

- [J]. 中国食品卫生杂志, 2009, 21(3): 285-287.
- [4] 卫生部办公厅关于2009年全国食物中毒事件的通报[J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(2): 190-193.
- [5] 卫生部办公厅关于2010年全国食物中毒报告情况的通报[EB/OL]. [2011-03-02]. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohwsyjbg/s8354/201103/50797.htm>.
- [6] Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 2006 [J]. MMWR, 2009, 58(22): 609-615.
- [7] Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 2007 [J]. MMWR, 2010, 59(31): 973-979.
- [8] Outbreaknet foodborne outbreak online database [EB/OL]. [2011-07-05]. <http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/default.aspx>.

调查研究

市售淡水鱼中孔雀石绿及其代谢物残留量的调查研究

华永有, 邱文倩, 周亮, 吕华东, 郑奎城, 黄宏南, 林宏琳, 傅武胜
(福建省疾病预防控制中心, 福建 福州 350001)

摘要:目的 了解福建省餐饮环节淡水鱼孔雀石绿(MG)及其代谢物无色孔雀石绿(LMG)的残留情况。方法 207份样品来自福建省6个市有关餐饮场所,共28个品种,制作为鱼肉浆,经前处理后,采用高效液相色谱/荧光法对鱼肉浆中孔雀石绿及其代谢物的残留总量进行检测,阳性样品再用高效液相色谱/质谱法确证。结果 15个品种的48份样品检出孔雀石绿及其代谢物,检出率为23.2%,总MG含量在0.54~8.099 μg/kg之间。桂花鱼检出率最高,达到92.9%(26/28),草鱼检出率较低,为2.38%(2/84)。结论 餐饮环节销售的淡水鱼孔雀石绿及其代谢物的检出率相对较高,在某些品种淡水鱼供应链中滥用MG的现象较为突出,需要有关监管部门加大打击滥用MG的力度,确保淡水鱼的消费安全。

关键词: 淡水鱼; 孔雀石绿; 兽药残留; 食品安全

中图分类号: S948 文献标识码: C 文章编号: 1004-8456(2011)06-0563-04

Monitoring malachite green and its metabolites leucomalachite green in retailed freshwater fish

Hua Yongyou, Qiu Wenqian, Zhou Liang, Lu Huadong, Zheng Kuicheng, Huang Hongnan,
Lin Honglin, Fu Wusheng

(Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fujian Fuzhou 350001, China)

Abstract: Objective To monitor and assess the residues of malachite green (MG) and its metabolites leucomalachite green (LMG) in freshwater fish. **Methods** Twenty eight kinds of 207 fish samples were collected from retailers in six cities of Fujian Province. After samples being homogenized and pre-treated, the concentration of total MG in samples was quantified by high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with fluorescence detector. The positive samples analyzed by HPLC were confirmed by HPLC-mass spectrometer (LC/MS/MS). **Results** The detection rate of MG was 23.2% (48/207) with levels ranged from 0.54 to 8.099 μg/kg in samples. MG was detected in 92.9% (26/28) of Chinese perch and in 2.38% of grass carp. **Conclusion** The detection rate of MG in freshwater fish sold in Fujian markets was relatively high, especially in Chinese perch. It is indicated that the illegal application of MG in supply chains for freshwater fish may be relatively serious. Strengthening surveillance and regulation for attacking illegal application of MG should be promoted to ensure the safety of consuming freshwater fish.

Key words: Freshwater fish; malachite green; residues of veterinary drugs; food safety

收稿日期: 2011-01-26

基金项目: 国家卫生公益性行业专项课题(200902009)

作者简介: 华永有 男 主管技师 研究方向为食品卫生检验 E-mail: huayyfj@qq.com

通信作者: 傅武胜 男 副主任技师 研究方向为污染物化学与风险评估

孔雀石绿(malachite green, MG) 化学名为四甲基代二氨基三苯甲烷, 别名碱性绿、孔雀绿, 为翠绿色有光泽的结晶体, 属三苯甲烷类染料, 易溶于水、乙醇和甲醇, 水溶液呈蓝绿色。MG 的主要代谢产物为无色孔雀石绿(LMG), 无色孔雀石绿由于其不溶于水, 残留毒性比孔雀石绿更强。上世纪90年代开始, 发现MG及其代谢物LMG残留时间长, MG过去常被用于制陶业、纺织业、皮革业、食品颜色剂和细胞化学染色剂, 1933年起其作为驱虫剂、杀虫剂、防腐剂在水产养殖业中使用, 后曾被广泛用于预防与治疗各类水产动物的水霉病、具有致癌、致畸和致突变等毒性^[1], 因此在美国、日本、英国等许多国家已禁止将MG用于水产养殖业, 我国农业部也于2002年将其列入《食品动物禁用的兽药及其化合物清单》。为了解福建省餐饮环节淡水鱼中是否存在孔雀石绿及其代谢物, 对福建省售淡水鱼进行了调查。

1 材料与方法

1.1 样品的采集及来源

207份(28种)淡水鱼样品采集自福建省福州、三明、泉州、长乐、晋江、福清6个市的158家不同规模的餐馆, 由当地卫生监督所负责采集。每个餐馆采集的鱼种不重复, 采集时均为鲜活状态, 且每份样品采样量 ≥ 500 g, 采集后速冻送实验室。淡水鱼样品大部分产自当地, 部分产自广州、江西、浙江、湖北等地。

1.2 仪器设备与试剂

1.2.1 仪器设备

Finnigan LCQ deca plus LC/MS 液相色谱/质谱联用仪(美国ThermoFisher公司); 2695型高效液相色谱仪(配Waters2475荧光检测器, 美国Waters公司); 振荡器; 旋转蒸发器; 固相萃取装置(美国Phenomenex); 匀浆机等。

1.2.2 试剂材料

乙腈和二氯甲烷(均为色谱纯); 乙酸铵、盐酸羟胺、硼氢化钾、对甲苯磺酸和二甘醇均为分析纯; 酸性氧化铝(100~200目), PRS 阳离子交换柱(500mg/3ml, Varian公司), 酸性氧化铝小柱(500mg/3ml, Bsep公司)。

MG标准溶液的配制: 准确称取适量的MG标准品(含量为90.0%, 德国Dr. Ehrenstorfer GmbH公司), 用乙腈配成浓度为100 μ g/ml的标准贮备液, 用乙腈进一步稀释配成含MG为20ng/ml的标准溶液, 该标准溶液在-18 $^{\circ}$ C保存。再分别吸取一定量的标准溶液加入硼氢化钾, 转化为LMG标准系

列(以MG计算)。

1.3 检测方法

1.3.1 HPLC 定量

采用GB/T 20361—2006《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定, 高效液相色谱荧光检测法》^[2]进行检测。色谱条件: 色谱柱 Waters Symmetry[®] C₁₈柱(250mm \times 4.6mm, 5 μ m); 柱温35 $^{\circ}$ C; 流动相乙腈+乙酸铵缓冲溶液(0.125mol/L, pH4.5)(75+25); 流速1.0ml/min; 激发波长(*E_x*)265nm; 发射波长(*E_m*)350nm, 外标法峰面积定量。在该条件下测定的是LMG, 最终结果以MG总残留量计算。方法的检出限为0.5 μ g/kg, 在草鱼、鳊鱼等样品中分别加入MG, 按以上方法测定, 回收率在50%~70%之间, 相对标准偏差(RSD)低于15%。

1.3.2 质谱确证

对HPLC法检出的MG阳性样品, 以LMG的*m/z* 331/316、331/239作为定性确证离子, 按照GB/T 19857—2005《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》^[3]中的LC/MS/MS方法作进一步确证, 防止假阳性。

1.3.3 质量控制

在鱼样的前处理过程中, 清洗好前处理设备, 防止交叉污染。每批次样品中加入空白对照和加标回收, 当空白对照LMG含量 $>$ LOQ, 或回收率超出50%~110%范围时, 则对该批次样品重新分析。被测溶液浓度若超过线性范围, 则将溶液稀释后再测定。

2 结果

2.1 淡水鱼MG检出的总体状况

欧盟法案2002/675/EC^[4]规定, 动物源性食品中MG和LMG残留总量不得超过2 μ g/kg, 如果参照欧盟的规定判定, 本次调查的淡水鱼MG超标率为12.56%(26/207)。而我国和日本肯定列表规定食品动物MG“不得检出”, 按照超过方法检出限(0.5 μ g/kg)即为“检出”进行判定, 在抽检的207份样本中, 检出MG的样本48份, 检出率为23.18%。为了保证所获得的数据的可信性和可比性, 掌握食品污染更实际的概貌, 为决策机构提供正确信息, 依据全球环境检测规划/食品-欧洲(GEMS/FOOD-URO)第二次会议“食品低水平污染的可信评价”中提出的“推荐”^[5]意见, 对样品中MG含量进行统计(见表1), MG含量的算术均值与中位数及几何均数差异较大, 而几何均数与中位数较为接近, 说明少数浓度高的样品对算术均值的贡献较大, 导致算术均值偏高。

表1 样品中孔雀石绿含量的分布情况

Table 1 The distribution of malachite green in samples

含量范围($\mu\text{g}/\text{kg}$)	>100	10~100	2~10	1~2.0	0.5~1.0	<0.5
频数	11	8	7	16	6	159
百分比, %	5.31	3.86	3.38	7.73	2.90	76.81
累计百分比, %	5.31	9.17	12.55	20.28	23.18	100
算术均值				15.07 ^① , 15.45 ^②		
几何均值				— ^① 0.96 ^②		
中位数				0 ^① 0.5 ^②		

注: 1. 低于检出限的样本按“0”来计算算术均值、几何均值及中位数。

2. 低于检出限的样本按检出限“0.5”来计算算术均值、几何均值及中位数。

2.2 鱼种间 MG 检出的差异

在鲫鱼(10份)、白刀鱼(4份)、生鱼(3份)、武昌鱼(3份)、跳鱼(2份)、扁鲳(2份)、螭虎鱼(1份)、香鱼(1份)、田鱼(1份)、淡水斑鱼(1份)、大头鲢鱼(1份)、马匀鱼(1份)和乌鱼(3份)等共13个鱼种的33份样本中未检出MG。在15个鱼种的48份样品中检出MG,其中桂花鱼MG的检出率高达92.9%(表2),草鲮鱼、河鳢、鲤鱼MG检出率也较高,草鱼MG检出率最低(2.4% 2/84)。

表2 各淡水鱼种 MG 检出情况的对比

Table 2 The detection rate of MG in various species of freshwater fish

鱼种	数量	阳性份数	检出率 (%)	检出范围 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	均值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
草鱼	84	2	2.4	0.63~1.61	0.03
桂花鱼	28	26	92.9	1.08~576.00	65.30
草鲮鱼	11	4	36.4	1.58~392.00	53.90
河鳢	9	2	22.2	0.62~5.60	0.69
鲤鱼	12	2	16.7	1.99~241.00	30.40
中华鲟	3	2	-	0.97~17.10	9.04
鲟鱼	2	2	-	5019~8099	6599
白鲫鱼	10	1	10.0	1.06	0.11
鲈鱼	4	1	25.0	1.38	0.14
彩云雕	4	1	25.0	0.54	0.18
梅鱼	2	1	-	1.16	-
鳊鱼	2	1	-	0.92	-
宽鱼	1	1	-	0.87	-
黄骨鱼	1	1	-	4.12	-
丁桂鱼	1	1	-	1.13	-

3 讨论与建议

3.1 检测方法

MG检测方法较多^[6],适宜于基层检测机构的有高效液相色谱法、酶联免疫法(ELISA)。采用酶联免疫试剂盒检测水产品中孔雀石绿的特点是:检测速度快,2~3h就可检测一批样品;灵敏度高,在鱼、虾中检测灵敏度可达到0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法特别适合大批量样品的筛选。虽然ELISA法的抗原和抗体结合有较强的选择性,但水产品的种类繁多,基质复杂,检测结果的假阳性率高。另外,目前还没有用酶联免疫试剂盒检测孔雀石绿的标准,采

用该方法出具的检测结果目前还不具备法律效力。

选用配备荧光检测器的高压液相色谱法,在样品前处理过程中加入硼氢化钾,将孔雀石绿还原成无色孔雀石绿,荧光检测器定量检测。该方法利用了无色孔雀石绿的荧光特性和荧光检测器的高灵敏度和选择性,有效地提高了检测的灵敏度,使检测限达到0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该法可用于对目标物定量分析,但不能对检测结果给出可靠的定性结果,存在假阳性风险。同时该法对样品前处理要求较高,回收率结果偏低。本研究在每个批次均进行加标回收试验,但是由于基质复杂,前处理过程步骤多,使整体回收率水平在50%~70%之间。在HPLC法检出的58份阳性样品中,通过LC-MS/MS确证后,发现10份样品为假阳性,占17.2%。以液相色谱质谱联用检测孔雀石绿,通过质谱的高选择性,可进一步提高检测结果定性、定量的准确性和灵敏度;另外,以质谱为检测器,可以用氘代孔雀石绿和氘代无色孔雀石绿为内标,应用内标法检测,降低由于前处理过程中目标化合物的损失所带来的定量结果的偏差,提高定量的准确性。制定一种简单、准确的检测方法是MG监管过程中非常重要的一环,以液相色谱串联质谱联用的检测方法最为理想,其灵敏度高、定性能力强、定量准确。但该设备价格昂贵,不易推广。本研究采用高效液相色谱(HPLC)进行初筛,对于阳性样品再进行质谱确证,目前基层检测机构配备HPLC的较多,可参考本研究模式,由基层用HPLC对水产品进行日常的监督监测,阳性样本再送相关单位进行鉴定,以加强对孔雀石绿的监管。

3.2 调查结果

本次调查的样品量为207份,来自全省6个地区的158个餐馆,具有代表性,可以反映全省餐饮环节淡水鱼的消费情况。我国早在2002年就禁止在养殖中使用MG,2005、2006年“孔雀石绿事件”发生后,也曾对其进行了专项整治^[7],但在本次调查的28种鱼中,15种鱼检出MG,占抽检总鱼种的51.7%。在207份样品中,48份样品检出MG残留,检出率高达23.2%,明显高于文献[8-9]报道的

10.2% (2007年)和8.3% (2008年)。可以看出市售淡水鱼MG污染严重,水产养殖中滥用MG的现象仍然存在,且在个别鱼种中比较严重,如桂花鱼中MG的检出率高达92.9%,这与2006年“孔雀石绿事件”中报道的检出率基本一致^[10],说明桂花鱼产业链中使用MG的现象在近年内未得到改善。本次检测结果显示,鱼种之间检出差异较大,同类鱼间结果含量跨度也较大,高低之间相差数百倍,如两份鲶鱼中的MG含量最高,均超过5 mg/kg,这可能与鱼种之间生活习性的差异、对孔雀石绿的吸收情况、水霉病、鳃霉病和小瓜虫病等疾病的易感程度、严重程度及孔雀石绿的使用情况等多种因素有关,具体原因有待于进一步调查研究。

3.3 监管建议

MG用途较广,水产品MG残留可能因为养殖、运输、批发、销售等单个或者多个过程MG的非法添加和使用。本调查对同一餐饮场所的养殖水和桂花鱼进行了MG分析,鱼肌肉中普遍检出MG,但暂养殖水均未检出MG,因此餐饮场所人为使用MG以延长存货活鱼存活期的可能性较少。对于运输过程和原始养殖过程的水产品MG的非法添加和使用状况的监测及控制,需要其他相关监管部门,尤其是工商和水产渔业部门加强对这些环节的管理和把关,防止任何一个环节出现问题。可建立水产品市场的准入制度,经常对水产品进行有效的检测监控,防止不合格的水产品流入市场。同时加强对养殖户、鱼贩的宣传,教育其从长远利益考虑自觉停止MG的滥用。研制治疗鱼类水霉病的其他高效

无毒无残留药物来替代MG,从而在源头上杜绝MG的使用,也是一个值得期待的解决食品中MG污染的方法。

参考文献

- [1] 李孝军,唐行忠,王素华,等.水产品中孔雀石绿残留的风险评估[S].检验检疫学刊,2009,19(3):62-65.
- [2] 中国水产科学研究院,农业部渔业环境及水产品质量监督检验检疫测试中心(舟山),国家水产品质量监督检验检疫测试中心,等. GB/T 20361—2006 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 高效液相色谱荧光检测法[S].北京:中国标准出版社,2006.
- [3] 中华人民共和国上海出入境检验检疫局. GB/T 19857—2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定[S].北京:中国标准出版社,2005.
- [4] Commission of the European Communities. Commission Decision 2002/675/EC. Implementin Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results[S]. 2002-08-17.
- [5] 王绪卿,吴永宁,陈君石.食品污染监测低水平数据处理问题[J].中华预防医学杂志,2002,36(4):278-279.
- [6] 刘海新,张农,钱卓真.水产品中孔雀石绿检测方法研究进展[J].福建水产,2007(1):41-45.
- [7] 致畸致癌突变,全国各地严查“孔雀石绿”[EB/OL]. [2005-07-15]. <http://www.tech-food.com/news/2005-7-15/n0039927.htm>.
- [8] 王丽玲,冯翠霞,胡尔萍,等.珠海市餐厅池养水产品中孔雀石绿残留量的调查[J].中国卫生检验杂志,2007(9):1687-1689.
- [9] 彭升友,张垒.宁波市淡水鱼及蟹类水产品孔雀石绿检测分析[J].海峡预防医学杂志,2008:60-61.
- [10] 桂花鱼香港检出致癌孔雀石绿[EB/OL]. [2006-11-27]. <http://www.tech-food.com/news/2006-11-27/n0083658.htm>.

公告栏

关于发布食品安全国家标准《预包装食品营养标签通则》的公告

2011年第24号

根据《中华人民共和国食品安全法》和《食品安全国家标准管理办法》的规定,经食品安全国家标准审评委员会审查通过,现发布食品安全国家标准《预包装食品营养标签通则》(GB 28050—2011)。

特此公告。

预包装食品营养标签通则(略)

卫生部

二〇一一年十月十二日