

氨基脲在栉孔扇贝体内的生物富集与消除规律

徐英江^{1,2}, 田秀慧^{1,2}, 任传博³, 于召强³, 宫向红^{1,2},
刘慧慧^{1,2}, 刘义豪^{1,2}, 刘云⁴, 张秀珍^{1,2}, 张利民^{1,2*}

(1. 山东省海洋水产研究所, 山东 烟台 264006;

2. 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东 烟台 264006;

3. 烟台山水海产有限公司, 山东 烟台 264006;

4. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 采用超高效液相色谱-串联质谱法进行了氨基脲在栉孔扇贝闭壳肌、外套膜与鳃、消化盲囊不同组织中生物富集和消除规律的研究。在所研究的 3 个组织中, 随海水中氨基脲浓度的增加, 蓄积量逐渐增加。消化盲囊富集最高值最大, 富集能力最强, 而且表现出最快的平均消除速度。栉孔扇贝各组织对氨基脲的富集作用: 消化盲囊 > 外套膜和鳃 > 闭壳肌; 且各组织中氨基脲含量与曝污浓度呈正相关。氨基脲主要富集在栉孔扇贝的消化盲囊及外套膜和鳃中, 闭壳肌中含量较少。栉孔扇贝各组织对氨基脲的消除作用: 闭壳肌 > 外套膜和鳃 > 消化盲囊, 但在高浓度条件下, 闭壳肌也要经过一段时间的净化, 氨基脲含量才能降低至 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下。采用 DAS 2.0 药物代谢动力学参数计算程序, 处理曝污后栉孔扇贝体内的氨基脲含量-时间数据, 计算有关药物动力学参数。结果发现各组织药物浓度-时间曲线下面积 (AUC) 相差较大, 说明组织不同, 对药物的蓄积能力有所差别。以 20.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度为例, 经 42 d 消除试验后, 闭壳肌 (5.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、外套膜与鳃 (9.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 及消化盲囊 (15.81 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 中均有氨基脲存在, 且远高于规定值, 各组织氨基脲消除率逐渐降低, 依次为 91.3%、90.0%、89.6%。在本试验条件下, 氨基脲在 1.0、5.0 和 20.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度下连续曝污 8 d 后, 消除期分别定为 15、50 和 70 d; 并且水温高时可适当缩短消除期, 水温低时可适当延长消除期。

关键词: 栉孔扇贝; 氨基脲; 富集; 消除; 超高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号: X 292; S 917.4

文献标志码: A

氨基脲作为水产养殖用抗菌药呋喃西林的代谢产物之一^[1-3], 与水产品细胞膜蛋白紧密结合成为结合态, 能长期保持稳定^[4-5]。研究证明, 氨基脲作为联氨化合物的一种, 在雄性小鼠实验中显示其具有一定的致癌性, 能够引起肺部和血管肿瘤^[6]。虽然氨基脲是联氨类化合物中致癌性最弱的, 但是早在 2003 年, 欧洲食品安全局 (EFSA) 就在国际上发出预警, 并已经断言食品中氨基脲的聚集必然危害人类的健康^[7-9]。

国内外水产养殖中对于抗菌药物的生物富集和消除规律研究主要集中于土霉素^[10-11]、磺胺类^[12-14]及喹诺酮类^[15-16]等药物, 关于氨基脲在水生生物中的生物富集和消除规律研究较少^[17-18], 栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 体内氨基脲的富集和消除规律研究未见报道。随着我国水产养殖业的迅猛发展, 关于近岸经济贝类对抗生素污染的研究已经迫在眉睫。针对氨基脲在栉孔扇贝体内的富集及消除规律进行研究, 以期对贝类安全养殖和海洋环境保护提供依据。

收稿日期: 2012-07-26 修回日期: 2012-10-24

资助项目: 海洋公益性行业科研专项 (200805031); 山东省科学技术发展计划 (2012GHY11517); 泰山学者岗位资助

通信作者: 张利民, E-mail: zhanglimin@126.com

1 材料与amp;方法

1.1 药品与试剂

甲醇、乙酸乙酯、甲酸均为色谱纯,盐酸为优级纯,2-硝基苯甲醛、磷酸氢二钾、乙酸铵、二甲基亚砜均为分析纯,所用水为超纯水;氨基脲标准品(纯度 > 98%),内标 SEM-¹³C-¹⁵N₂(纯度 > 95%)。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱-串联质谱仪(Quattro Premier XE, Waters, USA),超纯水仪(Milli-Q Gradient, Millipore, France),高速离心机(TGL-10C,上海安亭科学仪器厂),超声波清洗器(KQ-600E,昆山市超声仪器有限公司),氮吹仪(N-EVAPTM 112, Organomation Associates, USA),水浴恒温振荡器(SHA-B,常州国华电器有限公司)。

1.3 试验设计及采样程序

健康栉孔扇贝由泰祥公司提供,贝类壳长为4 cm左右。实验前在1 m³水族箱内暂养1周(经检测不含氨基脲),每天换水1次。经挑选洗净后,选大小均匀、体质量正常个体进行试验。试验容器为长方形玻璃水槽(70 cm × 40 cm × 50 cm),试验用水为洁净海水(经检测不含氨基脲),连续充氧,保持水中溶解氧大于5.0 mg/L。

栉孔扇贝对氨基脲的富集试验和消除试验均在室内进行,选择经过暂养的健康栉孔扇贝,随机分为10个组,每组约120个栉孔扇贝,设1.0、5.0和20.0 μg/L 3个浓度组和1个对照组^[18],每个浓度组在相同的试验条件下设置3个重复组。富集和消除试验在半静态条件下进行,即每天换一次相同氨基脲浓度的海水;换水的同时投喂硅藻。富集试验开始后分别于曝污后8 d内每天进行采样,每次采样从各组随机取出3只栉孔扇贝用于测定体内不同组织器官氨基脲含量,第9天起进行栉孔扇贝体内氨基脲的消除试验,换水、喂养方法都与富集试验相同,1.0 μg/L浓度组于停药后2、4、6、8、10和12 d采样,5.0和20.0 μg/L浓度组分别于停药后2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、25、28、31、34、37、40和42 d采样,直至消除试验结束。试验过程中每天记录水温和各组栉孔扇贝的死亡情况。

1.4 样品预处理

参照《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》进行。

1.5 超高效液相色谱-串联质谱分析方法

色谱柱:ACQUITYTM BEH C₁₈(1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm);流动相:甲醇和含有0.1%甲酸的5 mmol/L乙酸铵溶液;流速:0.25 mL/min;进样量:10 μL;柱温:40℃。

电离方式:ESI+;电离电压:2.80 kV;离子源温度:110℃;锥孔反吹气流量:50 L/h;脱溶剂气温度:350℃;脱溶剂气流量:700 L/h;SEM监测离子对:209.27 > 166.02, 209.27 > 191.98;SEM-¹³C-¹⁵N₂监测离子对:212.22 > 168.04。

1.6 数据处理方法

每个时间点的测定值取重复组的平均值,采用DAS 2.0药物代谢动力学参数计算程序,在计算机上处理曝污后栉孔扇贝体内的氨基脲含量-时间数据,计算出有关药物动力学参数。

2 结果

2.1 栉孔扇贝闭壳肌对氨基脲的富集和消除规律

栉孔扇贝在氨基脲浓度为1.0、5.0和20.0 μg/L的海水中培养时,在药浴8 d条件下,闭壳肌对氨基脲呈现持续富集,平均富集速度分别为0.55、4.89和8.49 μg/(kg·d),而且均出现前期平均富集速度慢于后期的趋势(图1)。到第8天投药结束时,栉孔扇贝闭壳肌中氨基脲含量分别达到4.37、39.11和67.89 μg/kg,相对于曝污浓度分别富集了4.37倍、7.82倍和3.39倍。消除试验开始后,栉孔扇贝闭壳肌内氨基脲含量逐渐降低,到试验结束时,栉孔扇贝闭壳肌中氨基脲含量分别为0、0和5.94 μg/kg,在低浓度(1.0和5.0 μg/L)中,闭壳肌内氨基脲均已消除完全。其平均消除速度分别0.36、0.93和1.48 μg/(kg·d)。

栉孔扇贝闭壳肌对氨基脲有一定的富集性,随着海水中氨基脲浓度升高,闭壳肌中氨基脲含量也上升。对不同氨基脲浓度药浴下的栉孔扇贝,停药后氨基脲平均消除速度呈上升趋势;但不同浓度在消除相同时间后,氨基脲的残留量是逐渐增大的。所以,在氨基脲污染严重的海水中生长的栉孔扇贝,收获后须经较长时间净化才能安全食用。

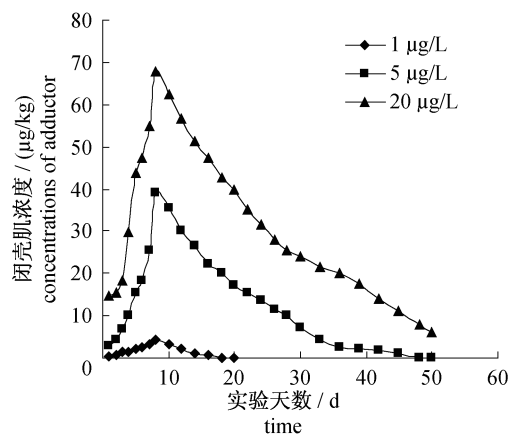


图1 不同氨基脲浓度下栉孔扇贝闭壳肌对氨基脲的富集和消除曲线

Fig.1 Accumulation and elimination curves of SEM in *C. farreri* adductor at different concentrations

2.2 栉孔扇贝外套膜和鳃对氨基脲的富集和消除规律

栉孔扇贝在 1.0、5.0 和 20.0 $\mu\text{g/L}$ 的海水中培养时,外套膜和鳃对氨基脲的富集及消除显示出一些类似闭壳肌的趋势,在药浴 8 天内对氨基脲持续富集,在第 8 天达到富集最高值,分别为 6.03、47.81 和 98.37 $\mu\text{g/kg}$,相对于曝污浓度分别富集了 6.03 倍、9.56 倍和 4.92 倍;富集平均速度分别为 0.75、5.98 和 12.30 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,同样均现出前期平均富集速度慢于后期的趋势,并且随海水中氨基脲浓度增大,趋势越明显(图 2)。到消除试验结束时,外套膜和鳃中氨基脲含量分别为 0、0.47 和 9.87 $\mu\text{g/kg}$ 。在低浓度(1.0 $\mu\text{g/L}$)海水中,外套膜和鳃中氨基脲均已消除完全,在 5.0 $\mu\text{g/L}$ 海水中,外套膜和鳃中氨基脲含量降低至检出限以下;平均消除速度分别 0.50、1.13 和 2.11 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。

类似闭壳肌,栉孔扇贝外套膜和鳃对氨基脲也具有一定的富集性,同样随着海水中氨基脲浓度升高,外套膜和鳃中氨基脲含量也逐渐上升。对于不同氨基脲浓度药浴下的栉孔扇贝,停药后外套膜和鳃中氨基脲的消除情况与闭壳肌中趋势相似,且相比较闭壳肌中含量,相同消除时间后,外套膜和鳃中氨基脲含量比闭壳肌中含量高。所以若食用栉孔扇贝外套膜和鳃部分,收获后须经更长时间净化才能安全食用。

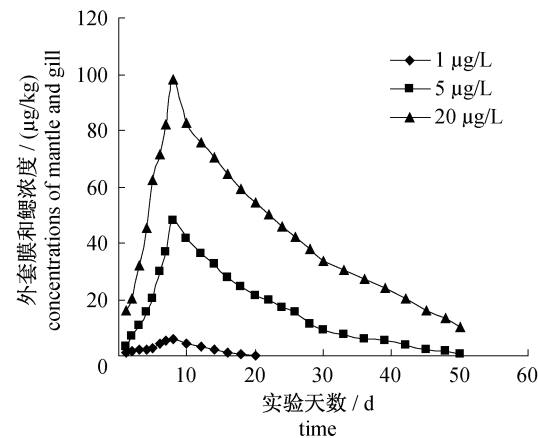


图2 不同氨基脲浓度下栉孔扇贝外套膜和鳃对氨基脲的富集和消除曲线

Fig.2 Accumulation and elimination curves of SEM in *C. farreri* mantle and gill at different concentrations

2.3 栉孔扇贝消化盲囊对氨基脲的富集和消除规律

相比较氨基脲在闭壳肌及外套膜和鳃中的富集,消化盲囊表现出明显的富集性,特别是在高浓度氨基脲中(20.0 $\mu\text{g/L}$)。同样在实验投药的第 8 天达到富集最高值,在 1.0、5.0 和 20.0 $\mu\text{g/L}$ 的海水中分别为 8.77、53.53 和 151.42 $\mu\text{g/kg}$,相对于曝污浓度分别富集了 8.77 倍、10.71 倍和 7.57 倍;富集平均速度分别为 1.10、6.69 和 18.93 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,同样均出现前期平均富集速度慢于后期的趋势,并且随海水中氨基脲浓度增大,富集速度增大趋势越明显(图 3)。到消除试验结束时,消化盲囊中氨基脲含量分别为 0.48、1.02 和 15.81 $\mu\text{g/kg}$ 。在低浓度(1.0 $\mu\text{g/L}$)海水中,消化盲囊内氨基脲含量降至检出限以下;在 5.0 和 20.0 $\mu\text{g/L}$ 中,消化盲囊内氨基脲含量均大于 1.0 $\mu\text{g/kg}$;平均消除速度分别为 0.69、1.25 和 3.23 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。

随着海水中氨基脲浓度升高,消化盲囊中氨基脲含量上升;这一点与闭壳肌、外套膜和鳃中的变化趋势相同,而且在相同浓度下,消化盲囊中含量是最大的。对于不同氨基脲浓度药浴下的栉孔扇贝,停药后经相同消除时间后,消化盲囊中氨基脲含量最高。栉孔扇贝消化盲囊对氨基脲的富集作用要高于外套膜和鳃及闭壳肌,表现在以下 3 个方面:(1)在相同氨基脲浓度的海水中药浴时,消化盲囊的平均富集速度、富集最高值以及富集最大倍数均高于闭壳肌、外套膜和鳃;(2)消化盲囊富集速度与消除速

度的比值高于栉孔扇贝闭壳肌、外套膜和鳃;(3)在同样氨基脲浓度海水中培养时,消化盲囊内氨基脲残留量要远高于闭壳肌、外套膜和鳃中残留量。

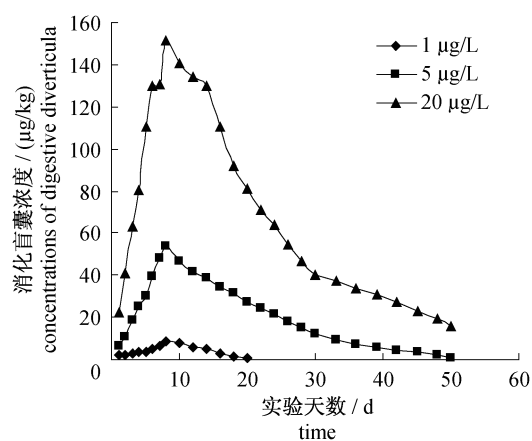


图3 不同氨基脲浓度下栉孔扇贝消化盲囊对氨基脲的富集和消除曲线

Fig. 3 Accumulation and elimination curves of SEM in *C. farreri* digestive diverticula at different concentrations

2.4 氨基脲在栉孔扇贝闭壳肌、外套膜和鳃、消化盲囊中富集和消除情况比较

一般认为,环境中污染物进入水生动物体内的途径有3条,即通过呼吸作用由鳃进入体内、通过食物由消化道进入体内和通过体表渗透进入体内,最终进入血液流经全身,从而在各个部位蓄积。氨基脲通过药浴方式进入栉孔扇贝组织中,但不同组织对其富集能力和消除能力均不相同。消化盲囊,即双壳类的肝脏,在体内主要起着解毒作用。消化盲囊无法通过药浴方式直接从水体中富集氨基脲,可能是水体中的氨基脲通过鳃(少数通过体表)渗

透到血液中再经消化盲囊,氨基脲大部分被消化盲囊截留积蓄在其中,因此在所研究的3个组织中,消化盲囊富集最高值最大,富集能力最强,而且表现出最快的平均消除速度。当消化盲囊不能对某浓度的氨基脲进行全部截留时,致使一部分氨基脲通过血液循环而被栉孔扇贝其他组织蓄积,同时随海水中氨基脲浓度的增加蓄积量增加。

栉孔扇贝各组织对氨基脲的富集作用:消化盲囊 > 外套膜和鳃 > 闭壳肌;且各组织中氨基脲含量与曝污浓度呈现正相关(表1)。栉孔扇贝消化盲囊对氨基脲的平均富集速度是闭壳肌的2倍左右,对氨基脲的富集最高值及富集最大倍数也是闭壳肌的2倍左右;外套膜和鳃与消化盲囊各评价指标相差不大。由此可见,氨基脲主要富集在栉孔扇贝的消化盲囊及外套膜和鳃中,闭壳肌中含量较少。栉孔扇贝各组织对氨基脲的消除作用:闭壳肌 > 外套膜和鳃 > 消化盲囊,即便如此,闭壳肌也要经过一段时间的净化,氨基脲含量才能降低至0.50 μg/kg以下。但是消化盲囊及外套膜和鳃即使经过较长时间净化,氨基脲残留量仍然相对较高,易对人身体健康产生威胁,所以建议尽量不要使用消化盲囊及外套膜和鳃。从饮食安全角度来讲,食用闭壳肌比食用整体贝肉更安全。在氨基脲污染较严重的海区养殖的栉孔扇贝,收获前一段时间,在洁净的海水里养殖并肥育一段时间,对减少氨基脲的污染是很有效的。

2.5 富集动力学参数测定结果

采用DAS 2.0药物代谢动力学参数计算程序,处理曝污后栉孔扇贝体内的氨基脲含量-时间数据,计算有关氨基脲在栉孔扇贝体内的动力学参数(表2)。

表1 不同浓度下栉孔扇贝闭壳肌、外套膜和鳃、消化盲囊对氨基脲的富集及消除情况比较

Tab. 1 Comparison of accumulation and elimination of SEM in adductor, mantle and gill, digestive diverticula of *C. farreri*

指标 index	闭壳肌 adductor			外套膜和鳃 mantle and gill			消化盲囊 digestive diverticula		
	1.0 μg/L	5.0 μg/L	20.0 μg/L	1.0 μg/L	5.0 μg/L	20.0 μg/L	1.0 μg/L	5.0 μg/L	20.0 μg/L
富集速度/[μg/(kg·d)] accumulation speed	0.55	4.89	8.49	0.75	5.98	12.30	1.10	6.69	18.93
富集最高值/(μg/kg) biggest concentration	4.37	39.11	67.89	6.03	47.81	98.37	8.77	53.53	151.42
富集最大倍数 biggest accumulation times	4.37	7.82	3.39	6.03	9.56	4.92	8.77	10.71	7.57
消除速度/[μg/(kg·d)] elimination speed	0.36	0.93	1.48	0.50	1.13	2.11	0.69	1.25	3.23
残留量/(μg/kg) residue content	0	0	5.94	0	0.47	9.87	0.48	1.02	15.81
富集消除比 accumulation/elimination	1.53	5.26	5.74	1.50	5.29	5.83	1.59	5.35	5.86

表 2 栉孔扇贝闭壳肌、外套膜和鳃、消化盲囊对氨基脲的药物代谢动力学参数
 Tab. 2 Pharmacokinetic parameters of SEM in adductor, mantle and gill, digestive diverticula of *C. farreri*

组织 tissue	C_w / ($\mu\text{g/L}$)	$t_{1/2\alpha}$ / h	$t_{1/2\beta}$ / h	K_a / (1/h)	T_{lag} / h	AUC(0-t)/ $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$	C_{max} / ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	T_{max} / h	$C_{\text{L/F}}$ L/(h/kg)
闭壳肌 adductor	1.0	70.161	79.304	2.947	0	735.401	4.37	192	0.001
	5.0	56.57	159.961	0.019	0	14 273.578	39.11	192	0
	20.0	54.149	310.346	0.176	0	35 205.608	67.89	192	0.001
外套膜和鳃 mantle and gill	1.0	45.163	71.866	0.02	0	1 223.1	6.03	192	0.001
	5.0	185.137	195.945	0.013	0	18 454.189	47.81	192	0
	20.0	249.568	25 580.069	0.01	0	50 500.432	98.37	192	0
消化盲囊 digestive diverticula	1.0	88.664	88.882	0.009	0	1 903.786	8.77	192	0
	5.0	130.453	160.197	0.006	0	23 469.047	53.53	192	0
	20.0	140.075	17 125.069	0.007	0	77 889.412	151.42	192	0

注: $t_{1/2\alpha}$:药物的吸收相半衰期; $t_{1/2\beta}$:药物的消除相半衰期; K_a :一级吸收速率常数; T_{lag} :时滞;AUC:药物浓度-时间曲线下面积; C_{max} :富集达到平衡后,体内氨基脲含量; T_{max} :富集达到平衡的时间; $C_{\text{L/F}}$:总体清除率。

Notes: $t_{1/2\alpha}$: absorption half-life; $t_{1/2\beta}$: elimination half-life; K_a : first-order rate constant for drug absorption; T_{lag} : lag time; AUC: area under concentration-time curve; C_{max} : the biggest concentration of the drug; T_{max} : the time at highest peak of concentration; $C_{\text{L/F}}$: the overall clearance rate.

3 讨论

3.1 AUC(药物浓度-时间曲线下面积)

AUC(药物浓度-时间曲线下面积)反映药物进入体内药量的多少,是衡量药物在所研究生物体各组织器官吸收的重要指标^[19]。在相同曝污剂量下(以 20.0 $\mu\text{g/L}$ 为例),各组织中 AUC 由高到低依次为消化盲囊[77 889.412 $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$] > 外套膜和鳃[50 500.432 $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$] > 闭壳肌[35 205.608 $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$];各组织 AUC 相差很远,说明组织不同,对药物的蓄积能力有所差别。栉孔扇贝的消化盲囊对药物有较强的蓄积能力,吸收后的药物较大部分蓄积在消化盲囊,而后释放和分布到其他组织。

3.2 $t_{1/2\beta}$ (药物的消除相半衰期)

$t_{1/2\beta}$ (药物的消除相半衰期)指药物浓度消除到一半所用的时间,描述所研究生物体对药物的消除快慢、决定药物消除速度与程度的重要指标^[20]。在 5.0 $\mu\text{g/L}$ 和 20.0 $\mu\text{g/L}$ 条件下 $t_{1/2\beta}$ 大小依次为闭壳肌 < 消化盲囊 < 外套膜和鳃,这可能是由于闭壳肌中富集浓度最低、消化盲囊具有最高的消除速率造成的。而在 1.0 $\mu\text{g/L}$ 条件下, $t_{1/2\beta}$ 大小依次为外套膜和鳃 < 闭壳肌 < 消化盲囊,原因可能是由于在低浓度条件下,外套膜和鳃与环境交换频繁,在消除前期排出速率很快,因此易于消除。

3.3 不同组织残留量比较

富集结束进入消除试验后,栉孔扇贝各组织中氨基脲含量迅速下降,在所研究三个浓度条件

下,在消除 8 d(1.0 $\mu\text{g/L}$)、14 d(5.0 $\mu\text{g/L}$) 和 16 d(20.0 $\mu\text{g/L}$) 后,各组织中含量均下降了 50% 以上;说明栉孔扇贝对氨基脲具有较强的排出能力。但随后氨基脲的排出速度下降。比较富集和消除试验结束时各组织中氨基脲含量发现,特别是在高浓度条件下(20.0 $\mu\text{g/L}$),至消除试验结束时,消化盲囊残留量(15.81 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 显著高于闭壳肌(5.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、外套膜和鳃(9.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。这可能与组织具有较强的富集能力,或该组织中蛋白与氨基脲紧密结合程度有关。

3.4 消除期推导

目前水产品残留限量标准对呋喃西林代谢物氨基脲残留限量做出了要求,规定氨基脲在水产品中不得检出。但因受试验条件和本实验室内栉孔扇贝生长状况的影响,在消除试验结束后仍有部分组织含量超过这一标准,因此需要在已知实验数据的基础上推导消除期。在 1.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度连续药浴 8 d 后,经 12 d 消除试验后,仅消化盲囊中有氨基脲存在(0.48 $\mu\text{g}/\text{kg}$),但仍然低于检出限,参考消化盲囊消除数据,因此将消除期定为 15 d;在 5.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度下,经 42 d 消除试验后,闭壳肌中未检出,外套膜和鳃中含量(0.47 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 低于检出限,消化盲囊中含量为 1.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$,参照相应组织在 1.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度条件下的消除规律,特别是消除试验后期的实验数据,因此将消除期定为 50 d;在 20.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度下,经 42 d 消除试验后,闭壳肌(5.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、外套膜和鳃(9.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 及消化盲囊(15.81 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 中均有氨基脲存在,且远高于规定值,各组织消除率逐渐降低,

依次为 91.3%、90.0%、89.6%；同样参照各组织在 5.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度条件下的消除规律及后期消除试验数据,将消除期定为 70 d。一般说来,在药代动力学的众多影响因素中,水温是影响最大的。在一定温度范围内,药物的代谢强度与水温成正比。通常水温每升高 1 $^{\circ}\text{C}$,药物的代谢和消除速度提高 10%^[21-22],因此水温高时栉孔扇贝的消除期可适当缩短;而水温较低时应适当延长其消除期。

4 结论

在整个富集消除试验中,氨基脲在水体中的浓度基本保持恒定。利用药代动力学软件 DAS 2.0 处理数据可知,在不同药浴浓度下,氨基脲在各组织中的最高富集浓度由大到小依次为消化盲囊、外套膜和鳃、闭壳肌;消化盲囊、外套膜和鳃对氨基脲的富集能力较强,而闭壳肌富集能力相对较弱;各组织对氨基脲的消除能力也不同,各组织消除半衰期随药浴浓度的增大而延长。影响水生生物药代动力学残留的因素很多,如贝类种类、曝污剂量、曝污途径、温度、盐度、pH 等,因此应慎重应用消除期。在本实验条件下,氨基脲在 1.0、5.0 和 20.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度连续曝污 8 d 后,建议其消除期分别定为 15、50 和 70 d;并且水温高时可适当缩短消除期,水温低时可适当延长消除期。同时消除期是根据药物允许残留量及不同食用组织中消除速度来确定的。人们在食用贝类时,若有意识地将非食用组织去除,可大大减少残留药物摄入量,对保证食用者健康具有实际意义。

参考文献:

- [1] 宋阳威. 呋喃类药物检验检疫现状及对策[J]. 中国动物检疫, 2003, 20(3): 37-38.
- [2] 张仲秋, 郑明. 畜禽药物使用手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [3] 王习达, 陈辉, 左健忠, 等. 水产品中硝基呋喃类药物残留的检测与控制[J]. 现代农业科技, 2007, (18): 152-155.
- [4] 张睿, 张晓燕, 吴斌, 等. 甲壳类水产品中氨基脲的测定和来源分析[J]. 环境化学, 2012, 31(6): 915-916.
- [5] Cooper K M, Caddell A, Elliott C T, et al. Production and characterization of polyclonal antibodies to a derivative of 3-amino-2-oxazolidinone, a metabolite of the nitrofurans furazolidone [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 520(1-2): 79-86.
- [6] 朱乐玫, 袁萍, 张贝贝, 等. 原花青素对氨基脲致雄性小鼠生殖毒性的拮抗作用[J]. 实用预防医学, 2012, 19(2): 165-168.
- [7] 韩蕃璠, 吴颖, 路勇. 欧洲婴儿食品包装材料析出氨基脲风险交流案例分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(2): 152-154.
- [8] Pereira A S, Donato J L, De Nucci G. Implications of the use of semicarbazide as a metabolic target of the nitrofurazone contamination in coated products [J]. Food Addit Contam, 2004, 21(1): 63-69.
- [9] Anne L G, Irene V G. Communication in Europe on semicarbazide and baby food [J]. Journal of Fish Research, 2006, 9(8): 823-832.
- [10] 李美同, 郭文林, 仲锋, 等. 土霉素在鳗鲡组织中残留的消除规律[J]. 水产学报, 1997, 21(1): 39-43.
- [11] Le B H, Pouliquen H. Experimental study on the bioaccumulation of oxytetracycline and oxolinic acid by the blue mussel (*Mytilus edulis*). An evaluation of its ability to bio-monitor antibiotics in the marine environment [J]. Marine Pollution Bulletin, 2004, 48(5-6): 434-440.
- [12] Wang W F, Lin H, Xue C H, et al. Elimination of chloramphenicol, sulfamethoxazole and oxytetracycline in shrimp, *Penaeus chinensis* following medicated-feed treatment [J]. Environment International, 2004, 30(3): 367-373.
- [13] 张长坤, 王茂剑, 宫向红, 等. 磺胺二甲嘧啶在大菱鲆体内的药代动力学研究[J]. 海洋湖沼通报, 2010(2): 86-90.
- [14] 张长坤, 王茂剑, 任利强, 等. 磺胺类药物在水产动物体内代谢和残留研究进展[J]. 齐鲁渔业, 2008, 25(10): 59-61.
- [15] 周帅, 胡琳琳, 房文红, 等. 恩诺沙星及其代谢产物环丙沙星在拟穴青蟹体内的药代动力学[J]. 水产学报, 2011, 35(8): 1182-1190.
- [16] 郭娇娇, 潘红艳, 杨虎, 等. 恩诺沙星在杂交鲟体内的药物代谢动力学[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(4): 362-366.
- [17] 樊新华, 郑浩, 钱伟, 等. 呋喃西林代谢物氨基脲在中华绒螯蟹体内的衰减研究[J]. 江苏农业科学, 2010(6): 368-370.
- [18] 徐英江, 田秀慧, 张秀珍, 等. 文蛤 (*Meretrix meretrix*) 体内氨基脲含量与环境相关性研究[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(4): 587-591.
- [19] 冯敬宾, 李刘东, 贾晓平. 氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学[J]. 南方水产, 2006, 2(5): 25-29.

- [20] 乔庆林,姜朝军,徐婕,等. 双壳贝类养殖水体中 Hg、Pb、Cd 安全限量的研究[J]. 水产学报,2007,28(3):38-41.
- [21] Bjorklund H V, Bylund G. Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) [J]. Aquaculture,1990,84(3-4):363-372.
- [22] 彭章晓,江敏,吴昊,等. 伊维菌素在鲫体内的药代动力学[J]. 水产学报,2012,36(3):422-428.

Research on accumulation and elimination of semicarbazide in *Chlamys farreri*

XU Yingjiang^{1,2}, TIAN Xiuhui^{1,2}, REN Chuanbo³, YU Zhaoqiang³, GONG Xianghong^{1,2},
LIU Huihui^{1,2}, LIU Yihao^{1,2}, LIU Yun⁴, ZHANG Xiuzhen^{1,2}, ZHANG Limin^{1,2*}

(1. Marine Fisheries Research Institute of Shandong Province, Yantai 264006, China;

2. Shandong Province Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Yantai 264006, China;

3. Yantai Shanshui Seafood Co. Ltd, Yantai 264006, China;

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

Abstract: Accumulation and elimination of semicarbazide (SEM) in adductor, mantle and gill, digestive diverticula of *Chlamys farreri* were studied using ultra performance liquid chromatogram tandem mass spectrometry under laboratory conditions in this work. The *Chlamys farreri* was divided randomly, then exposed to seawater containing 1.0 $\mu\text{g/L}$, 5.0 $\mu\text{g/L}$ and 20.0 $\mu\text{g/L}$ SEM for 8 d at $(14 \pm 2)^\circ\text{C}$. With the increase of SEM concentration in seawater, the accumulation amount in three various tissues was increased. The digestive diverticula has the maximum of the biggest concentration (C_{max}), average elimination speed and the greatest accumulation ability of SEM. The accumulation capability was as follows: digestive diverticula > mantle and gill > adductor; and the accumulation amount increased with the addition of SEM concentration in seawater, presenting significantly positive correlation. SEM was accumulated mainly in digestive diverticula and mantle and gill, and the content of SEM in adductor was relatively lower. The elimination capability was as follows: adductor > mantle and gill > digestive diverticula; but the SEM content in adductor could be reduced to less than 0.50 $\mu\text{g/kg}$ after a period of purification at higher concentration. DAS 2.0 pharmacokinetic parameter calculation program was used to process SEM content-time data and to calculate the relevant pharmacokinetic parameters. The results indicated that area under concentration-time curve (AUC) differed greatly in the three tissues and the tissues had different accumulation capability. For example, in the concentration of 20.0 $\mu\text{g/L}$, the content of SEM in adductor, mantle and gill, digestive diverticula was 5.94 $\mu\text{g/kg}$, 9.87 $\mu\text{g/kg}$ and 15.81 $\mu\text{g/kg}$ respectively after 42 d elimination experiment, which were also much higher than the specified values. When *C. farreri* was bred in clean seawater, the SEM accumulated in the body was eliminated significantly. The excretion rate in adductor, mantle and gill, digestive diverticula was 91.3%, 90.0%, 89.6% and gradually reduced. Under the experimental conditions, when *C. farreri* was exposed to seawater containing 1.0 $\mu\text{g/L}$, 5.0 $\mu\text{g/L}$ and 20.0 $\mu\text{g/L}$ SEM for 8 d at $(14 \pm 2)^\circ\text{C}$, it was recommended withdrawal period of 15 d, 50 d and 70 d respectively. When the water temperature was higher than the experimental conditions, the withdrawal period could be shortened; or extended in lower water temperature. The accumulation and elimination curves of SEM in *C. farreri* provided useful information for studying decontamination of seashells that have SEM contamination.

Key words: *Chlamys farreri*; semicarbazide (SEM); accumulation; elimination; ultra performance liquid chromatogram tandem mass spectrometry

Corresponding author: ZHANG Limin. E-mail: zhanglimin@126.com