残留限量标准 ($1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); 此外, 罗氏沼虾虾壳和虾肉中的 SEM 检出量与贮藏时间呈反比, 虾壳中 SEM 检出量高于限量标准 ($1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 而贮藏温度的变化对于 SEM 的检出影响较小, 这可能是由于 SEM 结构中的酰胺结构影响。在对罗氏沼虾进行呋喃西林残留监测时, 应考虑检测时间和本底含量因素的影响。另外, 考虑到甲壳中可能存在的“游离态”SEM, 故在制样时应防止碎壳混入虾肉中, 从而确保检测结果的真实性和准确性。

参考文献:

- [1] 薛瑾, 林慧, 潘玉宁, 等. 动物源性食品中呋喃西林及其代谢物检测方法研究 [J]. 江苏预防医学, 2022, 33(1): 47-50.
- [2] 魏涯, 岑剑伟, 郝淑贤, 等. 高效液相色谱法测定池塘底泥中呋喃西林的研究 [J]. 南方水产科学, 2014, 10(1): 71-77.
- [3] WANG Q, WANG X F, JIANG Y Y, 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): 19243-19251.
- [4] POINTS J, BURNS D T, WALKER M J. Forensic issues in the analysis of trace nitrofurans veterinary residues in food of animal origin[J]. Food Control, 2015, 50(11): 92-103.
- [5] TIAN W R, SHANG Y X, WANG X H. Semicarbazide from state of the art analytical methods and exposure to toxicity: a review[J]. Food Addit Contam Part A, 2014, 31(11): 1850-1860.
- [6] 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.
- [7] 赵飞越, 赵芳, 王桥, 等. 长江中下游地区克氏原螯虾氨基脒污染现状及其组织分布特征 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(5): 1648-1653.
- [8] 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.
- [9] 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, 2015, 32(11): 1842-1850.
- [10] 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.
- [11] 朱盼盼, 邢丽红, 李兆新, 等. 甲壳类水产品中氨基脒研究进展 [J]. 青岛大学学报 (工程技术版), 2021, 36(3): 55-64.
- [12] 杨国梁, 陈雪峰, 王军毅, 等. 罗氏沼虾产业在中国持续增长的经济与社会原因分析 [J]. 浙江海洋学院学报 (自然科学版), 2011, 30(5): 450-457.
- [13] 罗茵. 《2020 中国渔业统计年鉴》出版广东水产品总产量首次全国第一 [J]. 海洋与渔业, 2020(6): 12-13.
- [14] 范清涛. 养殖虾类中 SEM 的检测方法与来源研究 [D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021: 29-36.
- [15] 范清涛, 陈胜军, 邓建朝, 等. 甲壳类水产品中氨基脒产生及控制方法研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(5): 1439-1445.
- [16] 莫梦松, 蔡楠, 李来好, 等. 罗氏沼虾成虾中氨基脒的分布特征 [J]. 渔业科学进展, 2022, 43(3): 103-109.
- [17] 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(34): 825-832.
- [18] 王鼎南, 周凡, 李诗言, 等. 甲壳类水产品中呋喃西林代谢物 SEM 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.
- [19] 倪永付, 朱莉萍, 王勇, 等. 微山湖小青虾各部分呋喃西林代谢物含量测定 [J]. 食品与发酵科技, 2012, 48(1): 86-88.
- [20] van POUCKE C, DETAVERNIER C, WILLE M, et al. Investigation into the possible natural occurrence of semicarbazide in *Mac-*

- roburchium rosenbergii* prawns[J]. J Agr Food Chem, 2011, 59(5): 2107-2112.
- [21] 于慧娟, 李冰, 蔡友琼, 等. 液相色谱-串联质谱法测定甲壳类水产品中氨基脲的含量 [J]. 分析化学, 2012, 40(10): 1530-1535.
- [22] 舒秀君. 日本沼虾中氨基脲的存在特征研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2020: 36-47.
- [23] 张平安, 张建威, 乔明武, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中硝基呋喃代谢物的研究 [J]. 浙江农业科学, 2010(3): 611-614.
- [24] 高洋洋, 刘鑫, 陈广全. 蜂蜜中硝基呋喃代谢物的超高效液相色谱-串联质谱测定法 [J]. 职业与健康, 2018, 34(13): 1764-1768.
- [25] 赵天祯, 马占峰, 张莹. 蜂蜜中氨基脲本底来源研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(11): 3401-3404.
- [26] SAARI L, PELTONEN K. Novel source of semicarbazide: levels of semicarbazide in cooked crayfish samples determined by LC/MS/MS[J]. Food Addit Contam, 2004, 21(9): 825-832.
- [27] 彭婕, 吕磊, 喻亚丽, 等. 中华绒螯蟹中内源性 SEM 的产生途径研究 [J]. 淡水渔业, 2019, 49(3): 108-112.
- [28] 周萍, 胡福良, 章征天, 等. 雄蜂蛹中硝基呋喃类代谢物含量的测定及超标原因分析 [J]. 中国蜂业, 2008(7): 5-9.
- [29] 彭婕, 甘金华, 陈建武, 等. 中华绒螯蟹中 SEM 的分布及产生机理分析 [J]. 淡水渔业, 2015, 45(4): 108-112.
- [30] YU W L, LIU W H, TIAN W R. Semicarbazide universality study and its speculated formation pathway[J]. J Food Saf, 2019, 39(1): 1-8.
- [31] CAO A L, CAI L Y, CHEN Y L, et al. Production mechanism of semicarbazide from protein in chinese softshell turtles at different trying temperatures based on TMT-tagged quantitative proteomics[J]. J Food Compost Anal, 2021, 99(1): 103872.
- [32] 王建. 甲壳类水产中呋喃西林及 SEM 的研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015: 47-59.
- [33] 高素, 汝少国. SEM 的毒性效应研究进展 [J]. 环境科学研究, 2013, 26(6): 637-644.
- [34] 李培源, 周泉, 贾智若. 氨基硫脲型钨配合物的合成和结构研究 [J]. 广州化工, 2019, 47(14): 42-44.