

水产品中药物残留检测的前处理方法探析

鲁艳莉

大连金普新区农业农村发展服务中心, 辽宁大连 116100

【摘要】前处理是药物残留检测的关键环节, 通过对水产品中药物残留样本进行前处理, 能够减少检测中的基质干扰, 提高检测结果的灵敏度和可靠性。本文阐述了水产品中药物残留危害、成因以及基本形态, 介绍了药物残留检测中常用的前处理方法, 并研究分析了四环素类、喹诺酮类、硝基呋喃类 3 种药物残留检测中前处理方法的具体应用, 期望对提高水产品中药物残留检测结果准确性有所帮助。

【关键词】水产品; 药物残留; 前处理方法

【中图分类号】R155.5 **【文献标识码】**A **【DOI】**10.12325/j.issn.1672-5336.2022.14.015

近年来, 我国水产养殖业发展迅速, 部分养殖户为提高水产品产量, 促进水产动物快速生长, 普遍存在着不规范使用药物的行为, 导致水产品药物残留超标现象频频发生, 当人们食用此类质量不合格的水产品时会直接影响人体健康。基于此, 有关部门要加强水产品药物残留检测工作, 确保药物残留量符合相关标准要求, 保证水产品质量安全。在水产品药物残留检测中, 要通过提取、净化、富集等前处理方法有效处理检测样本, 减少检测过程中的不确定性因素, 保证药物残留检测结果准确。

1 水产品中的药物残留

1.1 药物残留危害

在水产养殖中, 当水生动物和植物发生疾病时需使用药物进行防治, 如果药物未完全代谢则会蓄积、存储在水生动物体内, 形成水产品药物残留。水产品药物残留超标时, 人们长时间食用此类水产品会促使药物在人体内慢慢积累, 引发慢性毒性, 严重者会发生过敏反应, 增大急性中毒、致癌的风险^[1]。

1.2 药物残留成因

水产品药物残留主要原因包括以下两个方面: 一是水产养殖户为提高水产品产量, 加快水产动物生长速度, 长期在饲料中添加抗生素或生长激素, 如黄霉素、青霉素、盐霉素等, 造成水产动物无法完全代谢掉这些药物, 形成药物残留; 二是养殖户在水产养殖中滥用药物, 当水产动物发生疾病时, 存在着盲目用药、增大用药量或者使用禁药的行为, 导致水产品氯霉素、四环素类抗生素、大环内酯类抗生素、氟苯尼考、硝基呋喃类药物超标。

1.3 药物残留形态

水产品残留物表现为游离态残留药物、结合态残留

药物两种形态, 不同表现形态的残留物其提检测提取方法也有所不同。

1.3.1 游离态残留药物

此类药物残留物存在于代谢物、母体药物中, 如四环素类药物、喹诺酮类药物等, 在检测此类药物残留物时, 需从水溶液、有机溶液中提取。药物残留在不同靶组织间存在一定差异, 部分药物残留是代谢物, 表现为共轭形式, 在提取代谢物时需要使用活性酶进行释放, 或者使用化学水解方式释放。在采用化学水解方式提取残留药物时, 需要控制水体温度、pH 值和提取时间, 保证残留物充分解离^[2]。

1.3.2 结合态残留药物

此类药物残留物在检测中较为少见, 如硝基呋喃类药物。此类药物主要用于治疗鱼虾类消化系统感染, 当鱼虾摄入药物后, 原药在体内快速代谢, 形成代谢物与蛋白质结合, 长期存在于体内。

2 水产品中药物残留检测的前处理方法

2.1 溶剂萃取

溶剂萃取将目标分析物从含水样品中转移到与水不相溶的溶剂中, 利用目标分析物在两相溶剂中溶解度的不同, 经过多次萃取, 促使目标分析物在溶剂中达到溶解平衡, 提取出目标化合物。两相溶剂分别为水相和有机相, 其中有机相要具备水中溶解度低、挥发性强、纯度高并且能够兼容高效液相色谱检测技术的溶剂。溶剂萃取的分离效果相对较差, 使得两相中会留存比重较高的分析物, 不适用于亲水化合物检测。

2.2 超临界流体萃取

此萃取方法利用超临界流体溶解和分离物质, 这种流体具备液体、气体性质特点, 密度接近液体, 粘度接

进气体。在萃取溶剂选取中, 首选二氧化碳气体, 可满足多种物质的萃取, 无需使用有机溶剂, 有助于减少对环境的污染。超临界流体萃取可从复杂样品中分离提取出目标分析物, 用于色谱分析, 并配合使用净化技术, 能够检测出水产品中的药物残留^[3]。

2.3 固相萃取

此萃取方法利用目标化合物、干扰物和基质受固体填充剂作用的差异性, 采用洗脱剂、淋洗液淋洗固体吸附剂, 促使固液分离, 提取出预处理样品中的目标物。固相萃取是水产品中药物检测领域广泛使用的检测方法, 具备分离效果好、重现性好、有机溶液用量少等优点。此项前处理技术包含液相和固相的萃取过程, 可视为色谱过程, 尽可能将检测目标物保留在固相萃取吸附材料上。在萃取过程中, 洗脱剂选择溶解性强的溶剂, 增大溶剂与目标物之间的作用力, 保证洗脱下来目标物。在水产品中药物残留检测的前处理中, 要优选样品溶剂、吸附性材料和洗脱剂, 以提高检测目标物成功分离的可能性^[4]。

2.4 搅拌棒固相萃取

此萃取方法将内封磁芯的玻璃管放入聚二甲基硅氧烷, 将其作为涂层, 用于分离目标物。在水相萃取至萃取介质过程中, 通过硅相和水相的分配系统对目标物进行控制。与固相微萃取相比, 搅拌棒固相萃取提取量是其 50 ~ 250 倍, 在提取分析物后, 将分析物放入到自动化分析系统中, 提高药物残留检测的灵敏度。搅拌棒固相萃取的解吸过程相对较慢, 在搅拌棒上涂聚二甲基硅氧烷, 搅拌检测样本 30 ~ 240min, 之后取出搅拌棒, 擦干水分, 采用液体解吸法或热解吸法处理样品, 样品检测时采用气相色谱检测技术或高效液相色谱检测技术。

3 水产品中药物残留检测前处理方法的具体应用

3.1 四环素类药物残留检测前处理方法应用

在水产养殖中, 养殖户常用四环素类药物作为广谱抗生素进行疾病防治, 此类药物很难被水产动物吸收或排泄出去, 大部分药物残留在动物体内, 影响水产品的质量安全。四环素类药物检测的前处理方法应用如下:

3.1.1 前处理流程

在四环素类药物残留检测中, 需要进行提取、净化处理, 可将分子印迹技术应用到前处理环节, 弥补传统前处理方法耗用大量有机溶剂、处理时间长等弊端。具体的前处理流程如下: (1) 提取。称取水产品检测样本 5g, 将样本放入离心管内, 离心管容量为 50mL, 加入提取剂 15mL, 先由检测人员均匀摇动离心管 60s, 再放入

到装置上离心 10min, 转速为 10000r/min。离心后, 取出上清液重新放入离心管, 加入提取剂 15mL, 重复上述离心操作, 取出上清液 15mL^[5]。(2) 净化。对固相萃取柱活化处理, 按照顺序加入甲醇、提取剂和蒸馏水, 剂量均为 5mL, 将净化处理后的样品液放入到小柱中, 用提取剂淋洗, 用量为 2mL, 淋洗后抽干小柱, 再用甲醇洗脱, 用量为 0.8mL, 洗脱后收集洗脱液。用 1mL 乙酸氨缓冲溶液定容, 获取溶液后进行过滤, 滤物选用微孔滤膜, 得到最后的过滤液用于检测。(3) 制备固相萃取柱。选取医用脱脂棉 30mg, 将其填到医用注射器的底部位置压实, 装入吸附性填料, 再用医用脱脂棉填充压实。

3.1.2 前处理关键点

(1) 选择提取剂。四环素类药物残留检测适用的提取剂包括柠檬酸缓冲溶液、甲醇、乙腈、草酸水溶液、柠檬酸正己烷、高氯酸等溶液, 经过试验研究表明, 选用柠檬酸缓冲溶液的提取效率最好。(2) 确定提取剂 pH 值。在弱酸性溶液中四环素类药物能够保持较为稳定的状态, 易于提取, 当四环素类要素处于强酸性、中性以及碱性溶液时会产生降解作用。在四环素类药物残留提取中, 柠檬酸缓冲溶液的 pH 值应控制在 3.5, 且加入 EDTA 的浓度控制在 0.1mol/L。(3) 确定提取剂用量。经过实验研究表明, 当提取剂用量为 15mL 时, 能够从水产品样本中有效提取出四环素类药物残留。(4) 固相萃取柱选择。水产品样本存在较多杂质, 需经过净化和富集处理后才能用于药物残留检测。固相萃取柱用吸附性填料制备, 经过实验研究表明 C18 柱的净化效果较好^[6]。(5) 固相萃取柱填料用量。洗脱剂选用冰乙酸-甲酸, 当 C18 填料为 200mg 时, 能够对 CTC 产生相对较好的吸附效果。

3.2 喹诺酮类药物残留检测前处理方法应用

此类药物属于抗生素, 具有抗菌作用, 常投放到水产品饲料中, 以达到促进水产动物生长、防治疾病的目的。当喹诺酮类药物过量使用时, 会大量残留到水产动物体内, 在食用此类水产品后可能会对人体健康造成危害。喹诺酮类药物残留检测前处理方法应用如下:

3.2.1 前处理流程

喹诺酮类药物检测采用分子印迹聚合物和固相萃取柱进行前处理, 提高前处理效率和灵敏度。具体流程如下:

(1) 提取。称取水产品检测样本 5g, 将样本放入离心管内, 离心管容量为 50mL, 加入提取剂 20mL, 先由检测人员均匀摇动离心管 60s, 再放入到装置上离心 10min, 转速为 10000r/min。离心后, 取出上清液重新放入离心管, 加入提取剂 20mL, 重复上述操作, 取出上清液加入提取剂 10m, 共提取 3 次, 取出上清液 25mL。(2) 净化。在固相

萃取柱上滴入上清液,用10%醋酸甲醇溶液淋洗固相萃取柱,再用蒸馏水淋洗,用量为3mL,抽干小柱,用洗脱液洗脱小柱,最后用乙酸铵缓冲液定容,获取溶液1mL,将溶液通过微孔滤膜过滤,以备检测。

3.2.2 前处理关键点

(1) 选择提取剂。喹诺酮类药物残留前处理适用的提取剂包括乙腈冰醋酸、乙腈盐酸、氢氧化钠、柠檬酸、磷酸盐等溶液。通过实验研究表明,磷酸缓冲溶液能够提取11种喹诺酮类药物残留。(2) 确定提取剂pH值。不同pH磷酸盐缓冲溶液的提取效果不同,根据实验结果表明,当磷酸盐缓冲溶液的pH值为3.5时,目标物回收率相对较好。(3) 确定提取次数。按照前处理流程,分别用提取剂提取1次、2次、3次、4次样本,实验结果表明提取3次的效果最好。(4) 固相萃取柱选择。分别采用C18柱、HLB柱、MOF柱、MCX柱进行固相萃取柱对比实验,实验结果表明选用C18柱的药物残留净化效果和富集效果最好^[7]。(5) 确定填料量。当固相萃取柱填料过少时会降低药物残留的吸附效果,用填料过多时会产生吸附抑制作用。根据试验结果表明,当填料量控制在200mg时,能够保证相对较好的柱子回收率。(6) 确定洗脱剂。分别采用甲醇、冰醋酸甲醇对洗脱C18柱固相萃取柱,实验表明冰醋酸甲醇对药物残留的回收率相对较高。

3.3 硝基呋喃类药物残留检测前处理方法应用

此类药物能够治疗水产动物因细菌、原虫感染引发的疾病,在水产养殖中也被用于生长促进剂。硝基呋喃类药物的代谢物长期存在于水产动物体内,具有一定致癌性。硝基呋喃类药物残留检测的前处理方法如下:

3.3.1 前处理流程

硝基呋喃类药物残留检测采用快速衍生剂衍生后富集和净化的衍生物,提高提取效率,满足小质量代谢分子的检测要求。前处理流程如下:(1) 提取。取4g水产品样本,放入离心管内,依次加入盐酸溶液、快速衍生剂,用量分别为20mL、1mL,检测人员摇动离心管60s。之后,将离心管放入振荡器内,水浴恒温控制在60℃,振荡1h后取出静置。待离心管降至室温后,用氢氧化钠溶液调节酸碱度,pH值控制为7.0~7.5,再放入到装置上离心10min,速度为10000r/min,获取离心管内的上清液。(2) 净化。在固相萃取柱活化时选用甲醇和蒸馏水,用量均为5mL,保证上清液过柱。净化过程中先用蒸馏水淋洗,再用甲醇洗脱,收集洗脱液,将其放入到呋喃定溶液中进行溶解,取出待检测物用微孔滤膜过滤处理,以备检测。

3.3.2 前处理关键点

(1) 选择衍生剂溶剂。硝基呋喃类代谢物的衍生时

间为16h,在前处理中选用邻硝基苯甲醛作为衍生剂,此衍生剂易溶于有机溶液中。当溶剂选用甲醛时,衍生剂的衍生效果相对较好。(2) 确定衍生剂中酸。在酸性环境下,衍生剂能够与硝基呋喃代谢物结合便于残留药物提取,通过试验研究表明,将冰乙酸加入到甲醇溶液中能够达到较好的结合效果。(3) 确定冰乙酸用量。冰乙酸用量多少对硝基呋喃代谢物的峰面积会产生直接影响,同时还会直接影响氢氧化钠溶液的加入量。通过实验研究表明,当冰乙酸体积控制在5mL时,硝基呋喃代谢物的峰面积较为稳定。(4) 确定衍生时间和温度。当衍生时间为1h,且衍生温度为60℃时,硝基呋喃代谢物能够在衍生剂甲醇溶液的作用下充分衍生。(5) 确定提取剂。硝基呋喃类代谢物容易与蛋白质结合,为水解出药物残留,可采用盐酸溶液提取代谢物,浓度为0.2mol/L,用量为20mL。(6) 确定固相萃取柱。固相萃取柱采用MCX柱,将甲醇作为固相萃取柱的洗脱剂,用量为2mL。

4 结束语

综上所述,水产养殖中不规范使用抗生素类药物会导致大量药物残留在水产动物体内,引发水产品质量安全事件。在水产品质量监管中,要加强水产品药物残留检测工作,通过采用有效技术方法对检测样本进行前处理,剔除影响检测结果的干扰因素,进而保证检测结果的可靠性。药物残留检测的前处理环节要根据不同类药物性状特点,确定相应的提取剂、衍生剂、固相萃取柱等关键性实验条件,从而提高检测前处理环节的实验质量。

参考文献:

- [1] 修磊,杨翼羽,王义江.水产品中喹乙醇类药物残留检测前处理条件的优化[J].农业与技术,2021(5):98-102.
- [2] 王仁华.浅谈水产品药物残留检测存在的问题[J].江西饲料,2015(5):33-34.
- [3] 刘海生.水产品中喹诺酮类兽药残留检测研究进展[J].中国动物保健,2019(8):59-61.
- [4] 王雪峰,魏光强,陈越.水产品中3种磺胺类药物和孔雀石绿的样品前处理及检测条件优化[J].食品安全质量检测学报,2018(21):5709-5715.
- [5] 李芹,穆树荷,李晋成.水产品中镇静剂残留检测技术研究进展[J].中国农学通报,2021(12):86-91.
- [6] 刘海生.水产品中喹诺酮类兽药残留检测研究进展[J].中国动物保健,2019(8):59-61.
- [7] 王雪峰,魏光强,陈越.水产品中3种磺胺类药物和孔雀石绿的样品前处理及检测条件优化[J].食品安全质量检测学报,2018(21):5709-5715.