

水产品中有害残留物的研究与进展

Research Advances in the Harmful Residue of Aquatic Products

张卫佳 曾剑超 蒋其斌

(西华大学生物工程学院 四川成都 610039)

摘要: 本文主要介绍了水产品中孔雀石绿、河豚毒素等有害残留物的性质、毒性及其检测方法等方面的研究情况,并阐述了水产品病害防治的新型措施。意在为我国水产品的质量和安全性的进一步提高提供一些相关信息和理论参考。

关键词: 残留物 毒性 检测 无公害

中图分类号: TS207.3 文献标识码: A

文章编号: 1001-8123 (2007)11-0039-03

1 孔雀石绿的研究

1.1 孔雀石绿的简介

孔雀石绿(Malachite Green, LG), 分子式为 $C_{23}H_{25}ClN_2$, 分子量为 364.92, 别名品绿盐基块绿、碱性绿、苯胺绿, 为金属光泽的深绿色结晶状固体, 因外观颜色为孔雀的绿色而得名。极易溶于水和酒精, 呈弱碱性。孔雀石绿是由苯甲醛和 N, N-二甲苯胺在浓硫酸或氯化锌存在的条件下缩合生成四甲基代二氨基三苯甲烷的隐性碱体后, 在酸介质中被二氧化铅氧化制得。孔雀石绿电离常数(pK)为 6.90。当 pH=4.0 时, 电离完全, pH=6.9 时, 电离 50%, 当 pH=7.4 时, 电离 25%, 当 pH=10.1 时, 则无电离现象。它常见的商品名称是碱性绿、盐基块绿、孔雀绿等。

1.2 性质和应用

从代谢方面讲, 孔雀石绿进入人类或动物机体后, 可以通过生物转化, 还原代谢成脂溶性的无

色孔雀石绿, 又称隐性孔雀石绿(Leueomalachite Green, LMG)。这种物质有致突变、致畸和致癌的危险, 并能在鱼体内长时间残留。人食用鱼肉后会富积在体内, 会产生极大的危害。

就其毒性而言, 孔雀石绿和无色孔雀石绿的致基因突变试验结果均为阳性。给予大鼠、小鼠孔雀石绿 28d 后, 其肝脏可检出 DNA 加合物, 并可诱发仓鼠卵细胞染色体损伤。试验发现, 孔雀石绿还能引起动物肝、肾、心脏、脾、肺、眼睛等器官和组织中毒。孔雀石绿对妊娠兔子有致畸作用。孔雀石绿会引起水产动物的消化道、鳃及皮肤轻度发炎, 妨碍肠道的胰蛋白酶、淀粉酶等的作用, 引起带卵黄囊的鱼苗发生畸型, 并有致癌的副作用。

孔雀石绿分工业用和试剂用两大类。工业用孔雀石绿价值低廉, 但含有金属化合物; 试剂用孔雀石绿中有草酸盐、硫酸盐、盐酸盐和氯化锌复盐 4 种, 其中氯化锌复盐($3C_{23}H_{25}ClN_2 \cdot 2ZnCl_2 \cdot 2H_{20}$)为黄铜色棱形结晶, 以染料盐和甲醇或假碱两种离子形式存在, 易溶于水, 还有很强的脂溶性可以进入细胞, 毒性最强。

孔雀石绿以前主要应用于制陶、印染、皮革、食品染色、生物染色等方面, 1930 年时, R. Schnick 发现其对水产动物具有较好的药用作用后, 主要用于水产养殖中的水霉病和对生物原虫的控制, 是药用染料中抗菌效力较强的一类。后曾作为驱虫剂、杀菌剂、防腐剂被广泛用于预防与治疗各类水产动物的小瓜虫病、水霉病和鳃霉病等, 一些国

家还用于控制细菌、绦虫、线虫和吸虫等。

目前,孔雀石绿也作为一种消毒剂被广泛应用。鱼池消毒:从鱼塘到批发市场,再到外地批发市场,经过多次装卸,容易使鱼鳞脱落。掉鳞会引起鱼体霉烂,引起鱼很快死亡,因此鱼池内放置孔雀石绿进行消毒。运输工具消毒:活鱼贩运商为了延长鱼生存的时间,在运输前用孔雀石绿溶液对车厢进行消毒。暂养消毒:酒店为了延长鱼的存活时间,也投放孔雀石绿进行消毒。使用孔雀石绿消毒后的鱼即使死亡后颜色也较为鲜亮,消费者难以从外表分辨。

1.3 检测与防治

1.3.1 高效液相色谱法

高效液相色谱法(HPLC)可以检测生物体内及其他复杂基质中的孔雀石绿和无色孔雀石绿(如饲料原料、化工原料等),大体可分为两类:一种是利用间接的方法来测定,方法较繁琐,已经很少应用。现在普遍使用的另一种方法是利用衍生柱(填充二氧化铅)同时测定两种物质。其基本原理是:无色孔雀石绿和孔雀石绿的保留时间不同,无色孔雀石绿从分析柱洗脱后再经过衍生柱(填充二氧化铅),在二氧化铅的作用下氧化成孔雀石绿,这样利用紫外检测器对孔雀石绿和无色孔雀石绿都可以检测。另外,也可将孔雀石绿先还原成无色孔雀石绿,利用无色孔雀石绿能产生荧光的性质进行测定,此方法的特点是灵敏度较高,但测定的是孔雀石绿的总量,无法分别定量孔雀石绿和无色孔雀石绿。

高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS-MS)是近年来发展起来的新的检测技术,其与液相色谱法不同的是:使用三重四极杆质谱或离子阱质谱作为检测器,代替高效液相色谱的紫外检测器,该方法兼具定性功能、灵敏度高,但仪器价格昂贵。

1.3.2 其他检测方法

除高效液相色谱法外,还可采用的检测方法有薄层色谱法(Edelhaeuser et al),普通分光光度法(Safarik et al)。薄层色谱法虽然具有简便快速的特点,但是不能同时检测孔雀石绿的代谢物无色孔雀石绿。分光光度法:普通分光光度法检测限较高,灵敏度较低,准确性较差,也不能用于代谢物无色孔雀石绿的检测,且仅局限于水样的检测,尚未见该方法在复杂样品基质中的应用,仅可用于孔雀石绿原料药等的测定。

1.3.3 防治与监控

由于孔雀石绿及其代谢物无色孔雀石绿有致突变、致畸和致癌的危险性,具有高毒素、高残留的特点,近十年来国际上以禁止使用孔雀石绿。

加拿大于1992年就禁止其作为渔场杀菌剂。加拿大和美国均规定在食用水产品中检出孔雀石绿和无色孔雀石绿。欧盟于2002年6月也已立法禁止在渔场中使用孔雀石绿。

我国对水产品中孔雀石绿的监控最早开始于2001年,中华人民共和国农业行业标准(NY5071-2001《无公害食品渔用药物使用准则》)将包括孔雀石绿在内的5种渔用药物列为禁用药物,2002年5月将孔雀石绿列入《食品动物禁用的兽药及其化合物清单》中,禁止用于所有食用动物。然而由于孔雀石绿抗菌效果较好,价格低廉,宣传力度不够,我国很多地方孔雀石绿仍在被使用。2005年6月,河南、湖北等地的水产养殖业和水产品贩运中使用孔雀石绿的情况被媒体曝光后,引起了国内外的广泛重视,我国出口的鲜活水产品一时遭到多个国家的禁入。针对这一情况,农业部办公厅于2005年7月发出了《关于组织查处“孔雀石绿”等禁用兽药的紧急通知》,在全国范围内严查违法经营、使用“孔雀石绿”的行为;2005年8月,国家质检总局也在全国范围内进行针对孔雀石绿的专项抽查,先后对鲜活水产品、淡水产品、淡水产品制品进行抽检。

2 河豚毒素的研究

2.1 河豚毒素的性质

河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)分子式为 $C_{11}H_{17}N_3O_8$,分子量为319.27,含有1个碳环,1个胍基,6个羟基,是一种氨基全氢喹唑型化合物,以半缩醛形式存在。该物质是自然界非蛋白质小分子天然毒素中毒力最强烈的一种神经毒素,毒力比氰化钠强1250倍。TTX的化学性质稳定,一般的烹饪手段难以完全破坏,中毒后又缺乏特效的解毒药或抗毒血清,但由于河豚肉味鲜美,我国沿海人民都有食用的习惯,TTX中毒事件频繁发生,已经成为严重的食品卫生问题。近年来的研究表明,河豚毒素并非河豚所独有,它是由多种嗜盐海洋细菌产生,广泛分布在多种海洋脊椎、无脊椎动物中,如平渦、日本东风螺、云斑裸颊虾虎鱼等。

因此,检测水产品中河豚毒素的方法一直以来水产品研究热点。

2.2 检测和检疫方法

河豚毒素的检测方法有生物测定法、理化检测方法、免疫化学测定方法等几大类。其中小鼠生物法是现行的标准检测法。该方法虽然灵敏度能满足要求,但不能对毒素定性,且小鼠个体差异较大,检测结果误差大。采用高效液相色谱法检测水产品中河豚毒素就能很好的解决毒素的定性和定量问题。将小白鼠生物法与高效液相色谱法配合使用,将大大提高检测结果的准确性和可靠性,对于水产行业主管部门监控水产品中河豚毒素的分布情况有重要的意义。

目前,利用高效液相色谱对河豚毒素进行检测的方法主要有:液相色谱紫外检测法、柱后衍生液相色谱检测法和液相色谱-质谱联用检测法。液相色谱紫外检测法是国内学者普遍采用的方法,利用紫外检测器在190~230nm的波长区域上对河豚毒素进行检测。该方法检测灵敏度低、对样品前处理要求高、处理时间长、过程复杂,在样品中河豚毒素含量较低的情况下,极易产生假阳性。采用柱后衍生液相色谱检测法和液相色谱-质谱联用检测法,可极大提高检测的灵敏度,以及定性的准确性,但需要在线柱后衍生系统和昂贵的质谱仪。目前,后两种河豚毒素的液相色谱检测法在国内至今尚未见报道。

3 其他残留物

氯霉素(chloramphenicol, CAP)、甲砒霉素(thiamphenicol, TAP)和氟甲砒霉素(flufenicol, FF)同属于氯霉素类药物。这类药物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有较强的抑制作用。但氯霉素对人体有严重的毒副作用,许多国家包括我国已禁止在动物源食品上使用。甲砒霉素由于其可能存在副作用,加拿大也已禁止使用,氟甲砒霉素与甲砒霉素的结构相似,但具有更强的抗菌活性,而且毒性也较小,因此氟甲砒霉素被广泛应用在防治动物的细菌性疾病上。欧盟已经规定了氯霉素的最低检测限为0.1 μ g/kg,同时也规定了甲砒霉素和氟甲砒霉素的最高残留限量,分别为50 μ g/kg和100 μ g/kg。本研究以尼罗罗非鱼和南美白对虾为检测对象,建立同时测定水产品中氯霉素、氟甲

砒霉素和甲砒霉素残留量的毛细管电子捕获气相色谱(GC-ECD)法,为完善我国水产品的质量保证体系打下了坚实的基础。

4 无公害水产品病害防治的进展

现在,我国广大养殖户已经开始将中草药用于无公害水产品病害的防治。一类为抗细菌中草药,黄芩,又名山茶根,多年生草本植物。以根入药。可防治打印病、败血病、烂鳃病、肠炎等。乌柏,又名子树、柏树;以果、叶入药。可防治细菌性烂鳃病、白头白嘴病等。五倍子,又名百药煎、白虫仓,为漆树科漆树属植物盐肤木、青麸杨或红麸杨等的叶或叶柄,用受五倍子蚜虫的刺伤而生成的囊状虫瘿;可防治白头白嘴病、白皮病、赤皮病、疥疮病等。大叶桉,又名蚊仔树。以叶入药,可防治细菌性烂鳃、肠炎等病。大黄,又名锦纹、黄良,以根、茎入药;可防治细菌性肠炎、细菌性烂鳃、白头白嘴等病。一类为抗真菌中草药,主要是苦参,又名苦骨、地槐、野槐、川参等,灌木;以根入药。可防治肤霉病、鳃霉病等。还有抗病毒的中草药,包括菊花、黄柏、板蓝根等。驱赶虫中草药,主要为苦楝皮,以根皮入药;用于防治寄生虫,如锚头蚤、车轮虫、隐鞭虫、毛细线虫等。

参考文献

- [1] 沈宝渊, 林上军. 剖析水产加工企业的效益“软肋”[N]. 舟山日报, 2004-10-26.
- [2] 黄德明. 浅谈舟山水产加工业现状、发展目标及对策[M]. 北京: 天津出版社, 2003.
- [3] 林洪等. 渔药孔雀石绿及其关联化合物检测方法研究进展. 海洋水产研究, 2005, 26(2): 92~95.
- [4] 戴先礼, 肖国平. 食品中药物残留的危害及控制. 动物科学与动物医学, 2003, 20(4): 1~3.
- [5] 加强动物性食品安全的研究刻不容缓. 中国科学基金, 2002, 16(4): 223~226.
- [6] Aldert, A., Bergwerff, Raoul, V.K.. Persistence of residues of malachite green in juvenile eels (*Anguilla anguilla*). Aquaculture, 2004, 233: 55~63.
- [7] Beland. Toxicity and metabolism of malachite green and leucomalachite green during short-term feeding to Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. Chemico-Biological Interactions, 1999, 122: 153~170.