

分子荧光结合多维校正测定小龙虾中氨基脒残留量

雷渊雄, 夏阿林*, 黄 炜, 侯泰东
(邵阳学院 食品与化学工程学院 湖南邵阳 422000)

摘要 近年来,食品中的抗生素残留是人们关心的食品安全问题之一。为测定小龙虾中氨基脒残留量(SEM),本文提出一种基于三维荧光结合化学计量学测定小龙虾中 SEM 残留量的方法。样本经过简单的前处理,使用 2-羟基-1-萘甲醛(2-HN)与 SEM 进行衍生化反应,生成具有荧光性质的 2-羟基萘醛咪喃西林代谢衍生物(SEM-HN)。采集样本的荧光光谱,获得三维荧光数据矩阵;扣除空白样,采用平行因子分析(PARAFAC)算法和交替三线性分解算法(ATLD)对三维荧光数据矩阵进行分析,两种算法均能得到较好的定量分析结果。为了评估两种算法的准确性,对品质因子:灵敏度(SEN)、选择性(SEL)、检出限(LOD)和预测均方根误差(RMSEP)进行计算,结果表明两种算法准确性较好。为进一步验证 PARAFAC 算法和 ATLD 算法的性能,采用椭圆置信区间(EJCR)检验,结果本试验中 ATLD 算法优于 PARAFAC 算法。结论:三维荧光结合 ATLD 算法可快速测定小龙虾中的 SEM 残留。

关键词 分子荧光; 交替三线性分解算法; 氨基脒; 小龙虾

文章编号 1009-7848(2023)03-0339-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.03.035

硝基咪唑类药物是一类广谱抗菌药物,因杀菌能效好,不易产生耐药性,价格便宜等特点,而在养殖业中广泛使用。研究表明硝基咪唑类药物及代谢物具有严重的“三致”等毒副作用^[1-2]。硝基咪唑类药物在动物体内不稳定,易转化为其代谢产物;4 种代谢物产物:3-氨基-2-噁唑烷基酮(AOZ)、5-甲基-吗啉-3-氨基-2-噁唑烷基酮(AMOZ)、氨基脒(SEM)、1-氨基-2-内酰胺(AHD)与组织蛋白结合,形成稳定的蛋白结合物^[3]。当人们食用了含有硝基咪唑类药物代谢物的食品后,这些蛋白结合物在人体内发生水解,硝基咪唑类药物代谢物被释放出来,对人体造成危害^[4]。全球大部分国家和地区将硝基咪唑类药物列为食用动物养殖中的禁用药物^[5-6]。

目前,常以测定硝基咪唑代谢物残留量来判断原药的使用情况。常用方法有色谱分析法、免疫分析法和生物芯片技术^[7-15]。色谱分析法存在检测时间长、样品前处理复杂和仪器昂贵等问题。免疫分析法存在特异性、灵敏度低、准确性差等问题。生物芯片技术存在专业性强,方法不易普及等问题。不论是色谱分析方法、免疫分析方法还是生物

芯片技术都存在一定的局限性。三维荧光光谱分析方法具有高效、快速、准确和样品前处理简单等特点。三维荧光光谱可直观地得到被测样品的荧光图像信息,荧光强度随激发波长和发射波长同时变化。化学计量学方法凭借“二阶优势”,可在复杂体系下对目标物直接进行定量分析^[16]。三维荧光光谱结合化学计量学方法已广泛应用于农业、食品、化工和医药等领域^[17-19]。然而,尚未见该方法在食品中硝基咪唑代谢物的检测上的应用。

为寻求一种快速、方便、简单和准确的食品中硝基咪唑代谢物的检测方法,本研究的样品前处理和荧光衍生反应参考陈明明^[20]的方法。以小龙虾为研究对象,2-羟基-1-萘甲醛(2-HN)为荧光衍生剂,反应如图 1 所示。2-羟基-1-萘甲醛(2-HN)与氨基脒(SEM)反应,生成具有荧光特性的 2-羟基萘醛咪喃西林代谢衍生物(SEM-HN)^[21]。利用三维荧光光谱结合化学计量学方法直接检测 SEM-HN 含量,实现小龙虾中 SEM 的测定。

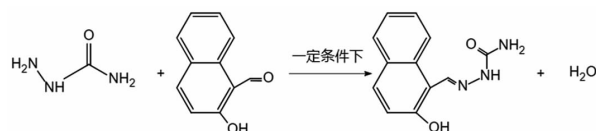


图 1 氨基脒与 2-羟基-1-萘甲醛衍生化反应方程式
Fig.1 Derivatization reaction equation of SEM and 2-HN

收稿日期: 2022-03-06

基金项目: 湖南省市联合基金项目(2022JJ50219)

第一作者: 雷渊雄,男,硕士生

通信作者: 夏阿林 E-mail: alinxia@126.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小龙虾、硝基呋喃代谢物标准品:氨基脒(SEM)(纯度 ≥ 99)、2-羟基-1-萘甲醛(AR)、甲醇(分析纯),阿拉丁公司;水为超纯水。

1.2 仪器与设备

Cary Eclipse 荧光分光光度计,美国安捷伦公司;Tissuelyser-II 组织研磨仪,上海净信;TG16K-II 高速离心机,东旺仪器;HWS-24 恒温水浴锅,一恒仪器;SB-5200DT 超声波清洗机,新芝生物。

1.3 试验方法

1.3.1 溶液配制 用甲醇溶解 0.43 g 2-羟基-1-萘甲醛,配成 0.05 mol/L 的衍生试剂;甲醇溶解 10 mg SEM 标准品,配成 0.40 mg/mL 的储备液。量取适量储备液,用甲醇梯度稀释配成 20 ng/mL 的标准工作液,同时配制 0.50 mol/L 盐酸和 0.50 mol/L 氢氧化钠溶液。

1.3.2 样品前处理

1) 取样 新鲜的小龙虾去头、壳、虾线,虾肠取其肌肉组织。用组织研磨仪研磨后在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下冷冻保存,称取前置室温自然解冻。

2) 水解 取 5.00 g 小龙虾肌肉组织样品于 50 mL 的离心管中,加入 10 mL 甲醇与 0.50 mol/L 盐酸溶液的混合溶液(体积比 7:3),充分搅拌后用超声波清洗机超声 40 min,加入 0.50 g 氯化钾,充分搅拌,超声波清洗机超声 30 min,高速离心机 10 000 r/min 离心 30 min,取上清液,微孔滤膜过滤上清液,制备成小龙虾样品提取液。

3) 衍生化反应 分别取不同体积(0,1,2,3,4,5,6,7 mL)的 20 ng/mL 标准工作液于 8 支反应试管中,每只试管加入 10 mL 甲醇和 0.50 mol/L 盐酸溶液混合溶液(体积比 7:3),再加入 200 μL 0.05 mol/L 2-羟基-1-萘甲醛,震荡摇匀后,超声,置 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中衍生反应 2 h。反应结束后向反应溶液中加入 4 mL 0.50 mol/L 氢氧化钠溶液,使溶液呈碱性,最后用甲醇定容 25 mL 容量瓶中,待采集光谱。7 个只含 SEM 的样本作为校正集, P_0 为空白样,其浓度见表 1。

分别取 1 mL 小龙虾提取液于 6 支反应试管中,加入不同体积(0,2.5,3.125,3.5,4.375,4.75 mL)的 20 ng/mL 标准工作液,按上述方法操作。5

个样本作为预测集, T_0 为小龙虾提取液空白样,加标浓度见表 1。

表 1 校正集和预测集中 SEM 的浓度

Table 1 Concentration of SEM in correction set and prediction set

样本	SEM 质量浓度/ ng·mL ⁻¹	小龙虾提取液体积/ mL
P_0	0	0
P_1	0.8	0
P_2	1.6	0
P_3	2.4	0
P_4	3.2	0
P_5	4.0	0
P_6	4.8	0
P_7	5.6	0
T_0	0	1
T_1	2.0	1
T_2	2.5	1
T_3	2.8	1
T_4	3.5	1
T_5	3.8	1

1.3.3 光谱采集 用荧光分光光度计采集三维荧光光谱,配有 10 mm 石英比色皿,仪器参数:激发波长(Ex)范围 270~410 nm,波长间隔 10 nm,狭缝间隙 5 nm;发射波长(Em)范围 270~600 nm,波长间隔 2 nm,狭缝间隙 5nm;扫描速度 1 200 nm/min,响应时间 0.1 s,工作电压 400 V。分别采集 P_0 ~ P_7 、 T_0 ~ T_5 的三维荧光光谱,每个样本得到一个三维荧光数据矩阵。

1.4 数据处理

采用平行因子分析(PARAFAC)算法和交替三线性分解(ATLD)算法对三维荧光数据矩阵进行分析^[22-23]。PARAFAC 和 ATLD 算法程序为 Matlab 软件上的自编程序,使用 Origin 软件作图。

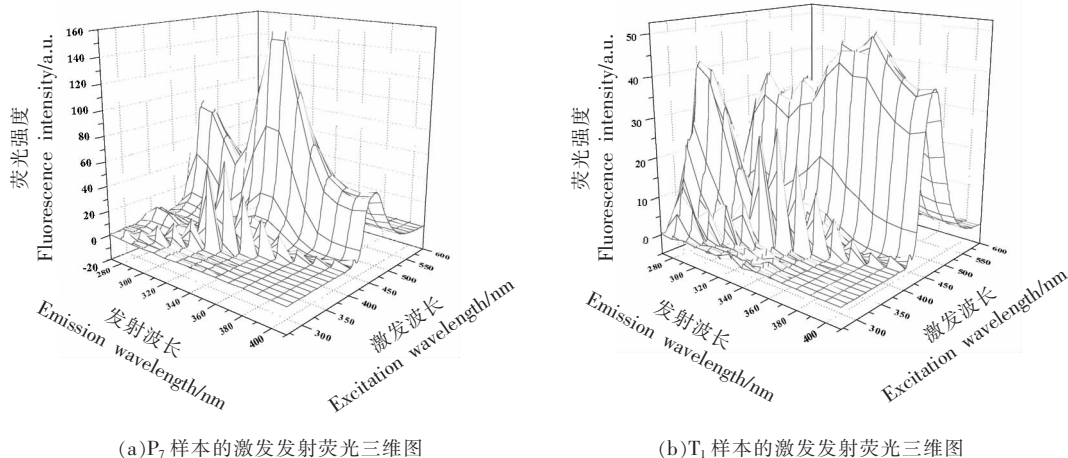
2 结果与讨论

2.1 三维荧光光谱分析

图 2a 和 2b 分别为 P_7 与 T_1 样本的三维荧光光谱图。 P_7 的三维荧光光谱图有两个荧光峰值, $\lambda_{\text{Ex}}/\lambda_{\text{Em}}=350\text{ nm}/442\text{ nm}$ 处有一个很强的荧光峰值,为 SEM-HN 的荧光峰; $\lambda_{\text{Ex}}/\lambda_{\text{Em}}=350\text{ nm}/342\text{ nm}$ 处有一个相对较弱的荧光峰值,为 P_7 中未知干扰物

的荧光峰; T_1 三维荧光光谱图有多个荧光峰值, 这是因为小龙虾提取液中存在未知干扰物产生的荧光, 且干扰物的荧光峰与 SEM-HN 的荧光峰严重

重叠, 用单一变量荧光分析校正方法不能分析样品, 需借助化学计量学中的三线性算法解决光谱严重重叠问题。



(a) P_7 样本的激发发射荧光三维图

(b) T_1 样本的激发发射荧光三维图

图 2 P_7 与 T_1 样本的三维荧光光谱图

Fig.2 Three-dimensional fluorescence spectra of P_7 and T_1 samples

2.2 核一致诊断 (CORCONDIA) 法预估组分数

分解三维荧光数据矩阵前, 需确定组分数, 以保证得到准确的预测结果。所有样品的荧光光谱矩阵都采用 CORCONDIA 法估计组分数。如图 3 所示, 测试因子数从 1 到 4, 核一致的值呈现递减趋势。为了方便, 将负数值用 0 代替, 当核一致的值从 0.6 降到较低的数值时, 表明最佳组分数被估计出来。由图 3 可知, 预测集样本中的因子数为 3, 确定模型的最佳组分数为 3。分别对应目标物 SEM-HN 以及小龙虾提取液和标样中的未知干扰物。

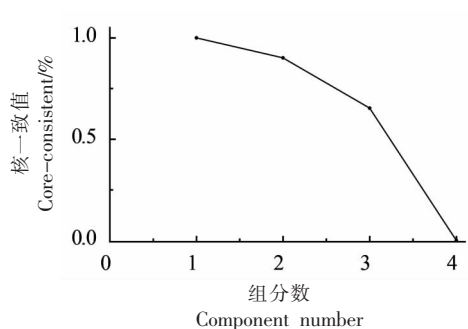


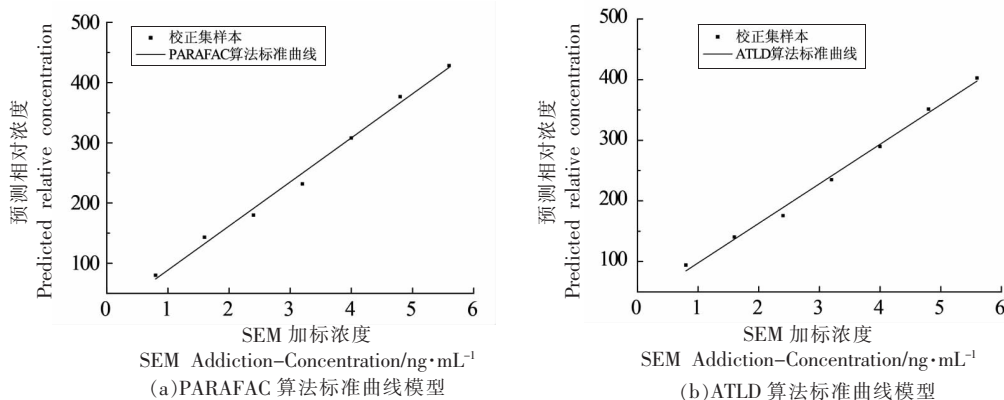
图 3 核一致诊断结果

Fig.3 Core consistent diagnosis

2.3 小龙虾提取液中 SEM 的定量分析

分别利用 PARAFAC 算法和 ATLD 算法分析校正集的三维荧光数据矩阵, 以分辨得到的 SEM-

HN 相对浓度为纵坐标, 加标浓度为横坐标进行线性回归, 得到标准曲线模型。由图 4 可知:



(a) PARAFAC 算法标准曲线模型

(b) ATLD 算法标准曲线模型

图 4 校正集加标浓度与预测浓度回归曲线图

Fig.4 Regression curve between added concentration and predicted concentration of correction set

PARAFAC 算法分辨得到的标准曲线方程为 $y=73.18x+15.47$, 相关系数 R 为 $0.996(\geq 0.990)$; ATLD 算法分辨得到的标准曲线方程为 $y=65.55x+30.88$, 相关系数 R 为 $0.997(\geq 0.990)$, 表明两个模型在 $0.8\sim 5.6$ ng/mL 范围线性关系较好。

利用 PARAFAC 算法和 ATLD 算法分析预测集样本的三维荧光光谱数据矩阵, 得到预测集的发射光谱、激发光谱和相对浓度(图 5)。由图 5 可知, 目标物 SEM-HN 的荧光光谱与小龙虾干扰物

的荧光光谱部分重叠, 而用 PARAFAC 算法和 ATLD 算法能得到 SEM-HN 的相对浓度。将 PARAFAC 算法得到的预测集相对浓度带入标准曲线方程 $y=73.18x+15.47$, 将 ATLD 算法得到的预测集相对浓度带入标准曲线方程 $y=65.55x+30.88$ 。表 2 为两种算法对预测集样品的预测结果和加标回收率。PARAFAC 算法中, SEM 的平均加标回收率为 $(96.12\pm 4.2)\%$ 。ATLD 算法中, SEM 的平均加标回收率为 $(97.4\pm 2.70)\%$ 。由表 2 可知,

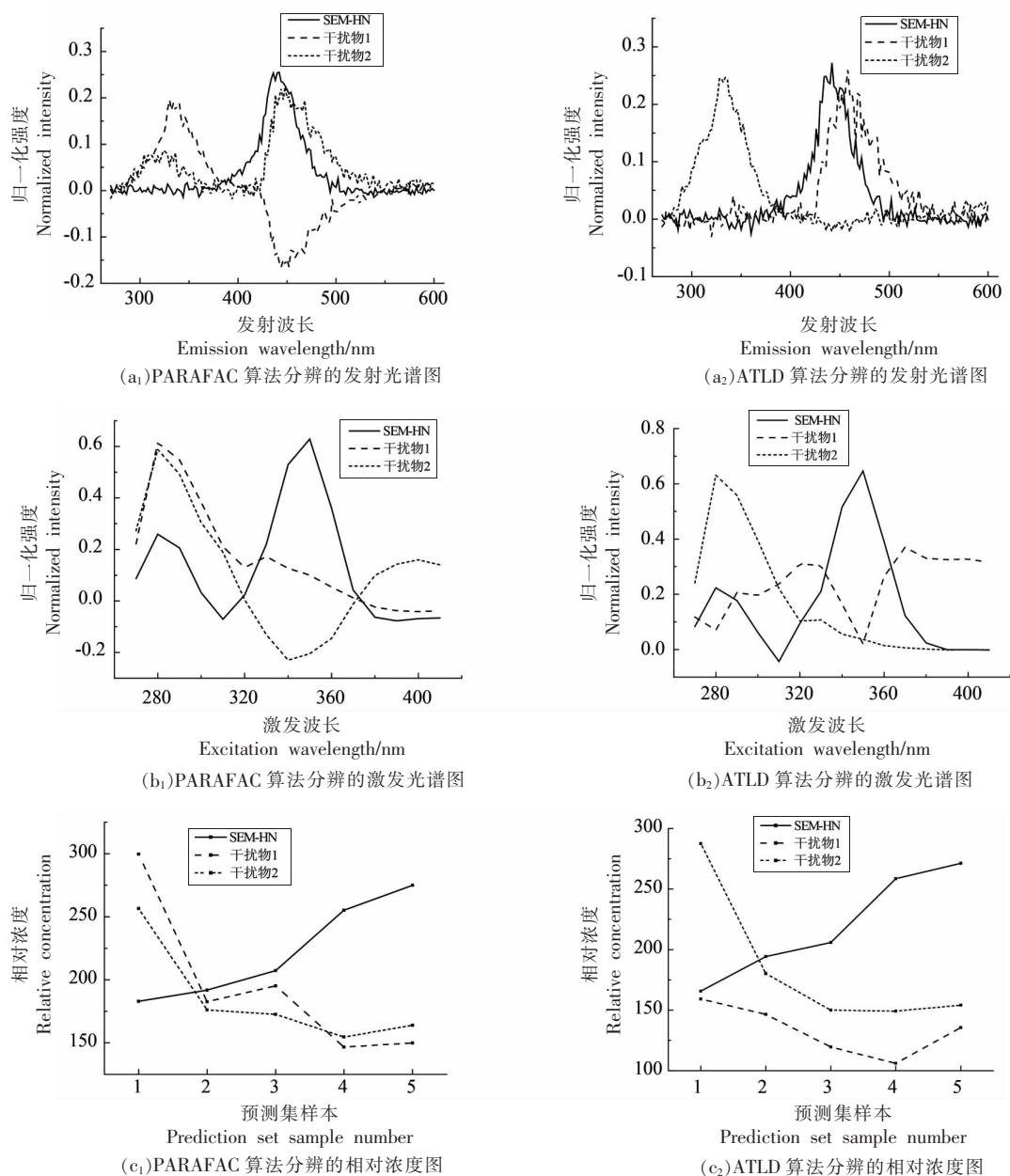


图 5 PARAFAC 算法和 ATLD 算法对预测集样本的分辨结果

Fig.5 Resolution results of PARAFAC and ATLD on prediction set samples

表 2 PARAFAC 算法和 ATLD 算法对预测集样品中 SEM 的预测结果和回收率

Table 2 Prediction results and recoveries of SEM in prediction set samples by PARAFAC and ATLD

样品	加标质量浓度/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	SEM 预测值/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ [加标回收率/%]	
		PARAFAC 算法	ATLD 算法
T ₁	2.0	2.05[102.5]	2.03[101.5]
T ₂	2.5	2.45[98.0]	2.46[98.4]
T ₃	2.8	2.60[92.9]	2.64[94.4]
T ₄	3.5	3.33[95.1]	3.40[97.1]
T ₅	3.8	3.50[92.1]	3.64[95.8]
平均回收率 \pm 标准偏差/%		96.1 \pm 4.2	97.4 \pm 2.7

PARAFAC 算法和 ATLD 算法对预测集的样本预测结果较好,均可以实现小龙虾中 SEM 的快速定量分析。

2.4 品质因子与统计学验证

对灵敏度 (SEN)、选择性 (SEL)、检出限 (LOD)和预测均方根误差(RMSEP)品质因子参数进行分析,验证 ATLD 算法和 PARAFAC 算法的

预测能力^[24-25]。表 3 为 PARAFAC 算法和 ATLD 算法解析预测集样本中 SEM 的品质因子分析结果。小龙虾提取液中的内源荧光物质与目标物 SEM-HN 的光谱重叠,使选择性较低。采用两种算法,通过二阶校正大大提高了选择性,且灵敏度较高,检测限较低,预测结果较好,表明两种方法均能满足小龙虾体内 SEM 残留量检测的要求。

表 3 PARAFAC 算法和 ATLD 算法解析小龙虾提取液中 SEM 的品质因子分析结果

Table 3 Quality factor analysis results of SEM in crayfish extract analyzed by PARAFAC and ATLD

品质因子	选择性 SEL	灵敏度 SEN/ $\text{mL}\cdot\text{ng}^{-1}$	检测限 LOD/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	预测均方根误差 RMSEP
PARAFAC 算法	0.94	68.79	11.40	0.18
ATLD 算法	0.95	62.27	11.46	0.11

为了进一步验证 PARAFAC 算法和 ATLD 算法的性能,对验证集中样本加标浓度与预测浓度进行线性回归分析。将回归曲线的截距和斜率与相应的理想点(0 1)比较,用椭圆置信区间(EJCR)检验分析。若理想点(0 1)在椭圆置信区间内,则没有异常偏差,说明预测结果可靠^[26-27]。图 6 为两种算法分析的椭圆置信区间图。理想点在 ATLD 算法的椭圆置信区间,不在 PARAFAC 算法的椭圆置信区间;ATLD 算法的椭圆置信区间小于 PARAFAC 算法的椭圆置信区间,说明 ATLD 算法的预测结果优于 PARAFAC 算法。

3 结论

基于三维荧光光谱结合化学计量学方法,对小龙虾体中的呋喃西林代谢物(SEM)进行分析。即使小龙虾中的内源荧光物质对 SEM-HN 的荧光信号有严重的干扰,利用 PARAFAC 算法和

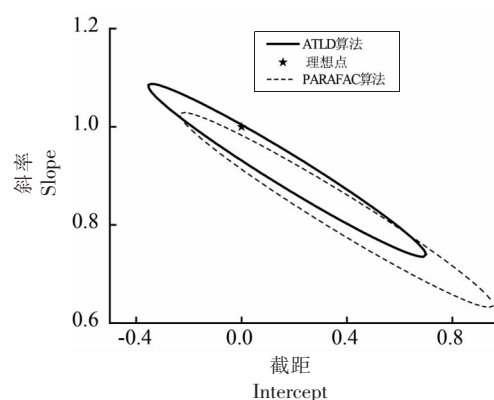


图 6 PARAFAC 算法和 ATLD 算法的椭圆置信区间检验分析图

Fig.6 EJCR test analysis diagram of PARAFAC and ATLD

ATLD 算法的“二阶优势”,也可实现对样品的准确定量分析。PARAFAC 算法分辨得到 SEM 在预测集样本中的平均加标回收率为(96.1 \pm 4.2)%,方法

的灵敏度 68.79 mL/ng, 选择性 0.94, 检测限 11.40 ng/mL, 预测均方根误差 0.18。ATLD 算法分辨得到 SEM 在预测集样本中的平均加标回收率为 (97.4±2.7)%, 方法的灵敏度 62.27 mL/ng, 选择性 0.95, 检测限 11.46 ng/mL, 预测均方根误差 0.11。这表明两种方法均能满足小龙虾中硝基呋喃代谢物残留量的检测要求。为进一步验证两种方法的性能, 利用椭圆置信区间分析, 结果表明 ATLD 算法优于 PARAFAC 算法。基于三维荧光光谱结合化学计量学的方法, 可成为食品中硝基呋喃代谢物的快速检测方法。

参 考 文 献

- [1] 于丁一, 严忠雍, 朱敬萍, 等. 四合一胶体金试纸条快速检测水产品中的硝基呋喃代谢物[J]. 理化检验(化学分册), 2019, 55(3): 364-367.
YU D Y, YAN Z Y, ZHU J P, et al. Rapid detection of nitrofurans metabolites in aquatic products with four-in-one colloidal gold strip [J]. Physical Testing and Chemical Analysis, 2019, 55(3): 364-367.
- [2] 杨武英, 王弘, 洪艳平, 等. 呋喃它酮代谢物单链抗体制备和酶联免疫分析方法[J]. 食品科学, 2020, 41(24): 251-258.
YANG W Y, WANG H, HONG Y P, et al. Preparation of single-chain variable fragment antibody against furaltadone metabolite and development of indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for its detection in shrimp samples [J]. Food Science, 2020, 41(24): 251-258.
- [3] 赵东豪, 黎智广, 王旭峰, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测水产品中硝基呋喃类代谢物的优化研究[J]. 南方水产科学, 2015, 11(6): 58-64.
ZHAO D H, LI Z G, WANG X F, et al. Optimization of determination of nitrofurans metabolites in aquatic products by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(6): 58-64.
- [4] 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.
XIN S P, DENG J C, YANG X Q, et al. Determination of nitrofurans metabolites by high performance liquid chromatography and their metabolism in shrimp [J]. Food Science, 2014, 35(24): 151-157.
- [5] 王强, 王旭峰, 赵东豪, 等. 超高效液相色谱法测定水体和沉积物中 4 种硝基呋喃类抗生素[J]. 食品科学, 2016, 37(16): 249-253.
WANG Q, WANG X F, ZHAO D H, et al. Determination of nitrofurans residues in feed and water samples by monolith-based stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography [J]. Food Science, 2016, 37(16): 249-253.
- [6] 张咏, 梅萌, 黄晓佳, 等. 基于整体材料搅拌棒固相萃取高效液相色谱联用测定饲料和水样中硝基呋喃类药物残留[J]. 色谱, 2014, 32(4): 402-406.
ZHANG Y, MEI M, HUANG X J, et al. Determination of nitrofurans residues in feed and water samples by monolith-based stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2014, 32(4): 402-406.
- [7] DU N N, CHEN M M, SHENG L Q, et al. Determination of nitrofurans metabolites in shrimp by high performance liquid chromatography with fluorescence detection and liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a new derivatization reagent [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1327: 90-96.
- [8] SHENG L Q, DU C C, QIAO L S. High-performance liquid chromatography with fluorescence detection for the determination of nitrofurans metabolites in pork muscle [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2013, 30(12): 2114-2122.
- [9] 中华人民共和国农业部. 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; 农业部 783 号公告-1-2006[S]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Determination of nitrofurans metabolites residues in fishery products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Ministry of Agriculture Announcement No. 783-2006 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2006.
- [10] 戴尽波, 徐振林, 刘凤银, 等. 化学发光酶免疫分析测定鱼肉中呋喃它酮代谢物方法研究[J]. 分析化学, 2015, 43(6): 871-875.
DAI J B, XU Z L, LIU F Y, et al. Determination of furaltadone metabolite in fish by chemiluminescence enzyme immunoassay [J]. Chinese Journal of

- Analytical Chemistry, 2015, 43(6): 871-875.
- [11] SUN Q, LUO J H, ZHANG L, ZHANG Z H, et al. Development of monoclonal antibody-based ultrasensitive enzyme-linked immunosorbent assay and fluorescence-linked immunosorbent assay for 1-aminohydantoin detection in aquatic animals[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 147: 417-424.
- [12] 中华人民共和国国家标准. 猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和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: GB/T 20752-2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- National Standard of the People's Republic of China. Method for the determination residues of the metabolites of nitrofurans in pork, beef, chicken, porcine liver and aquatic products-LC-MS-MS method: GB/T 20752-2006[S]. Beijing: Standards Press of China, 2007.
- [13] QIAO X, LI K, XU J, et al. Novel electrochemical sensing platform for ultrasensitive detection of cardiac troponin I based on aptamer-MoS₂ nanoconjugates[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2018, 113: 142-147.
- [14] DOU L, ZHAO B, BU T, et al. Highly sensitive detection of a small molecule by a paired labels recognition system based lateral flow assay[J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2018, 410(13): 3161-3170.
- [15] 范清涛, 邓建朝, 张宾, 等. 养殖虾类中呋喃西林代谢物检测方法的优化[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(16): 233-238.
- FAN Q T, DENG J C, ZHANG B, et al. Optimization of the detection method of furacillin metabolite residue in farmed shrimp[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(16): 233-238.
- [16] 吴海龙, 肖蓉, 胡勇, 等. 化学多维校正方法在药物分析中的应用[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(4): 565-579.
- WU H L, XIAO R, H Y, et al. Applications of chemical multi-way calibration methodologies in pharmaceutical analysis[J]. Chin J Pharm Anal 2019, 39(4): 565-579.
- [17] WANG T, WU H L, LONG W J, et al. Rapid identification and quantification of cheaper vegetable oil adulteration in camellia oil by using excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy combined with chemometrics[J]. Food Chemistry, 2019, 293: 348-357.
- [18] SAHAR H, BAHRAM H, SAEED Y, et al. Excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy combined with three-way chemometrics analysis to follow denatured states of secondary structure of bovine serum albumin[J]. Journal of Luminescence, 2018, 203: 90-99.
- [19] BAI X M, LIU T, LIU D L, et al. Simultaneous determination of α -asarone and β -asarone in *Acorus tatarinowii* using excitation-emission matrix fluorescence coupled with chemometrics methods[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 191: 195-202.
- [20] 陈明明. 一种硝基呋喃类药物代谢物检测方法的研究[D]. 合肥: 安徽大学, 2013.
- CHEN M M. The research for a determination method on metabolites of nitrofurans[D]. Hefei: Anhui University, 2013.
- [21] 盛良全, 徐华杰, 陈明明, 等. 硝基呋喃类药物代谢物的衍生物及高效液相色谱荧光检测: CN103808821B[P]. 2016-03-02.
- SHENG L Q, XU H J, CHEN M M, et al. Derivative of nitrofurans drug metabolites and fluorescence detection by HPLC: CN103808821B [P], 2016-03-02.
- [22] ZHAI M, WU H L, ZHANG S R, et al. Interaction of epicatechin with bovine serum albumin using fluorescence quenching combined with chemometrics [J]. Science China (Chemistry), 2014, 57(5): 748-754.
- [23] FU H Y, LI H D, SHAO M, et al. Simultaneous determination of Repaglinide and Irbesartan in biological plasmas using micellar enhanced excitation-emission matrix fluorescence coupled with ATLD method[J]. Science China Chemistry, 2016, 59(7): 816-823.
- [24] NIE J F, WU H L, WANG X M, et al. Determination of testosterone propionate in cosmetics using excitation-emission matrix fluorescence based on oxidation derivatization with the aid of second-order calibration methods [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 628(1): 24-32.
- [25] 张晓华, 吕敏明, 郑晶晶, 等. 化学计量学二阶校正方法结合高效液相色谱用于蜂蜜中 10 种酚酸类物质的快速定量分析[J]. 色谱, 2020, 38(5): 572-

580.
ZHANG X H, LÜ M M, ZHENG J J, et al. FAST high-performance liquid chromatography quantification of ten phenolic acids in honey using chemometric second-order calibration method[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(5): 572-580.
- [26] GUSTAVO-GONZALEZ A, ANGELES-HERRADOR M, AGUSTIN G ASUERO. Intra-laboratory testing of method accuracy from recovery assays[J]. Talanta, 1999, 48(3): 729-736.
- [27] MANDEL J, LINNING F J. Study of accuracy in chemical analysis using linear calibration curves[J]. Analytical Chemistry, 1957, 29(5): 743-749.

Determination of Semicarbazide Residues in Crayfish by Molecular Fluorescence Combined with Multi-way Calibration Method

Lei Yuanxiong, Xia Alin*, Huang Wei, Hou Taidong

(College of Food Science and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, Hunan)

Abstract In recent years, the problem of antibiotic residues in food is one of the food safety problems that people are concerned about. To determine the residue of semicarbazide (SEM) in crayfish, this study provides a method for the determination of SEM residues in crayfish based on Excitation-emission matrix fluorescence combined with chemometrics. After simple pretreatment, the sample was derivatized with 2-hydroxy-1-naphthylaldehyde and SEM to produce 2-hydroxy-naphthylaldehyde nitrofurans derivative (SEM-HN) with fluorescence properties. The fluorescence spectrometer collects the fluorescence spectra of the sample to obtain the three-dimensional fluorescence data matrix. After the blank sample was deducted, the excitation-emission matrix fluorescence data matrix was analyzed using PARAFAC and ATLD in chemometrics. Both algorithms can get better quantitative analysis results. In order to evaluate the accuracy of the two algorithms, the quality factors were calculated: sensitivity (SEN), selectivity (SEL), detection limit (LOD) and predicted root mean square error (RMSEP). The results show that the accuracy of the two algorithms is good. In order to further verify the performance of PARAFAC and ATLD, EPCR test analysis is used. The results show that ATLD algorithm is better than PARAFAC algorithm. Excitation-emission matrix fluorescence combined with ATLD algorithm can quickly determine SEM residues in crayfish.

Keywords molecular fluorescence; alternating trilinear decomposition algorithm; semicarbazide; crayfish