

# 养殖河豚鱼毒素的研究

李云峰, 马晨晨\*

(上海海洋大学食品学院 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306)

**摘要:** **目的** 探讨养殖河豚鱼可食用性。**方法** 对养殖河豚鱼的食用安全进行研究, 提取河豚鱼的肝脏、肌肉、血液、性腺为研究对象, 用液相色谱法测定河豚毒素 (tetrodotoxin, TTX) 的含量。**结果** 养殖河豚鱼(红鳍东方豚、暗纹东方豚、菊黄东方豚、黄鳍东方豚) 肝脏、血液无毒或弱毒, 肌肉无毒。**结论** 养殖河豚鱼可作为食用鱼种, 而野生的暗纹东方豚均有剧毒, 不可食用。

**关键词:** 河豚鱼; 养殖; 野生; 河豚毒素

## Research on tetrodotoxin of breeding globefish fish

LI Yun-Feng, MA Chen-Chen\*

(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Protect Processing & Preservation, Shanghai 201306, China)

**ABSTRACT: Objective** To explore the edible safety of breeding globefish fish. **Methods** The tetrodotoxin (TTX) content in the liver, muscle, blood, and gonads of puffer fish was determined by liquid chromatography. **Results** The liver and blood of the breeding (rubripes Fugu, Takifugu dolphin, daisy yellow Fugu, yellow fin Fugu) showed non-toxic or little toxic, and muscle showed non-toxic. **Conclusion** The puffer fish can be used as edible species. However, wild Takifugu dolphin has highly toxicity, so it is inedible.

**KEY WORDS:** puffer fish; farm; wild; tetrodotoxin

河豚鱼又名气泡鱼, 是一种有毒的鱼类, 也是国家有关条例禁止食用的鱼种之一<sup>[1]</sup>。随着市场经济的发展及对河豚鱼认识的加深, 有的河豚鱼种在一定的条件下是可以开发食用的。我国的养殖河豚鱼资源比较丰富, 以养殖红鳍东方鲀为例, 我国每年的产量在 5000 吨以上<sup>[2]</sup>。由于河豚肉质鲜美, 沿海人民都有食用的习惯, 但河豚鱼中的河豚毒素有剧毒, 因此我国每年因食河豚鱼引起的食物中毒死亡事件常有发生, 引起人类中毒的就是河豚毒素(tetrodotoxin,

TTX), 河豚毒素分子式为  $C_{11}H_{17}N_3O_8$ , 分子量为 319.27, 通常以两性离子的形式存在。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神经毒素之一, 毒力比氰化钠强 1250 倍<sup>[3-6]</sup>。

虽然河豚鱼在我国禁止食用, 但因其味道鲜美, 人们生活水平的提高, 所以河豚鱼每年的需求量也每年打增加, 民间也有“拼死吃河豚”的说法。近年来, 因野生河豚鱼毒性大, 可利用资源急剧减少, 所以人工养殖河豚鱼的数量便逐渐增多, 另外养殖

基金项目: 上海市科委工程中心建设项目(11DZ2280300)

**Fund:** Supported by Shanghai Science and Technology Engineering Center Project (11DZ2280300)

\*通讯作者: 马晨晨, 硕士, 初级实验师, 主要研究方向为食品生物技术。E-mail: ccma@shou.edu.cn

\*Corresponding author: MA Chen-Chen, Master, Laboratory Assistant, College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, No. 999, Hucheng Huan Road, Pudong District, Shanghai 201306, China. E-mail: ccma@shou.edu.cn

的河豚鱼的毒性小,同时也具备味道鲜美,营养价值高的特点而受到人们的欢迎。另外经研究表明:养殖河豚鱼肌肉的蛋白含量高,粗脂肪含量低,富含多种必须氨基酸、常量及微量元素等,是补充人体营养物质的理想食品来源<sup>[7-8]</sup>。

河豚毒素的检测方法种类繁多,有生物测定法、色谱测定法、色谱质谱检测法、荧光法<sup>[9-11]</sup>。色谱测定法中的高效液相色谱法是目前最为成熟的技术之一,它具有分离效率高、分析速度快、灵敏度高等特点,本研究采用紫外检测器直接测定 TTX 含量,此方法操作简单、快速、准确<sup>[12-14]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

河豚鱼由全国主要河豚鱼养殖产地进行采集。从河北省秦皇岛市采集红鳍东方豚和菊黄东方豚、辽宁省丹东市采集红鳍东方豚、浙江省和江苏省采集暗纹东方豚和黄鳍东方豚。根据各种河豚鱼地区和季节洄游情况,确定每个季节[春季(3~5月),夏季(6~8月),秋季(9~11月),冬季(12~2月)]各采样1次,尽可能采集不同鱼种。采集的标本由专人在冷藏条件下送实验室检验。调查中共得河豚鱼标本87条(野生暗纹东方豚2条),对其中62条分别进行肝、血、肌肉、性腺的毒素提取及含量测定。

河豚毒素(TTX)标准品,由河北省水产研究所提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 河豚鱼生物学鉴定方法

①测量鱼体长度,自吻端至尾椎骨末端的长度;②测定鱼体总重量;③测定性腺重量,即卵巢和精巢的重量;④观察鱼体的体色、斑点(位置)、条纹(条数)、皮刺等形态学特征,鉴别鱼的种类。

#### 1.2.2 毒素提取方法

取肌肉、肝脏10g,切碎匀浆,再分别取5g,每次加入pH4的磷酸溶液25mL,洗涤3次,8000r/min离心15min,合并3次离心上清液,真空减压浓缩至10mL,固相萃取,用pH4磷酸溶液进行洗脱,定容至50mL。取血液5mL,离心(10000r/min15min),提取血清,用磷酸溶液定容至50mL,调节酸碱度至pH4。

#### 1.2.3 标准曲线的绘制

流动相:水:乙腈(85:15,v/v),磷酸酸碱度调节至pH4;紫外检测;检测波长:190nm;流速0.7mL/min,温度:27℃,进样体积20μL。将1mgTTX标准品溶于10mL流动相,分别吸取0.25、0.50、1.00、2.00和4.00mL置于10mL容量瓶中,用流动相定容。

#### 1.2.4 毒性的评价指标

TTX <10 Mu/g 为无毒, TTX <100 Mu/g 为弱毒, TTX <1000 Mu/g 为强毒, TTX >1000 Mu/g 剧毒(1 Mu/g=0.22 μg)

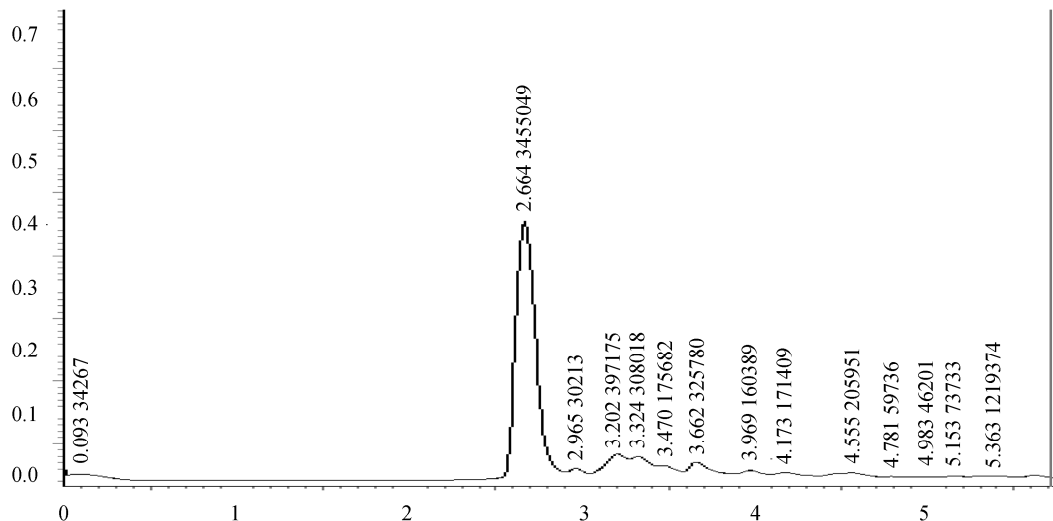


图1 TTX液相色谱图

Fig. 1 Liquid chromatogram of TTX

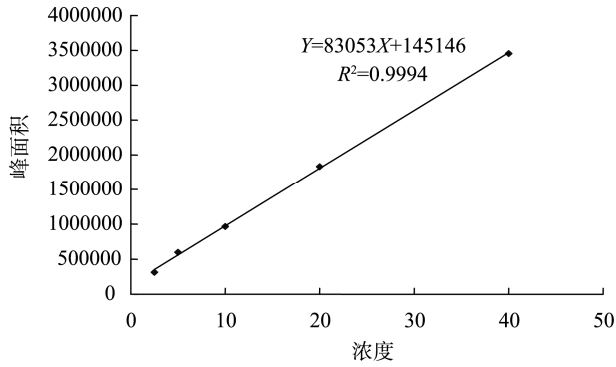


图 2 TTX 标准曲线

Fig. 2 Standard curve of TTX

## 2 结果与分析

### 2.1 河豚鱼生物学鉴定参数

表 1 为所采购河豚鱼各类生物学鉴定参数, 其中一般性成熟个体生殖腺重占体重可达 25~30%。

### 2.2 检测结果

如表 2 所示, 养殖河豚鱼(红鳍东方豚、暗纹东方豚、菊黄东方豚、黄鳍东方豚)肝脏、血液无毒或弱毒, 肌肉中 TTX 相对较低; 野生河豚鱼其肝脏、性腺、血液中 TTX 含量相对较高。

表 1 河豚鱼生物学鉴定参数

Table 1 1 Puffer fish biological identification parameters

种类	样本数	体长(cm)		重量(g)		肝脏(g)	
		平均值	标准差	平均值	标准差	平均值	标准差
红鳍东方鲀	30	27.9	10.8	879	109.8	227	89.5
黄鳍东方鲀	10	20.7	11.1	277	160.9	69	97.2
菊黄东方鲀	12	21.5	4.8	348	210.1	85	68.6
暗纹东方鲀	8	21.8	3.8	421	161.4	107	77.4
野生暗纹东方鲀	2	20.4	15.6	397	109.7	97	107.9

表 2 不同季节及肝脏、肌肉、性腺和血液中 TTX 的含量

Table 2 TTX levels of the liver, muscle, gonad and blood in different seasons

春季									
种类	数量	肝脏 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	肌肉 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	性腺 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	血液 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	标准差
野生暗纹	2	257.32	51.5	2.364	2.8	287.365	55.3	239.683	49.7
养殖暗纹	2	0	0	0	0	3.658		1.687	
养殖红鳍	6	0	0	0	0	3.034	3.3	2.036	6.1
养殖菊黄	3	3.018	7.7	0	0	4.856	11.7	1.968	4.7
养殖黄鳍	2	0	0	0	0	6.382	19.2	2.892	3.2
夏季									
种类	数量	肝脏 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	肌肉 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	性腺 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	血液 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	标准差
养殖暗纹	6	0	—	0	—	—	—	0	—
养殖红鳍	6	0	—	0	—	—	—	0	—
养殖菊黄	3	0	—	0	—	—	—	0	—
养殖黄鳍	2	2.615	7.9	0	—	—	—	2.752	9.6
秋季									
种类	数量	肝脏 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	肌肉 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	性腺 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	血液 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	标准差
养殖红鳍	10	0	—	0	—	—	—	0	—
养殖菊黄	3	0	—	0	—	—	—	0	—
养殖黄鳍	3	0	—	0	—	—	—	2.638	18.6
冬季									
种类	数量	肝脏 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	肌肉 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	性腺 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	标准差	血液 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	标准差
养殖红鳍	8	3.638	5.4	0	—	—	—	3.056	19.1
养殖菊黄	3	4.257	17.5	0	—	—	—	3.692	7.2
养殖黄鳍	3	3.849	3.1	0	—	—	—	2.968	5.4

### 3 讨 论

目前常用的 TTX 检测方法为荧光检测系统的检测和紫外检测,有研究表明:荧光检测系统的检测结果比紫外检测具有更低的仪器检测限和样品检出限,但通过对比实验发现,两者的检测结果差异不显著( $P>0.05$ )。考虑到样品的可回收性,紫外检测系统更具可操作性,因此,选择紫外测定河豚鱼中 TTX 的含量<sup>[15]</sup>。5 种河豚鱼的组织用 HPLC 紫外测定,试验结果显示,养殖河豚鱼(红鳍东方豚、暗纹东方豚、菊黄东方豚、黄鳍东方豚)在四个季节,肌肉均未测出 TTX,春季为河豚鱼性腺成熟期,而此时河豚鱼性腺中 TTX 含量相对较高,夏季和秋季各组织器官(肝脏、肌肉、血液)中 TTX 含量均低,冬季时肝脏和血液中 TTX 含量较高。上述结果表明:河豚鱼所含毒性大小存在种类以及季节差异,同时鱼体各部分之间也存在较大差异,我们认为河豚鱼在地域间、鱼种间及季节间毒力差异均非常显著,因此河豚鱼的安全食用因考虑到季节并严格注意内脏的处理环节。因此制定一套切实可行的加工工艺及管理制度十分必要。另外,尽快开发出一套快速、有效、简单的河豚毒素检测方法势在必行<sup>[16]</sup>。

通过近一年的实践工作,现对河豚鱼食用安全存在的一些问题提出以下建议:① 做好有关河豚鱼知识的宣传普及工作,提高民众的安全意识;② 对已经成熟的工艺方法和理论知识要及时总结,以期早日规范化、制度化;③ 严格执行各项规章制度,完善相关法律、法规;④ 做好河豚中毒的预防和救治工作。

河豚鱼肉味道鲜美,受到广大人们青睐,而食用河豚鱼在我国有着悠久的历史,并且河豚鱼有着很高的营养价值,属于营养价值和经济价值都较高的鱼类,近代由于我国对河豚鱼食用采取了较为严格的限制,所以对河豚鱼的安全食用研究也进展不大。现在我们对河豚鱼安全食用进行研究探索,通过科学的方法指导、管理河豚鱼食用,这必将使我国河豚鱼食用文化得以尽早恢复和发展。

#### 参考文献

- [1] 黄军, 严美娇, 陈国宏. 河豚毒素的起源及其研究进展[J]. 生物技术通讯, 2006, 17(6): 998-1000.  
Huang J, Yan MJ, Chen GH. Origin and progress of tetrodotoxin[J]. Biotechnol Commun, 2006, 17(6): 998-1000.
- [2] 孟雪松. 中国河豚鱼产业现状及产业发展有关问题初探[J]. 中国卫生标准管理, 2012, 3(6): 36-38  
Men XS. Discussion on the industry status and the development problems of puffer fish [J]. China Health Stand Manag, 2012, 3(6): 36-38
- [3] 刘海新, 张农, 董黎明, 等. 柱后衍生高效液相色谱法测定水产品中的河豚毒素含量[J]. 水产学报, 2006, 30(6): 812-817.  
Liu HX, Zhang N, Dong LM, et al. Post-column derivatization HPLC determine content of tetrodotoxin in aquatic [J]. J Fish, 2006, 30(6): 812-817.
- [4] Strong PN, Smith JT, Keana JF. A convenient bioassay for detecting nanomolar concentrations of tetrodotoxin [J]. Toxicol, 1937, 11(5): 433-438.
- [5] 陈玉仁, 程军. 用紫外分光光度法测定河豚毒素[J]. 海洋药物, 1984, 3(2): 9.  
Chen YR, Cheng J. Determine tetrodotoxin by UV spectrophotometry [J]. Marine Med, 1984, 3(2): 9.
- [6] 林乐明, 敖丽娟, 张军. 河豚毒素的薄层色谱扫描法测定[J]. 色谱, 1991, 9(2): 113.  
Lin YM, Ao LJ, Zhang J. Determine tetrodotoxin by TLC scanning [J]. Chin J Chromatogr, 1991, 9(2): 113.
- [7] 陶宁萍, 龚玺, 刘源, 等. 三种养殖河豚鱼肌肉营养成分分析及评价[J]. 营养学报, 2011, 33(1): 92-94.  
Tao NP, Gong X, Liu Y, et al. Nutrient Analysis and Evaluation about three kinds of farming puffer muscle [J]. J Nutr, 2011, 33(1): 92-94.
- [8] 王奇欣. 河豚鱼认识上的几个误区[J]. 中国水产, 2005, 6: 18.  
Wang QX. Several Misunderstandings about understanding puffer fish [J]. Chin Fish, 2005, 6: 18.
- [9] 黄清法. 河鲀毒素提取技术及检测方法的研究进展[J]. 水产科技情报, 2010, 37(4): 169-181.  
Huang QF. Advances in technology and detection methods of extracting tetrodotoxin [J]. Aquat Sci Technol Inform, 2010, 37(4): 169-181.
- [10] O'Leary MA, Schneider JJ, Isbister GK. Use of high performance liquid chromatography to measure tetrodotoxin in serum and urine of poisoned patients [J]. Toxicol, 2004, 44(5): 549.
- [11] 张虹, 柳正良, 黄蓓琳, 等. 反向离子对-高效液相色谱法测定河鲀毒素[J]. 中国现代应用药学杂志, 2001, 18(3): 197.  
Zhang H, Liu ZL, Huang BL, et al. Determine tetrodotoxin by reverse ion-pair-HPLC [J]. J Chin Mod Appl Pharm, 2001, 18(3): 197.
- [12] 刘燕婷, 雷红涛, 青萍. 河豚毒素的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(2): 156-159.  
Liu YT, Lei HT, Qing P. Progress of tetrodotoxin [J]. Food Res

- Dev, 2008, 29(2): 156–159.
- [13] 唐珍, 陈建业. 河豚毒素研究进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(10): 1600.
- Tang Z, Chen JY. Progress of tetrodotoxin [J]. J Clin Exp Med, 2006, 5(10): 1600.
- [14] Kawatsu, Hamano Y, Yoda T, *et al.* Rapid and highly sensitive enzyme immunoassay for quantitative determination of tetrodotoxin [J]. JPN Med Sci Biol, 1997, 50: 13.
- [15] 宫庆礼, 崔建洲, 黄海龙, 等. 河豚鱼的安全食用研究[J]. 卫生研究, 2003, 32(4): 346–348.
- Gong QL, Cui JZ, Huang HL, *et al.* Research of puffer fish about safety for consumption [J]. Health Res, 2003, 32(4): 346–348.
- [16] 崔建洲, 申雪艳, 宫庆礼, 等. 高效液相色谱-紫外/荧光检测方法测定河豚毒素[J]. 色谱, 2006, 24(3): 317.
- Cui JZ, Shen XY, Gong QL, *et al.* HPLC-UV/fluorescence detection method for the determination of tetrodotoxin [J]. Chin J

Chromatogr, 2006, 24(3): 317.

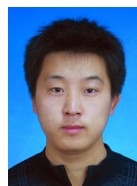
(责任编辑: 张宏梁)

## 作者简介



李云峰, 硕士, 实验师, 主要研究方向为化学分析检测。

E-mail: yf-li@shou.edu.cn



马晨晨, 硕士, 初级实验师, 主要研究方向为食品生物技术。

E-mail: ccma@shou.edu.cn