

## تعیین مقدار داروی غیر مجاز فورازولیدون در جوجه‌های گوشتی در کشتارگاه اهواز به روش HPLC

علی فضل آرا<sup>۱\*</sup>، منصور میاحی<sup>۲</sup>، حسین نجف زاده ورزی<sup>۳</sup>، فرود کوردزنی<sup>۴</sup>، شیرین محمدیاری<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، <sup>۲</sup> گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران،  
<sup>۳</sup> گروه علوم پایه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، <sup>۴</sup> دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۵/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** فورازولیدون به دلیل خطراتی که برای بهداشت انسانی به خصوص از نظر سرطان‌زایی دارد، مصرف آن در حیواناتی که فرآورده آن‌ها مورد استفاده غذایی انسان قرار می‌گیرد، ممنوع می‌باشد. هدف این مطالعه تعیین مقدار داروی غیرمجاز فورازولیدون در جوجه‌های گوشتی در کشتارگاه اهواز به روش HPLC بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی - تحلیلی در طی ۶ ماه، تعداد ۱۰۰ عدد لاشه جوجه‌های گوشتی از کشتارگاه اهواز به صورت تصادفی تهیه شدند، سپس لاشه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شده و در کمتر از ۲۴ ساعت با روش HPLC نسبت به جستجوی داروی غیر مجاز فورازولیدون در لاشه‌ها اقدام شد. پس از استخراج و مشتق‌سازی برای جداسازی فورازولیدون از عضلات با کمک اتیل استات و پروتکل‌های مربوطه و همچنین پس از کالیبره کردن دستگاه HPLC برای به دست آوردن منحنی استاندارد، مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌ها به دستگاه تزریق و میزان فورازولیدون در مخلوط عضلات سینه و ران مشخص گردید. داده‌ها با آزمون آماری تی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** میانگین مقدار فورازولیدون در مخلوط عضلات سینه و ران  $28/15 \pm 2/37$  میکروگرم در هر کیلوگرم تعیین گردید و ۳۹ درصد از نمونه‌ها از نظر وجود داروی غیر مجاز فورازولیدون مثبت بودند.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این بررسی، توجه بیشتر مسئولین ذیربط به وجود باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیکی مانند فورازولیدون در گوشت طیور و انجام اقدامات لازم به منظور جلوگیری از تداوم مشکل حاضر ضروری است.

واژه‌های کلیدی: گوشت طیور، فورازولیدون، HPLC

\*نویسنده مسئول: دکتر علی فضل آرا، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت

مواد غذایی

Email: a.fazlara@scu.ac.ir

## مقدمه

امروزه با توجه به ازدیاد جمعیت، نیاز افراد جامعه به مواد غذایی افزایش یافته است، که یکی از این اقلام غذایی پروتئین و از جمله گوشت طیور است. با توجه به تقاضای زیاد جامعه و نیز جنبه اقتصادی، سیستم پرورش طیور گوشتی متراکم است که این شرایط باعث شیوع بیماری‌هایی در بین طیور شده است؛ بیماری‌های باکتریایی از مهم‌ترین این امراض است. درمان بیماری‌های باکتریایی به وسیله آنتی‌بیوتیک‌ها انجام می‌پذیرد. فورازولیدون یکی از آنتی‌بیوتیک‌های بسیار مؤثر در این رابطه می‌باشد؛ فورازولیدون یک داروی ضد میکروب است که علاوه بر خاصیت ضد باکتریایی، خاصیت ضد انگلی و ضد قارچی نیز دارد. فورازولیدون به مدت ۲۰ تا ۲۵ سال مورد استفاده قرار گرفته است، ولی متأسفانه به دلیل عوارض کارسینوژنیک و موتاژنیک آن، بسیاری کشورها از جمله اتحادیه اروپا استفاده از آن را ممنوع نموده‌اند. استفاده از داروهای ضد باکتریایی در درمان بیماری‌های طیور به دلیل ورود دارو به تخم مرغ، گوشت و لاشه و مشکلاتی که در سلامت انسان ایجاد می‌کند، اهمیت خاصی یافته و موجب نگرانی دست اندرکاران صنعت پرورش طیور در دنیا گشته است. هم‌چنین استفاده از این دارو بر اساس دستورالعمل‌های سازمان دامپزشکی ایران نیز مجاز نمی‌باشد، با این حال به دلیل عدم اطلاع بسیاری از مرغداران از عوارض این دارو، در مرغداری‌ها به صورت داروی پیشگیری و یا درمان بیماری‌ها از آن استفاده می‌گردد (۱).

ارزیابی باقیمانده‌های دارویی و از جمله فورازولیدون در بسیاری تحقیقات گزارش شده است (۴-۲). که از آن جمله می‌توان به تحقیقات تیواری و همکاران در سال ۲۰۰۸ اشاره نمود که مقدار فورازولیدون باقیمانده در کلیه، کبد و سرم را به ترتیب ۲۷۰ و ۱۶۰ نانوگرم در هر گرم و نیز ۸۸ نانوگرم در هر میلی‌لیتر اعلام داشتند (۵). هم‌چنین مک کراکن و همکاران در سال ۲۰۰۵ ضمن اشاره به خواص کارسینوژن نیتروفوران‌ها، مقدار باقیمانده متابولیت‌های حاصله از نیتروفوران‌ها را در کبد طیور ۱/۱ و عضلات ۰/۳۳ میکروگرم در کیلوگرم گزارش نمودند (۶ و ۲).

با توجه به این که ممکن است گاهی اوقات به صورت غیر مجاز از این دارو در واحدهای پرورشی طیور استفاده شود، از این رو در جهت تشخیص احتمال مصرف این دارو و جلوگیری از عوارض و اثر سوء دارو بر سلامت و بهداشت انسانی در این مطالعه میزان باقیمانده داروی غیرمجاز فورازولیدون در گوشت طیور منطقه اهواز به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) بررسی شده است.

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی در مدت ۶ ماه، تعداد ۱۰۰ عدد لاشه طیور به صورت تصادفی از کشتارگاه اهواز تهیه شدند، لاشه‌ها بلافاصله در کنار یخ به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شده و برای نمونه‌برداری مقدار ۲۰۰ گرم از لاشه طیور (از سینه و

ران به یک میزان) برداشته و چرخ می‌شد و سپس با هموژنایزر مکانیکی به طور کامل هموژن گردید. سپس از مخلوط گوشت هموژن شده جهت مراحل استخراج و مشتق‌سازی استفاده شد. بدین صورت که یک گرم از مخلوط گوشت هموژن را با ۵ میلی‌لیتر محلول متانول و آب (به نسبت مساوی ۵۰ به ۵۰) با هم مخلوط کرده و پس از نگهداری محلول فوق به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق، به منظور تبخیر متانول محلول در بن ماری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه قرار داده شد. مقدار ۳ میلی‌لیتر اتیل استات به محلول اضافه گردید و محلول به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، فاز آلی (باقیمانده بالایی) را جدا کرده و از کاغذ صافی عبور داده، سپس در بن ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک شود (۷-۱۱).

جهت استخراج و مشتق‌سازی از گوشت طیور با اضافه کردن مقادیر مختلفی از فورازولیدون به عنوان استاندارد داخلی (سیگما - آمریکا)، غلظت‌های مشخصی (۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر) از داروی فورازولیدون (محلول استاندارد) به گوشت طیور (۰/۲ میلی‌لیتر از هر غلظت به یک گرم گوشت طیور چرخ کرده) که فاقد هر نوع دارویی بود اضافه شد و مراحل استخراج و مشتق‌سازی مانند روش ذکر شده انجام شد تا راندمان دستگاه HPLC (شیمادزو ۱۰-ژاپن) و صحت روش کار بررسی شود.

روش تزریق و آنالیز دستگاهی HPLC بر اساس روش دوود و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. در این مرحله، به ماده خشک باقیمانده، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول استونیتریل و آب (به نسبت حجمی ۷۰ به ۳۰) اضافه و حل کرده، سپس محلول از میکروفیلتر ۰/۴۵ میکرونی عبور داده و ۲۰ میکرولیتر از این محلول با سرنگ میکرولیتری هاملتون به دستگاه تزریق شد. لازم به ذکر است که جهت اطمینان از نتیجه حاصل از تزریق، هر نمونه ۳ بار به طور مکرر به دستگاه تزریق شد و پس از هر تزریق، محل تزریق با محلول استونیتریل و آب (به نسبت حجمی ۷۰ به ۳۰) شسته می‌شد تا مسیر کاملاً شسته شود.

اساس آزمایش سنجش فورازولیدون از گوشت طیور با استفاده از جذب اشعه فرابنفش<sup>(۱)</sup> در ۲۵۴ نانومتر، استفاده از فاز معکوس با سیستم ایزوکراتیک استونیتریل و آب (به نسبت حجمی ۷۰ به ۳۰) با جریان حلال ۱ میلی لیتر در دقیقه در درجه حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد است. سپس بر اساس مقایسه زمان ماندگاری نمونه‌های مجهول با نمونه‌های استاندارد، فورازولیدون را شناسایی کرده و با توجه به سطح زیر منحنی پیک‌ها و معادله خط منحنی استاندارد به صورت  $y = ax + b$  (y و x به ترتیب سطح زیر منحنی پیک فورازولیدون و نیز میزان داروی فورازولیدون) تعیین غلظت شدند.

1- Ultra Violet

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری تی تجزیه و تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

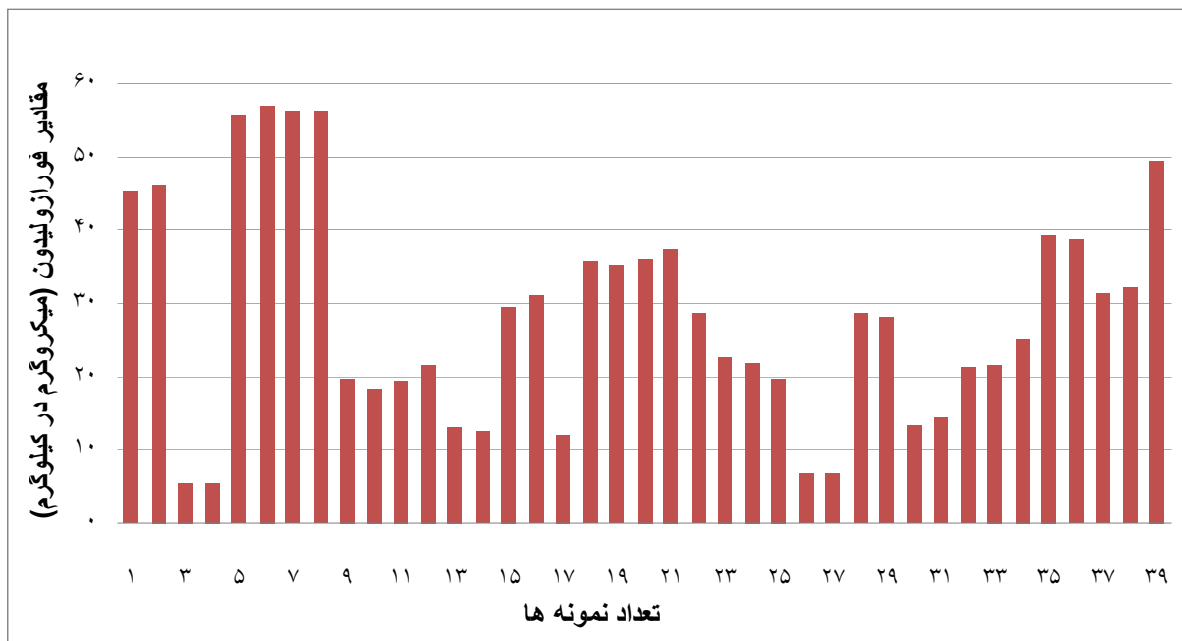
بر اساس نتایج حاصله، از ۱۰۰ نمونه بررسی شده حداقل و حداکثر میزان فورازولیدون به ترتیب صفر یا غیر قابل شناسایی و ۵۷/۰۵ میکروگرم بر کیلوگرم بود و در مجموع تعداد ۳۹ نمونه (۳۹ درصد) حاوی باقیمانده دارویی فورازولیدون بودند و ۶۱ عدد (۶۱ درصد) آنها عاری از فورازولیدون یا به بیان دیگر میزان فورازولیدون در آنها صفر یا غیر قابل شناسایی بود. در ۳۹ نمونه دارای فورازولیدون حداقل و حداکثر میزان دارو به ترتیب ۵/۳۵ و ۵۷/۰۵ میکروگرم بر کیلوگرم بود (جدول ۱) که در ۷ نمونه ۱۷/۹۵ درصد مقدار فورازولیدون بالاتر از ۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم یافت شد در حالی که در ۴ نمونه (۱۰/۲۶ درصد) مقادیر این دارو کمتر از ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم بود و در ۲۸ نمونه (۷۱/۸ درصد) دیگر مقادیر دارو بین ۱۰ تا ۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم بودند (نمودار ۱). نمودار شماره ۲، کروماتوگرام HPLC نمونه استاندارد دارویی فورازولیدون در غلظت ۰/۰۰۰۱ میلی‌گرم (۰/۱ میکروگرم) را نشان داده و نمودارهای شماره ۲ تا ۶ کروماتوگرام HPLC باقیمانده دارویی فورازولیدون در عضله طیور برای ۴ نمونه مثبت از نظر وجود این دارو را نشان می‌دهد.

با تزریق مقادیر مختلف فورازولیدون و تغییر جریان فاز متحرک، ابتدا دستگاه کالیبره شد و زمان ماندگاری فورازولیدون و پیک خروجی کروماتوگرام ۳ دقیقه و ۱۰ ثانیه به دست آمد. هم‌چنین با تزریق غلظت‌های مختلف فورازولیدون منحنی استاندارد به صورت  $Y = 145336X - 108842$  حاصل شد. ارتباط خطی بودن غلظت با سطح زیر منحنی برای فورازولیدون با رگرسیون  $R^2 = 0.9967$  به دست آمد. میزان ضریب تعیین ( $R^2$ ) حاصل بیانگر همبستگی بالای مقدار دارویی فورازولیدون با سطح زیر منحنی پیک فورازولیدون در کروماتوگرام‌های مربوطه می‌باشد. (Y: سطح زیر منحنی که پیک فورازولیدون را نشان می‌دهد. X: مقدار دارویی فورازولیدون)

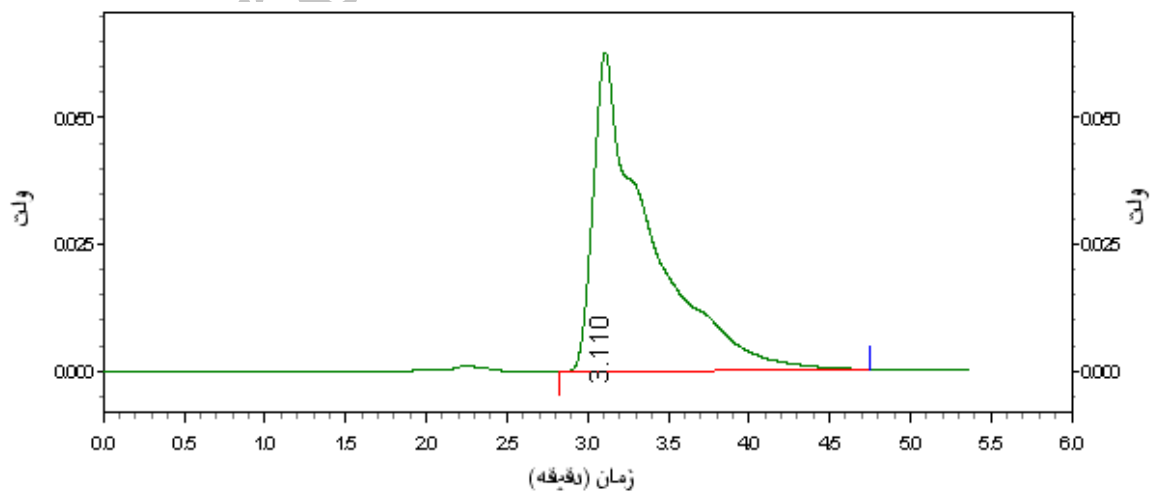
با قرار دادن سطح زیر منحنی پیک فورازولیدون در کروماتوگرام حاصل از تزریق هر نمونه مورد آزمایش در معادله فوق، نهایتاً مقدار فورازولیدون به روش محاسباتی بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم به دست آمد. به این ترتیب که نظر به آن که مقدار ۲۰ میکرولیتر از ۰/۵ میلی لیتر (۵۰۰ میکرولیتر) محلول استونیتریل و آب مورد استفاده در روش کار به دستگاه HPLC تزریق می‌شد، مقدار سطح زیر منحنی پیک فورازولیدون در کروماتوگرام مربوطه (Y)، در معادله منحنی استاندارد فوق‌الذکر قرار گرفته و مقدار دارویی فورازولیدون در ۲۰ میکرولیتر تزریقی حاصل می‌گردید که با ضرب نمودن آن در ضریب ۲۵، میزان دارویی فورازولیدون در یک گرم از نمونه مورد آزمایش به دست می‌آمد که به طور محاسباتی به کیلوگرم تعمیم داده می‌شد. این طریقه محاسبه در مورد تک تک نمونه‌ها به انجام رسید.

جدول ۱: میزان فورازولیدون ( بر حسب میکروگرم در کیلوگرم) در گوشت طیور بررسی شده

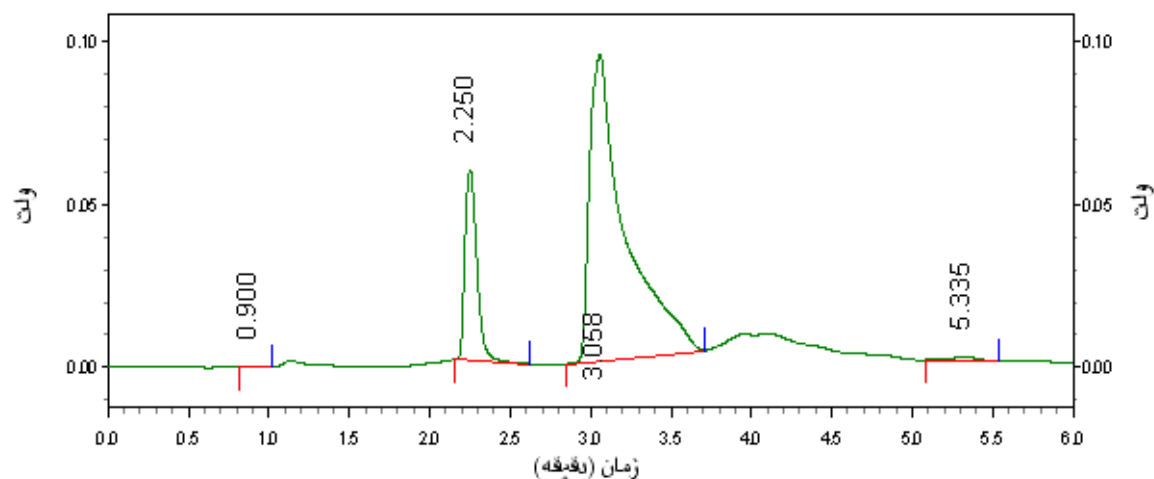
تعداد نمونه	حداقل دارو	حداکثر دارو	انحراف معیار ± میانگین
کل عضلات (سینه و ران) بررسی شده (۱۰۰ نمونه)	۰	۵۷/۰۵	$۱۰/۹۷ \pm ۱/۶۵$
نمونه های دارای فورازولیدون (۳۹ نمونه)	۵/۳۵	۵۷/۰۵	$۲۸/۱۵ \pm ۲/۳۷$



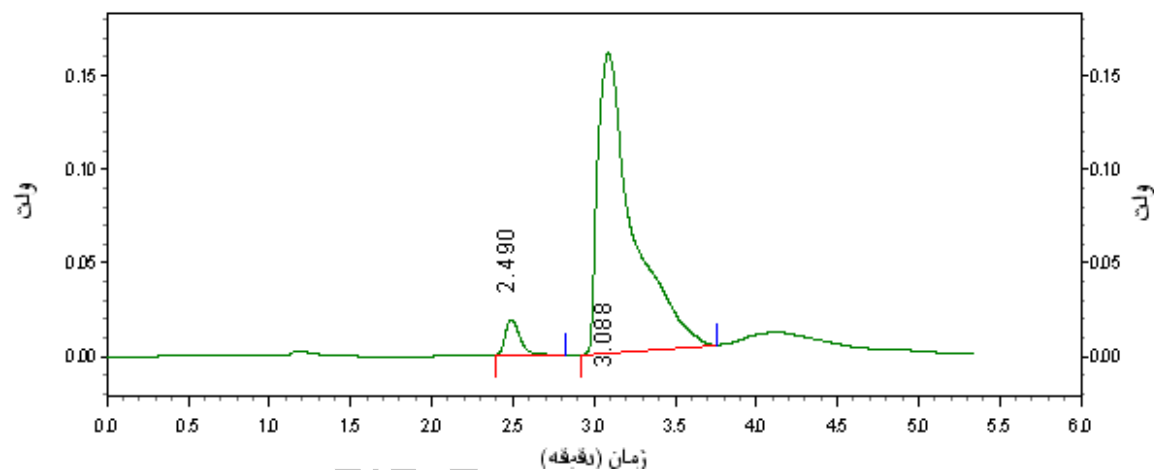
نمودار ۱: مقایسه مقادیر فورازولیدون (بر حسب میکروگرم در کیلوگرم) در نمونه های دارای فورازولیدون



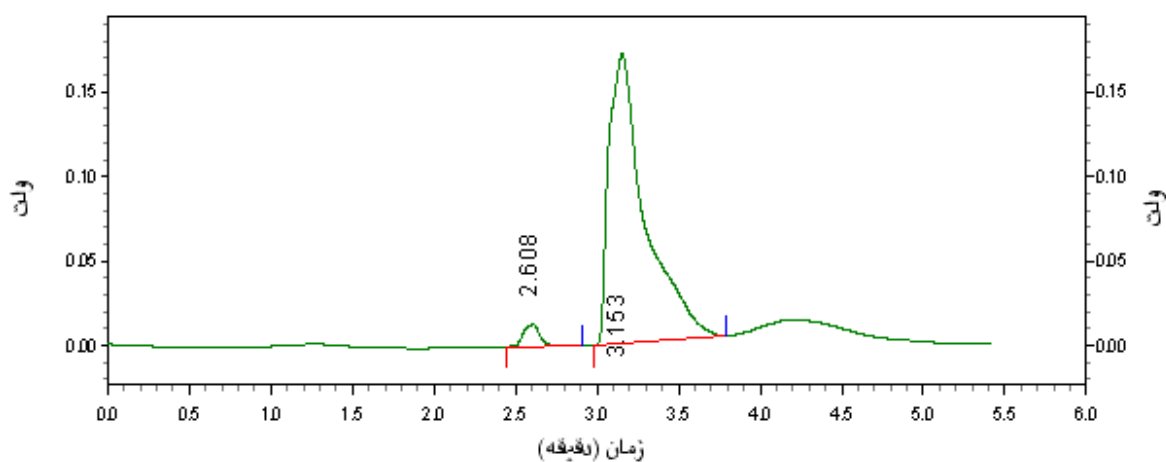
نمودار ۲: کروماتوگرام HPLC نمونه استاندارد داروی فورازولیدون با غلظت ۰/۰۰۰۱ میلی گرم (۰/۱ میکروگرم)



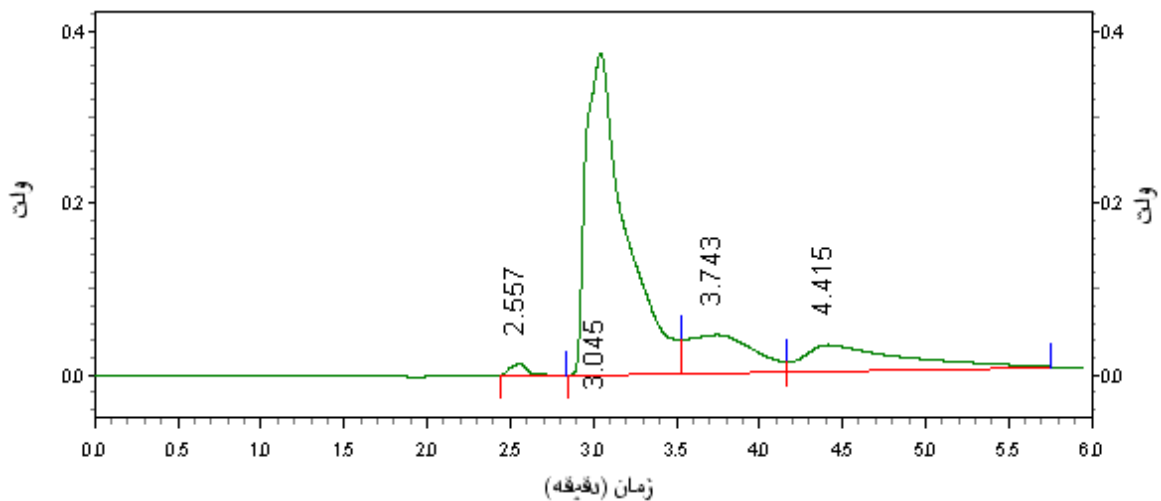
نمودار ۳: کروماتوگرام HPLC باقیمانده داروی فورازولیدون در عضله طیور (نمونه شماره ۱)



نمودار ۴: کروماتوگرام HPLC باقیمانده داروی فورازولیدون در عضله طیور (نمونه شماره ۲)



نمودار ۵: کروماتوگرام HPLC باقیمانده داروی فورازولیدون در عضله طیور (نمونه شماره ۳)



نمودار ۶: کروماتوگرام HPLC باقیمانده داروی فورازولیدون در عضله طیور (نمونه شماره ۴)

## بحث

با توجه به یافته‌های این تحقیق، منشأ این دارو در مخلوط عضله سینه و ران طیور گوشتی را می‌توان به دو مورد زیر نسبت داد؛ ۱- ممکن است داروی فورازولیدون در برخی از واحدهای پرورش طیور به صورت غیر مجاز استفاده شده باشد. ۲- ممکن است مقدار داروی به دست آمده در عضلات طیور به علت وجود داروی فورازولیدون در غذای تجاری آماده باشد که در واحدهای مرغداری مورد استفاده قرار گرفته است. از طرفی دیگر، عدم وجود دارو در برخی نمونه‌ها می‌تواند بیانگر عدم استفاده از داروی فورازولیدون باشد و یا ممکن است مقدار دارو در حدی بوده است که به وسیله دستگاه HPLC و شناساگر مربوطه استفاده شده در این مطالعه قابل شناسایی نبوده است.

در مطالعه حاضر میزان باقیمانده داروی فورازولیدون در مخلوط عضلات سینه و ران طیور گوشتی با روش HPLC مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر HPLC روش‌های دیگری مانند الایزا و

سابقه استفاده از داروی فورازولیدون به حدود ربع قرن می‌رسد. فورازولیدون به دلیل خطراتی که برای بهداشت انسانی به خصوص از نظر سرطان‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی دارد، مصرف آن در بسیاری کشورها از جمله اتحادیه اروپا و نیز کشورهای در حال توسعه از جمله ایران در حیواناتی که فرآورده آن‌ها مورد استفاده غذایی انسان قرار می‌گیرد، به دلیل ورود دارو به تخم مرغ، گوشت و لاشه و مشکلاتی که در سلامت انسان ایجاد می‌کند، ممنوع می‌باشد (۱). با توجه به این که ممکن است در برخی مزارع پرورش طیور متعاقب عدم موفقیت درمان‌های ضد باکتریایی معمول، از این دارو به صورت غیر مجاز استفاده شود، هدف مطالعه حاضر بررسی وضعیت باقی مانده فورازولیدون در مخلوط عضله سینه و ران طیور گوشتی به روش HPLC در منطقه اهواز بود.

HPLC به خصوص آشکارساز UV، کمترین غلظت باقیمانده فورازولیدون در نمونه های مورد بررسی، ۲ نانوگرم در هر گرم بود که ممکن است مقادیر پایین تری با دستگاه یا آشکار سازهای دیگر شناسایی شود. بنابراین در مواردی که در مطالعه حاضر مقدار صفر اعلام شده است به معنای غیر قابل شناسایی بوده است.

در مطالعه حاضر به دلیل عدم دسترسی به استاندارد متابولیت های فورازولیدون، صرفاً سنجش داروی مادر (فورازولیدون) صورت گرفت. که با توجه به نکته فوق ممکن است برخی از موارد مصرف فورازولیدون که تا پایان دوره پرورش استفاده نشده اند، مورد شناسایی واقع نشده باشد. فراهمی زیستی متابولیت های نیترو فوران ها در دیگر مطالعات مورد بررسی قرار گرفته و مشاهده شده است که امکان انتقال باقیمانده های متابولیت ها به گونه های ثانویه (نظیر مصرف گوشت خوک دارای باقیمانده متابولیت نیترو فورانی به وسیله موش) وجود دارد (۱۶). همچنین بر اساس مطالعات موجود، این متابولیت ها در محیط بدن می توانند به وسیله اسید معده آزاد شوند (۱۷). فراهمی زیستی متابولیت های نیترو فوران ها می تواند از طریق مصرف گوشت و سایر فرآورده های آلوده حیوانات نظیر تخم مرغ حتی بعد از پختن رخ دهد (۱۹ و ۱۸). همچنین این متابولیت ها می تواند به نتاج مرغ های مادر منتقل شود (۲۱ و ۲۰). در واقع پایداری متابولیت ها در خلال

CD-IMS<sup>(۱)</sup> جهت ارزیابی باقیمانده های نیترو فورانی وجود دارند که از بین این روش ها، HPLC به مراتب دقیق تر بوده و توانایی تفکیک انواع نیترو فوران ها و نیز متابولیت های حاصله را نیز دارا می باشد (۱۲ و ۱۳). لازم به ذکر می باشد که این روش برای تعیین میزان داروی فورازولیدون در بافت های دیگر طیور و حتی تخم مرغ نیز به کار گرفته شده است (۱۴ و ۱۳). به عنوان نمونه علوی (۲۰۰۰) از روش HPLC جهت ارزیابی میزان فورازولیدون و فورالتادون در تخم مرغ و بافت های طیور استفاده کرد. که حداقل غلظت قابل تشخیص در این مطالعه برای فورازولیدون ۱ نانوگرم در هر گرم بود. و میزان استحصال برای هر دو دارو بین ۸۰-۹۹ درصد متغیر بود (۱۴). در مطالعه جعفری و همکاران (۲۰۰۷) که از روش CD-IMS به منظور تعیین باقیمانده فورازولیدون، کلرامفنیکل و انروفلوکساسین در گوشت طیور استفاده نمودند، حداقل غلظت قابل تشخیص باقیمانده دارویی برای فورازولیدون و سایر ترکیبات را کمتر از ۲۰ میکروگرم در هر کیلوگرم اعلام داشتند (۱۵). با مقایسه این دو مطالعه این نتیجه حاصل می گردد که اختلاف قابل توجهی در حداقل غلظت قابل تشخیص وجود دارد که این موضوع با توجه به نوع دستگاه های مورد استفاده در ارزیابی میزان باقیمانده های دارویی قابل توجه می باشد. در مطالعه حاضر نیز که به روش HPLC صورت گرفت، حداقل غلظت قابل تشخیص برای فورازولیدون ۲ نانوگرم در هر گرم بود. لازم به ذکر است با توجه به محدودیت دستگاه

I-Corona Discharge Ion Mobility Spectrometry



نگهداری و پخت گوشت مشاهده شده است (۲۲). نگهداری هشت ماهه گوشت اثر قابل توجهی روی غلظت باقیمانده نیترو فوران‌ها در نمونه‌های عضله و کبد خوک نداشت. مک کراکن و همکاران بیان داشتند بین ۶۷ تا ۱۰۰ درصد باقیمانده دارو بعد از پخت، انجماد، کباب، سرخ کردن و مایکروویو نمودن همچنان وجود داشتند. در مطالعه دیگری به وسیله همین محقق مشاهده گردید که متابولیت‌های فورازولیدون در تخم مرغ حداقل تا ۱۲ ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد پایدار مانده است (۲۰).

پترز در سال ۱۹۸۴ در تحقیقی که به وسیله HPLC بر روی تخم‌مرغ انجام داد به مدت ۱۴ روز فورازولیدون را به مرغان با غلظت ۰/۰۴ درصد داد، میانگین مقدار فورازولیدون ۰/۷ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به دست آمد. میزان باقیمانده به صورت مشخص در زرده بیش از سفیده بود. باقیمانده فورازولیدون تا ۵ روز پس از قطع دارو در تخم مرغ وجود داشت و پخت تخم مرغ‌ها به مدت ۱۰ دقیقه تنها باعث کاهش اندکی در مقدار باقیمانده شد (۱۳). همچنین شیتاندی و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی اثر حرارت شدید (۲۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) بر روی باقیمانده فورازولیدون در کبد و عضله طیور پرداختند و نتیجه حاصل از آن بدین صورت بود که باقیمانده فورازولیدون در عضله و کبد طیور به وسیله حرارت زیاد از بین نمی‌رود (۱۲).

علوی در سال ۱۹۹۹ نیز به بررسی میزان فورازولیدون و فورالتادون در تخم‌مرغ‌های کشور

اردن پرداخت که در این مطالعه ۸۳/۳ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه به هر دو دارو آلوده بودند. و غلظت فورازولیدون در محدوده‌ی ۱۰/۱۳-۱۲/۲ نانوگرم در هر گرم بود (۲۳). مک کراکن و همکاران در سال ۲۰۰۵ به بررسی انتقال باقیمانده‌های نیترو فوران‌ها از والدین جوجه‌های گوشتی به جوجه‌ها پرداختند، که مشخص گردید غلظت‌های بالای نیترو فوران‌ها از طریق زرده به جوجه‌های تازه هچ شده منتقل می‌شود. در طی این مطالعه مقدار متابولیت حاصله از نیترو فوران‌ها در تخم مرغ معادل ۱۵۶۷ میکروگرم در هر کیلوگرم گزارش شد و در جوجه‌های یک روزه حاصله از این تخم مرغ‌ها، میزان باقیمانده نیترو فوران‌ها در کبد و عضلات به ترتیب ۲۶/۶ تا ۳۲/۵ میکروگرم در هر کیلوگرم بود و پس از گذشت ۴۰ روز هیچ گونه اثری از باقیمانده‌ها در لاشه طیور وجود نداشت (۲). بنابراین این احتمال نیز وجود دارد که مقادیر اندک باقیمانده فورازولیدون در مطالعه حاضر تا حدودی مربوط به انتقال این دارو از طریق تخم مرغان مادر یا مولد تخم‌گذار جوجه‌های گوشتی پرورشی باشد که به دلیل دوره کوتاه پرورش جوجه‌های گوشتی (۳۶ الی ۴۷ روز) به طور کامل از بدن آن‌ها دفع نشده است.

مک کراکن و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی وجود متابولیت‌های نیترو فوران‌ها در بافت مرغانی که در معرض مقادیر بسیار کم نیترو فوران‌ها در جیره بودند، پرداختند. در این مطالعه داروی فورازولیدون با غلظت ۳۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم به مرغ‌ها

حاصله از مطالعه حاضر در تعارض می باشد و بیانگر آن است که متأسفانه علی رغم ممنوعیت استفاده از نیتروفوران ها در حیوانات تأمین کننده غذای انسان، همچنان به دلایل مختلف از جمله نبود اطلاعات کافی در مرغداران، واردات و عرضه این داروها بصورت غیر مجاز و نیز ضعف سیستم های کنترلی و نظارتی، همچنان در صنعت پرورش طیور در ایران مورد استفاده قرار می گیرند.

### نتیجه گیری

در این مطالعه ۳۹ درصد نمونه ها حاوی مقادیری از باقیمانده داروی فورازولیدون بودند و میانگین دارو در این نمونه ها  $2/37 \pm 28/15$  میکروگرم در هر کیلوگرم بود. با توجه به نتایج حاصل، می توان علت وجود باقیمانده داروی غیر مجاز فورازولیدون در عضلات طیور را به دلیل رعایت نشدن بهداشت و عدم انجام به موقع واکسیناسیون و کافی نبودن مدیریت و نظارت فنی صحیح بر مرغداری ها دانست. لذا با توجه به نتایج این بررسی، توجه بیشتر مسئولین ذیربط دامپزشکی به این موضوع و انجام اقدامات لازم به منظور جلوگیری از تداوم مشکل حاضر ضروری می نماید.

### تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه مقطع دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز بود که از محل اعتبار پژوهانه به انجام رسیده است.

تزیق شد، که مقدار متابولیت فورازولیدون در کبد طیور  $1/1 \pm 0/2$  میکروگرم در هر کیلوگرم و در عضلات  $0/3 \pm 0/33$  میکروگرم در هر کیلوگرم تعیین گردید (۶). همچنین کوهن و همکاران (۱۹۹۲) به بررسی بافت های طیور از نظر باقیمانده های اکسی تتراسایکلین و فورازولیدون پرداختند، که کلیه، کبد و عضلات به این منظور با روش HPLC بررسی شدند. فورازولیدون فقط در کبد و عضلات سینه با غلظت های متوسط به ترتیب ۳۸ و ۱۳ میکروگرم در هر کیلوگرم یافت شد. نتیجه به دست آمده این بود که برای اجتناب از وجود باقیمانده فورازولیدون، رعایت زمان کافی بین قطع دارو تا کشتار ضروری است (۳). در تحقیق مشابه دیگری که در سال ۲۰۰۸ صورت گرفته است، تیواری و همکاران (۲۰۰۸) مقدار فورازولیدون باقیمانده در کلیه، کبد و سرم را به ترتیب ۲۷۰ و ۱۶۰ نانوگرم در هر گرم و نیز ۸۸ نانوگرم در هر میلی لیتر اعلام کردند. این محققین بیان نمودند که رعایت یک هفته بین آخرین مصرف دارو تا زمان کشتار می تواند جهت حذف بقایای فورازولیدون در عضلات کافی باشد (۵).

سال ۱۹۹۵ در اروپا استفاده از نیتروفوران ها برای حیوانات مزرعه ای کاملاً ممنوع شد (۲۴). چندی پس از آن در کشورهای نظیر استرالیا، آمریکا، فیلیپین، تایلند و برزیل هم این ممنوعیت اعمال شد و در نهایت استفاده از نیتروفوران ها در پرورش حیوانات تأمین کننده غذای انسان در اکثر کشور های جهان ممنوع اعلام گردید (۲۵) که این موضوع با نتایج

**REFERENCES**

1. Peyghan R, Najafzadeh Varzi H, Jamzadeh E. Determination of Furazolidone residues in muscles of the cultured common carp following experimental bath and oral administration. *J Vet Res* 2012; 67(1): 71-5.
2. McCracken RJ, Van Rhijn JA, Kennedy DG. Transfer of nitrofurans residues from parent broiler breeder chickens to broiler progeny. *Br Poult Sci* 2005; 46(3): 287-92.
3. Kuhne M, Kobe A, Ebrecht A, Fries R. Residues of oxytetracycline and furazolidone in chicken after application of subtherapeutic dosages. *LWT* 1992; 25 (5): 484-6.
4. Cooper KM, Elliott CT, Kennedy DG. Detection of 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ), a tissue-bound metabolite of the nitrofurans furazolidone, in prawn tissue by enzyme immunoassay. *Food Addit Contam* 2004; 21(9): 841-8.
5. Tiwari HK, Tiwari JG. Studies on the residues of teramycin and furazolidone in broiler meat, a public health concern. *Indian J Public Health* 2008; 52(1): 33-6.
6. McCracken RJ, Van Rhijn JA, Kennedy DG. The occurrence of nitrofurans metabolites in the tissues of chickens exposed to very low dietary concentrations of the nitrofurans. *Food Addit Contam* 2005; 22(6): 567-72.
7. Sugden EA, Macintosh AI, Vilim AB. High pressure liquid chromatographic determination of nitrofurazone and furazolidone in chicken and pork tissues. *J AOAC* 1983; 66(4): 874-80.
8. Nakazawa H, Kato K, Watanabe T, Oka H. Simultaneous determination of residual tetracyclines in foods by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr* 1999; 732(1): 55-64.
9. Kari FW, Weaver R, Neville MC. Active transport of nitrofurantoin across the mammary epithelium in vivo. *J Pharm Exp Ther* 1997; 280(2): 664-8.
10. Kajita H, Hatakeyama E. Simultaneous determination of residual veterinary drugs in livestock products and fish by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Food Hyg Soc Jpn* 2008; 49(6): 381.
11. Degroodt JM, Wyhowski De Bukanski B, De Groof J, Beernaert H, Srebrnik S. Chloramphenicol and nitrofurans residue analysis by HPLC and photodiode array detection in meat and fish. *J Liq Chromatogr* 1992; 15(13): 2355-71.
12. Shitandi A, Aila O, Ottaro S, Aliong'o L, Mwangi G, Kumar-Sharma H, et al. Effect of deep frying on furazolidone anticoccidial drug residues in liver and muscle tissues of chicken. *Afr J Food Sci* 2008; 2(2): 144-8.
13. Petz M. Residues in eggs after treatment of laying hens with chloramphenicol and furazolidone. *Arch Lebensmittelhyg* 1984; 35(3): 51-4.
14. Alawi MA. Analysis of furazolidone in chicken tissues and eggs using a modified HPLC/ELCD method. *Fresen Environ Bull* 2000; 9(7): 508-14.
15. Jafari MT, Khayamian T, Shaer V, Zarei N. Determination of veterinary drug residues in chicken meat using corona discharge ion mobility spectrometry. *Anal Chim Acta* 2007; 581(1): 147-53.
16. Vroomen LH, Van Bladeren PJ, Groten JP, Wissink CJ, Kuiper HA, Berghmans MC. In vivo and in vitro metabolic studies of furazolidone: a risk evaluation. *Drug Metab Rev* 1990; 22(6): 663-76.
17. Hoogenboom LA, Berghmans MC, Polman TH, Parker R, Shaw IC. Depletion of protein-bound furazolidone metabolites containing the 3-amino-2-oxazolidinone side-chain from liver, kidney and muscle tissues from pigs. *Food Addit Contam* 1992; 9(6): 623-30.
18. McCracken RJ, Kennedy DG. The bioavailability of residues of the furazolidone metabolite 3-amino-2-oxazolidinone in porcine tissues and the effect of cooking upon residue concentrations. *Food Addit Contam* 1997; 14(5): 507-13.
19. Gottschall DW, Wang R. Depletion and Bioavailability of [C-14] Furazolidone Residues in Swine Tissues. *J Agric Food Chem* 1995; 43(9): 2520-2.
20. McCracken RJ, Spence DE, Floyd SD, Kennedy DG. Evaluation of the residues of furazolidone and its metabolite, 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ), in eggs. *Food Addit Contam* 2001; 18(11): 954-9.
21. Finzi JK, Donato JL, Sucupira M, De Nucci G. Determination of nitrofurans metabolites in poultry muscle and eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2005; 824(1): 30-5.
22. Cooper KM, Kennedy DG. Stability studies of the metabolites of nitrofurans antibiotics during storage and cooking. *Food Addit Contam* 2007; 24(9): 935-42.

23. Alawi MA. Determination of furazolidone and furaltadone in Jordanian local eggs using a modified HPLC method. *Fresen Environ Bull* 1999; 8(1): 86-93.
24. Commission Regulation. Commission Regulation (EC) 1442/95 of 26 June 1995 amending Annexes I, II, III and IV of Regulation (ECC) No 2377/90 laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. *Official J Europ Communit* 1995; L143: 26-30.
25. Khong SP, Gremaud E, Richoz J, Delatour T, Guy PA, Stadler RH, et al. Analysis of matrix-bound nitrofurans residues in worldwide-originated honeys by isotope dilution high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2004; 52(17): 5309-15.

Archive of SID

# Determination the Amount of Illegal Furazolidone Residues in Broilers in Ahvaz Abattoir by HPLC Method

Fazlara A<sup>1\*</sup>, Mayahi M<sup>2</sup>, Najafzadeh Varzi H<sup>3</sup>, Gudarznia F<sup>4</sup>, Mohammadyari S<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Hygiene, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, <sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, <sup>3</sup>Department of Basic Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, <sup>4</sup>Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 18 Aug 2013

Accepted: 24 Dec 2014

## Abstract

**Background & aim:** due to the risks to human health, particularly in terms of carcinogenicity, the application of Furazolidone in animals which their products are consumed by human population is strongly prohibited. The purpose of this study was to determine the amount of unauthorized furazolidone in broiler chickens slaughtered in Ahvaz by using HPLC.

**Methods:** In the present cross-sectional study which was conducted within six months, 100 broiler carcasses were randomly collected from Ahvaz slaughterhouses. Then by using ice, the carcasses were transported to the laboratory in less than 24 hours in order to illicit the amount of furazolidone drug by the HPLC method. After extraction and degrading processes, using Ethyl-acetate and related protocols for isolation of Furazolidone from muscles, and also calibrating HPLC system to obtain standard curves, the amount of 20 microliters of each sample was injected to the HPLC device and the amounts of Furazolidone were determined in the mixture of pectoral and femoral muscles. Finally the obtained results were statistically analysed by using one sample t-test in the SPSS software.

**Results:** The mean Furazolidone concentration in the mixture of femoral and thoracic muscles was  $28.15 \pm 2.37$  mg/kg. Thirty-nine percent of the samples were positive for containing illegal Furazolidone residue.

**Conclusion:** According to the results of the current study, more attention is seriously recommended by authorized responsibilities to prevent the antibiotic residues such as furazolidone in poultry meat.

**Key words:** Broiler muscles, Furazolidone, HPLC

---

\* **Corresponding Author:** Fazlara A, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran  
**Email:** a.fazlara@scu.ac.ir