

養殖魚類和水產飼料中之人工合成抗氧化劑殘留量

黃登福 林瑞興 鄭弘命

國立台灣海洋大學水產食品科學系

摘 要

為知台灣養殖魚蝦類、市販水產飼料和魚粉中之人工合成抗氧化劑殘留量和脂質品質，乃自市場採集6種養殖魚蝦類共68個檢體，7種不同魚種之水產飼料共37個檢體，以及6種不同國家產之魚粉共33個檢體，經以高性能液態層析法分析人工合成抗氧化劑含量，得知任一種檢體中之殘留量，皆以BHT為主。BHT在魚蝦類肝臟或肝胰藏中之含量為0 - 59.8 ppm，在魚粉中之含量則為0 - 150.0 ppm，顯BHT在養殖魚蝦體、水產飼料和魚粉中均尚低於法定界限濃度200 ppm。另外，水產飼料中脂質之過氧化物價經檢測得知為0.2 - 60.8 meq/kg，TBA值為6.4 - 45.6 mg/kg，酸價則為7.8 - 66.6 mg/g；魚粉中脂質之過氧化物價為5.6 - 85.6 meq/kg，TBA值為4.6 - 88.6 mg/kg；酸價則為6.2 - 70.1 mg/g，顯示水產飼料和魚粉中之脂質品質差異甚大，且均有遭受氧化。

前 言

台灣養殖漁業很發達，水產人工飼料的生產亦很興盛。但是水產飼料在儲藏中之品質變化，一般以脂質之變化最大。加工業為防止飼料油脂之變壞，往往添加多量之人工合成抗氧化劑。陳等⁽¹⁾發現台灣食用油炸食品中人工合成抗氧化劑之殘留，主要為二丁基羥基甲苯(dibutylated hydroxytoluene, BHT)，其次為含有少量的丁基羥基苯甲醚(butylated hydroxyanisole, BHA)。水產飼料中人工抗氧化劑之使用狀況，目前並未有報告調查，但據加工業者表示，台灣水產飼料中添加之人工合成抗氧化劑乃以BHT為主。

Hwang et al.^(2,3)發現飼料中添加過量之BHT時，會引起魚類肝臟之腫大，及其成長受阻。而且BHT進入魚體後，主要分佈於內臟組織，其代謝途徑易形成膽肝循環現象^(3,4)。因此為了解水產飼料中及養殖魚類中之人工合成抗氧化劑殘留量，乃檢測養殖魚類和水產飼料中人工合成抗氧化劑之含量。

其次，已有甚多報告指出高量脂質過氧化物會

對魚類產生傷害，其症狀包括肝病變、肌肉萎縮、肝纖維壞死、瘦背肌症(Sekoke disease)、自發性糖尿病、貧血、斃死等⁽⁵⁻⁷⁾。因此本研究乃一併分析台灣市售水產飼料中之脂質品質。

材料與方法

一、材料

在1990年8-12月，自基隆市和台北市市場，採集台灣產養殖魚、蝦類，以冰藏帶回研究室即刻凍藏供做原料使用。魚類包括鯉魚(10尾)、吳郭魚(10尾)、虱目魚(12尾)、鰻魚(12尾)、黑鯛(12尾)和草蝦(12樣品，一個樣品約0.5公斤)。其中魚類一尾當做一個樣品，每個樣品各取其肌肉、肝臟或肝胰臟供分析抗氧化劑之含量。

另外，同時期自飼料廠、進出口廠商和養殖戶採集各種國內外魚粉和水產飼料，樣品採集後亦即刻凍藏供實驗使用。其中魚粉樣品數為國內褐魚粉10個，秘魯褐魚粉6個，智利褐魚粉5個，挪威白魚粉4個，阿拉加白魚粉4個，日本白魚粉4個。飼料樣品數為蝦飼料3個，鰻魚飼料6個，虱目魚飼料6個，鱒

魚飼料4個, 鯉魚飼料6個, 吳郭魚飼料8個和鱸魚飼料4個。

二、人工合成抗氧化劑之抽取與分析

精稱樣品後, 加入2.5倍量之正己烷(n-hexane)均質1 min, 再加入7.5倍量之乙腈(acetonitrile)均質1 min後, 離心過濾, 殘渣再依相同抽取方式抽取兩次, 濾液經混合濃縮後, 以異丙醇(isopropanol): 乙腈(1 : 1 v/v)溶液定量至10 ml, 再以0.45 μ m PVDF filter (Gelman Co.)過濾, 濾液供分析用。另外以溶於乙酸乙酯(acetyl acetate)之BHT和BHA標準品(Sigma), 分別添加2000 μ g在約20g之魚肉、魚粉和水產飼料中, 經減壓去除乙酸乙酯後, 依上述抽出條件探討其回收率。

BHT和BHA的分析, 係採用Page and Charbonneau (8)的高性能液態層析儀分析法(high performance liquid chromatography, HPLC); 逆相層析管採用Lichrosorb RP-18 (18 μ m, 150 mm $\times$ 4.6 mm i.d), 移動溶媒A液為5%醋酸(acetic acid)溶液, B液為含5%醋酸之乙腈液, 層析管經由移動溶媒A和B液的分段溶出(0 - 7 min為A液: B液 = 60 : 40; 7-15 min為B液), 流速為2 ml/min, 析出溶液以280 nm檢測其吸光度。人工合成抗氧化劑BHT和BHA之檢出標準曲線, 係採用標準品BHT和BHA (Sigma), 將其溶於異丙醇: 乙腈(1 : 1 v/v)溶液中, 經上述HPLC分析法求得。

三、魚粉和水產飼料中之脂質品質分析

取魚粉或飼料約50g, 以氯仿: 甲醇(2:1 v/v)溶液抽取脂質(9)。脂質品質則依AOAC方法(10)分析酸價(acid value, AV)和過氧化物價(peroxide value, POV), 另依Pryor et al. 方法(11)測定TBA值(thiobarbituric acid value)。

結果與討論

為檢測養殖魚蝦肉、魚肝臟、蝦肝胰臟、市售魚粉和水產飼料中之BHT和BHA含量, 乃以標準品BHT和BHA各0.67 μ g注入HPLC分析, 得知BHT和BHA之滯留時間(retention time)分別為10.22和5.30 min。人工抗氧化劑BHT和BHA之劑量和波長280 nm吸收波峰面積關係, 顯示BHT之標準曲線為 $Y = 42481X - 2883$ ($r = 0.99$), BHA曲線為 $Y = 71911X - 2762$ ($r = 0.99$), 其中Y為波峰面積積分, X為抗氧化劑劑量。

Table 1. Recovery of antioxidant in fish, fish feed and fish meal by HPLC analysis

Sample ^a	No. of replicate	Recovery (%) ^b	
		Mean $\pm$ S.D.	
		BHT	BHA
Fish muscle	6	94.4 $\pm$ 2.6	101.3 $\pm$ 3.4
Fishery feed	6	99.1 $\pm$ 5.2	100.9 $\pm$ 3.1
Fish meal	6	101.1 $\pm$ 7.0	101.5 $\pm$ 2.0

^a Amount of each antioxidant added to sample was 2,000 μ g.

^b Recovery = amount of antioxidant detected / amount of antioxidant added.

其次為知人工抗氧化劑BHT和BHA在魚肉、魚粉和水產飼料之回收率, 乃以標準品BHT和BHA各2000 μ g分別添加加入20g魚肉、魚粉和水產飼料中, 經抽出檢測得知BHT在魚肉、魚粉和水產飼料中之回收率各別為94.4 $\pm$ 2.6(mean $\pm$ S.D., n = 6), 101.1 $\pm$ 7.0和99.1 $\pm$ 5.2%, BHA則各為101.3 $\pm$ 3.4, 101.5 $\pm$ 2.0和100.9 $\pm$ 2.0%(Table 1)。顯示Page et al. 方法可適用於魚肉、魚粉和水產飼料中BHT和BHA之檢測用。

經由市場採取六種養殖魚蝦類測其肌肉和肝臟中之人工合成抗氧化劑含量如表二所示。得知魚蝦類肌肉中皆不含有工合成抗氧化劑, 而肝臟或肝胰臟中僅含有BHT, 其含量為斑節蝦0.8 - 9.4 ppm, 平均為3.9 $\pm$ 1.3 (mean $\pm$ S.D.) ppm; 鰻魚0 - 1.8 ppm, 平均為0.8 $\pm$ 0.4 ppm; 虱目魚0.2 - 12.3 ppm, 平均為5.7 $\pm$ 2.8 ppm; 黑鯛0.4 - 8.2 ppm, 平均為2.6 $\pm$ 1.6 ppm; 鯉魚0 - 1.2 ppm, 平均為0.4 $\pm$ 0.2 ppm; 吳郭魚0 - 0.8 ppm, 平均為0.1 $\pm$ 0.2 ppm。

魚蝦飼料中之人工合成抗氧化劑含量經檢測結果如表三所示, 得知其人工抗氧化劑之主要成分仍為BHT, 其中蝦飼料之BHT含量為8.3 - 46.4 ppm, 平均為26.6 $\pm$ 8.4 ppm; 鰻魚飼料為12.2 - 59.8 ppm, 平均為34.2 $\pm$ 8.6 ppm; 虱目魚飼料為3.4 - 28.8 ppm, 平均為14.7 $\pm$ 1.8 ppm; 鱒魚飼料為4.4 - 16.6 ppm, 平均為8.6 $\pm$ 3.4 ppm; 吳郭魚飼料為0 - 6.2 ppm, 平均為2.4 $\pm$ 0.8 ppm; 鱸魚飼料為2.4 - 14.1 ppm, 平均為6.5 $\pm$ 4.0 ppm。另蝦飼料中亦含有微量之BHA, 其量為0.9 $\pm$ 0.4 ppm。綜合比較養殖魚蝦類及其飼料中BHT含量之差異性(表二和表三), 發現鰻魚肝臟中之BHT含量為0.8 ppm, 但其飼料中卻為34.2 ppm, 其差異性遠較其它魚種如草蝦、虱

Table 2. Antioxidant content in the cultured fish

Sample (No.)		Concentration ^a (ppm)	
		BHT	BHA
Tiger prawn (12)	muscle	ND	ND
	hepatopancreas	3.9±1.3 (0.8 – 9.4)	ND
Eel (12)	muscle	ND	ND
	liver	0.8±0.4 (ND – 1.8)	ND
Milkfish (12)	muscle	ND	ND
	liver	5.7±2.8 (0.2 – 12.3)	ND
Black bream (12)	muscle	ND	ND
	liver	2.6±1.6 (0.4 – 8.2)	ND
Carp (10)	muscle	ND	ND
	hepatopancreas	0.4±0.2 (ND – 1.2)	ND
Tilapia (10)	muscle	ND	ND
	liver	0.3±0.2 (ND – 0.8)	ND

^a Mean±S.D. (range of concentration) and ND = not detected.

Table 3. Antioxidant content and lipid quality of fish feed

Sample (No.)	Concentration (ppm)		Lipid quality		
	BHT	BHA	POV(meq/Kg) ^a	TBA(mg/Kg) ^b	AV(mg/g) ^c
Shrimp feed (3)	26.6±8.4 ^d	0.9±0.4	5.4±0.4	13.9±5.7	23.5±8.1
	(8.3 – 46.4)	(0.2 – 2.2)	(1.6 – 12.6)	(8.5 – 20.2)	(18.8 – 32.1)
Eel feed (6)	34.2±8.6	ND ^e	22.8±21.4	31.1±11.4	40.1±20.6
	(12.2 – 59.8)		(14.4 – 50.6)	(20.5 – 44.5)	(30.4 – 70.4)
Milkfish feed (6)	14.7±1.8	ND	19.5±14.6	22.2±9.8	30.6±12.6
	(3.4 – 28.8)		(11.2 – 44.4)	(12.5 – 34.4)	(26.4 – 45.5)
Trout feed (4)	12.7±5.4	ND	1.5±1.0	15.5±6.8	39.1±12.4
	(4.4 – 25.8)		(0.2 – 3.4)	(8.9 – 25.5)	(28.3 – 56.8)
Garp feed (6)	8.6±3.4	ND	24.7±25.8	29.7±13.9	32.8±18.8
	(4.4 – 16.6)		(8.6 – 60.8)	(23.4 – 45.6)	(25.6 – 55.6)
Tilapia feed (8)	2.4±0.8	ND	19.8±22.6	28.5±8.5	34.2±20.4
	(ND – 6.2)		(12.6 – 52.2)	(24.6 – 40.2)	(16.8 – 66.6)
Perch feed (4)	6.5±4.0	ND	7.2±8.3	12.2±3.1	12.4±6.2
	(2.4 – 14.1)		(2.4 – 20.6)	(6.4 – 16.0)	(7.8 – 24.4)

^a POV=peroxide value (milliequivalents of free iodine iodine per Kg oil).

^b TBA=thiobarbituric acid number (mg of malonaldehyde per Kg feed).

^c AV=acid value (mg of potassium hydroxide consumed per g oil).

^{d,e} See footnotes in Table 2.

Table 4. Antioxidant content and lipid quality of fish meal

Sample (No.)	Concentration (ppm)		Lipid quality		
	BHT	BHA	POV(meq/Kg) ^a	TBA(mg/Kg) ^b	AV(mg/g) ^c
Local brown fish meals (10)	32.0±16.8 ^d (11.2 – 78.6)	ND ^e	27.9±8.6 (5.6 – 51.2)	42.7±11.3 (28.8 – 64.8)	42.6±8.6 (35.7 – 70.1)
Peru brown fish meals (6)	30.1±11.5 (6.6 – 64.4)	1.6±1.1 (0.2 – 5.2)	39.1±22.4 (12.6 – 78.4)	54.6±20.6 (10.9 – 84.4)	40.7±22.5 (25.6 – 66.8)
Chile brown fish meals (5)	47.1±20.7 (12.3 – 150.0)	0.9±0.8 (ND – 35)	42.4±2.1 (16.3 – 85.6)	48.5±20.2 (10.2 – 88.6)	42.6±14.6 (28.1 – 59.2)
Japanese brown fish meals (5)	5.6±1.2 (1.2 – 14.3)	ND	20.1±3.8 (15.6 – 28.4)	34.6±18.6 (16.2 – 58.4)	43.4±6.8 (25.6 – 56.4)
Norway white fish meals (4)	ND	1.2±1.4	14.0±1.4 (8.2 – 29.7)	24.2±12.6 (6.6 – 36.8)	23.6±8.7 (6.2 – 34.6)
Alaska white fish meals (4)	10.7±4.4 (2.7 – 25.3)	ND	14.6±3.9 (7.2 – 29.4)	19.4±3.5 (4.6 – 28.2)	26.5±6.8 (13.3 – 42.2)

^{a-e} See footnotes in Table 3.

目魚、鯉魚和吳郭魚者為顯著,此現象是否係由多脂性鰻魚本身因含多量脂質,因而為防本身脂質之氧化而消耗抗氧化劑所致,或是鰻魚對BHT之代謝能力較強所致,仍有待進一步之探討。

各種魚粉經檢測人工合成抗氧化劑之結果如表四所示,得知BHT含量在國內褐魚粉為11.2 - 78.6 ppm,平均為32.0±16.8 ppm;秘魯褐魚粉為6.6 - 64.4 ppm,平均為30.1±11.5 ppm;智利褐魚粉為12.3 - 150.0 ppm,平均為47.1±20.7 ppm;阿拉斯加白魚粉為2.7 - 25.3 ppm,平均為10.7±4.4 ppm;日本褐魚粉為12 - 14.3 ppm,平均為5.6±1.2 ppm;另外挪威白魚粉並未含有BHT。其次,BHA在魚粉中之含量亦較BHT為少,在秘魯魚粉為0.2 - 5.2 ppm,平均為1.6±1.1 ppm;智利褐魚粉為0 - 3.5 ppm,平均為0.9±0.8 ppm;挪威白魚粉為0.2 - 3.4 ppm,平均為1.2±1.4 ppm;餘者國內褐魚粉、阿拉斯加白魚粉和日本褐魚粉均未檢出含有BHA。

水產飼料中之脂質品質,由表三可知,飼料脂質品質參差不齊,過氧化物價之範圍在0.2 - 60.8 meq/kg, TBA值之範圍在6.4 - 45.6 mg/kg,酸價之範圍則在7.8 - 70.4 mg/g。魚粉中脂質品質亦差異甚大,過氧化物價之範圍在5.6 - 85.6 meq/kg, TBA值之範圍在4.6 - 88.6 mg/kg,酸價之範圍則在6.2 - 70.1 mg/g(表四)。

綜合上述結果,台灣市販水產飼料和魚粉中脂質,似乎均已遭受氧化分解,產生多量之脂質次級氧化產物,導致酸價和TBA值偏高之趨勢。連和鍾⁽¹²⁾亦曾發現台灣市售魚粉之酸價為19.7 - 147.2 mg

/g,顯示水產飼料和魚粉之脂質品質有待相關單位之管制或改善。另一方面,台灣市售水產飼料和魚粉中所添加的人工合成抗氧化劑,以添加BHT為主,其含量經檢測得知,均未超過200 ppm之法定界限值。養殖魚蝦體在肝臟中檢查有殘留量存在,但肌肉中未檢測出BHA或BHT之殘存,亦均無食用安全上之顧慮。

謝辭

本研究承行政院農委會研究經費(計畫編號:CDA 80 - 7.1 - F - 18 - 6)援助,謹此誌謝。

參考文獻

1. 陳麗真, 鄭淑英, 林阿洋. 1989. 油炸食品中抗氧化劑(BHT及BHA)之殘留量調查. 藥物食品檢驗局調查研究年報. 8 : 312 - 314.

2. Hwang, D.F., Tsai, M.R., Jeng, S.S., Imamura Kojima, H., and Yoshida, T. 1991. Sublethal effects of butylated hydroxytoluene (BHT) through feed in common carp. Nippon Suisan Gakkaishi. 57 : 1153 - 1157.

3. Hwang, D.F., Tsai, M.R., Yoshida, T. and Jeng, S.S. 1992. Toxicity and excretion of butylated hydroxytoluene (BHT) through feed in Japanese eel. Nippon Suisan Gakkaishi. 58

- : 69 - 74.
4. Imamura Kojima, H., Yoshida, T., Hwang, D.F., Tsai, M.R. and Jeng, S.S. 1991. Absorption, distribution and excretion of butylated hydroxytoluene in rainbow trout and common carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 57 : 1159 - 1164.
 5. Hashimoto, Y., Okaichi, T., Watanabe, T., Furukawa, A. and Umezu, T. 1966. Muscle dystrophy of carp due to oxidized oil and the preventive effect of vitamin E. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 32 : 64 - 69.
 6. Sakaguichi, H. and Hamaguchi, A. 1969. Influences of oxidized oil and vitamin E on the culture of yellowtail. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 36 : 623 - 630.
 7. Kubota, S., Funahashi, N., Endo, M. and Miyazaki, T. 1980. Studies on nutritional myopathy syndrome in cultured fishes - I. *Fish Path.* 15 : 75 - 80.
 8. Page, B.D. and Charbonneau, C.F. 1989. Liquid chromatographic determination of seven antioxidants in dry foods. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 72 : 259 - 265.
 9. 厚生省生活衛生局. 1991. 食品衛生検査指針—理化學編. pp. (smallcapital) 30 - 31. 日本食品衛生協會編. 東京.
 10. AOAC. 1984. Chapt. 28. Oils and Fats. In "AOAC Official Methods of Analysis". pp. 440 - 441. Horwitz, W. (ed). Assoc. Off. Anal. Chem. Washington, D.C., U.S.A.
 11. Pryor, W.A., Stanley, J.P. and Blair, E. 1976. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids - II. *Lipids*. 11 : 370 - 379.
 12. 連壯林, 鍾忠勇. 1980. 褐魚粉與白魚粉品質之比較研究. *科學發展月刊*. 8 : 346 - 353.

Level of Synthetic Antioxidant in Cultured Fish and Fish Feed

DENG-FWU HWANG, JUI-HSING LIN AND HONG-MING CHENG

Department of Marine Food Science, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

Attempts were made to determine the level of synthetic antioxidants and lipid quality in fish feeds and in cultured fish in Taiwan. Sixty-eight samples of six fish species, thirty-seven feed samples for seven fish species and thirty-three samples of fish meal from six countries were collected from markets and/or from manufacturers, and analyzed. It was found that BHT (dibutylated hydroxytoluene) was the major antioxidant in cultured fish, fishery feed and fish meal. BHT level ranged 0 - 12.3 ppm, 0 - 59.8 ppm and 0 - 150.0 ppm in fish liver (or shrimp

hepatopancreas), feed and fish meal, respectively. There was no residue of antioxidant in fish muscle. The lipid quality of fish feed was as follows : peroxide value (POV) 0.2 - 60.8 meq/kg, thiobarbituric acid (TBA) value 6.4 - 45.6 mg/kg and acid value (AV) 9.8 - 66.6 mg/g; and for fish meal POV was 5.6 - 85.6 meq/kg, TBA value 4.6 - 88.6 mg/kg and AV 6.2 - 70.1 mg/g. There is no safety concern on the synthetic antioxidant residue in cultured fish, fish feed and fish meal. However, the lipid quality in fish feed and fish meal should be improved.

Key Words : Antioxidants, BHT, cultured fish, feed.