

福馬林之毒性及甲醛在鯉魚肌肉之殘留

楊順德* · 林天生 · 劉富光

行政院農業委員會水產試驗所 淡水繁養殖研究中心竹北試驗場

摘 要

本試驗係探討福馬林對鯉魚的急性毒與藥浴福馬林後鯉魚體內甲醛的殘留，以及藥浴福馬林對魚隻血液生化值之影響。由急性毒的試驗結果顯示，在 20 及 30 °C 水溫環境下，鯉魚置於福馬林溶液中 96 hr 之半致死濃度分別為 126.44 及 101.69 ppm，顯示福馬林在 30 °C 時對鯉魚的毒性較強。在甲醛的蓄積殘留方面，為求與一般福馬林藥浴的方式一致，將鯉魚分別施以福馬林 250 ppm 藥浴 1 hr、100 ppm 藥浴 2 hr 及 25 ppm 長時間藥浴，另以未經福馬林處理者為對照組。殘留試驗結果顯示，不論福馬林藥浴的濃度高低，在短時間內鯉魚肌肉所含的甲醛量有明顯提高，而經 144 hr 後與對照組則無顯著差異；在長時間藥浴的 25 ppm 組魚體內的甲醛含量較高，且在 20 及 30 °C 達到高峰的時間分別為 48 及 24 hr，但不論溫度高低，回復到背景值的時間亦為 144 hr。在施以不同福馬林藥浴處理後，各處理組魚隻的血容積比、血紅素及血漿總蛋白濃度與對照組間並無顯著差異，但高濃度藥浴組魚隻的血糖值高於對照組，然而 25 ppm 長時間藥浴組在藥浴後 24 hr 的血糖值反而顯著高於對照組；此外，不論溫度高低，250 ppm 藥浴 1 hr 的魚隻在藥浴後 24 hr 的血容積比顯著高於對照組。本試驗結果表明，不同福馬林藥浴方式均在藥浴後 144 hr 回復到背景值，且各組魚隻之血紅素與血漿總蛋白濃度不受藥浴福馬林之影響。

關鍵詞：鯉魚、福馬林、急性毒、甲醛殘留、血液性狀

前 言

魚類養殖環境中充斥著各種病原體，養殖魚無可避免地會與這些病原體接觸，當魚隻健康狀況不佳時，極易受到病原體的感染，其中以外部寄生蟲最為常見 (Scott, 1993)。一般鯉科魚類常受到白點蟲 (*Ichthyophthirius multifiliis*)、車輪蟲 (*Trichodina* spp.)、斜管蟲 (*Chilodonella cyprinid*)、指環蟲 (*Dactylogyrus* spp.) 及三代蟲 (*Gyrodactylus* spp.) 等外部寄生蟲的感染，在低水溫期則易受到水黴菌 (*Saprolegnia* spp.) 的感染，治療這些疾病除使用有機磷劑等化學藥劑外，福馬林具有一定效果也是最經濟的化學藥物 (Holl *et al.*, 2001)；此外，福馬林也被應用於藥浴魚卵以預防水黴菌的感染 (Rach *et al.*, 1997)。

福馬林為 37% 的甲醛溶液，通常加入 10~15% 的甲醇以防止甲醛產生聚合作用 (Scott, 1993)；在一般魚類的使用法是以 25 ppm 長期藥浴 (不換水) 或 250 ppm 藥浴 1 hr (Xu and Rogers, 1993)，而在鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 的用法則為 20~30 ppm 長時間藥浴或 250 ppm 藥浴 30~60 min (蔡, 1986)。福馬林在德國、挪威與冰島 (Schlotfeldt, 1992) 以及美國與加拿大 (Jung *et al.*, 2001) 是被認可的水產動物治療藥劑，雖然在動物體內的生理代謝過程中自然會產生少量甲醛 (原田, 1975; Yamagata and Low, 1995)，但澳洲、日本以及部分歐洲國家仍因甲醛可能致癌，尚未核可福馬林應用於水產養殖業 (Jung *et al.*, 2001)，我國則未明文規定禁止使用相關產品。既然對使用福馬林的安全性有所疑慮，探討魚類施予福馬林藥浴後甲醛在魚體內的殘留變化自有其重要性。

此外，福馬林藥浴對魚體本身是一種急性的緊迫因子，會造成其生理反應的變化。以高濃度福馬林短時間浸泡，不僅容易造成鰓絲受損，魚

*通訊作者 / 新竹縣竹北市泰和里 111 號, TEL: (03) 555-1190; FAX: (03) 555-4591; E-mail: yangsder@ms45.hinet.net

隻處於類似於缺氧狀態 (Smith and Piper, 1972)，以致於血液的飽和氧濃度與 pH 值降低 (Wedemeyer, 1971; Yamamoto, 1991)、魚隻的心跳數和呼吸頻率升高 (Kakuta *et al.*, 1991)，且血容積比 (hematocrit)、血紅素 (hemoglobin) 及血糖 (plasma glucose) 等血液生化值也有改變 (Smith and Piper, 1972; Yamamoto, 1991; Kakuta *et al.*, 1991)。本試驗除研究福馬林的毒性與藥浴福馬林後鯉魚體內甲醛的蓄積變化外，福馬林對魚隻若干血液生化值之影響亦予以探討。

材料與方法

一、福馬林的急性毒試驗

試驗用魚為體重 2.5 ~ 4.4 g 之鯉魚苗，先在室內二噸圓型 FRP 桶馴養兩週，再選取活力正常者停止給餌兩天後進行試驗。試驗用水為硬度 200 ppm 之地下水，經充分曝氣後使用，其 pH 值為 7.4 ~ 7.8、溶氧為 6.3 ~ 6.8 ppm。試驗容器為 15 L 之圓形玻璃缸裝水 10 L，並置於大型恆溫箱中分別將試驗水溫控制在 20 °C 及 30 °C。在福馬林 (37 % 甲醛溶液, Merck) 濃度 90 ~ 130 ppm 間，依 10 ppm 等差級數配成五種不同濃度，每種濃度放入 10 尾魚，分別紀錄各濃度在 24、48 及 96 hr 的死亡尾數，採三重複試驗。由於福馬林容易分解，因而每隔 24 hr 換水一次，但仍分別維持水中原來的福馬林濃度。福馬林在 20 °C 及 30 °C 下對鯉魚的半致死濃度 (median lethal concentration, LC₅₀) 及 95 % 信賴區間是利用 BASIC 程式計算 (Trevors and Lusty, 1985)，以 Probit 法 (Finney, 1971) 求出死亡率機數值與福馬林濃度對數值之線性回歸方程式，Y 軸為對機數死亡率，X 軸為福馬林濃度對數值，當 Y = 5 時之 X 值即為半致死濃度值。

二、不同甲醛萃取方法之比較

魚體肌肉甲醛含量之分析大多是經過萃取後，再依據 Nash 試劑法檢測 (Nash, 1953; Cochran and Axelrod, 1959)，但由於不同種類和濃度之萃取劑 (extractants) 的萃取效果不盡相同 (Castell and Smith, 1973; Sills and Allen, 1979; Yamagata and Low, 1995)，本試驗因而先比較常用萃取劑萃取後

的回收率 (Recovery)。參照 Castell and Smith (1973) 以及 Leblanc *et al.* (1988) 的方法，取健康新鮮的鯉魚背部肌肉若干加入二份的蒸餾水，以 Waring blender (Model 702B) 均質攪拌後，取此魚肉均質液 12 ml，加入適量的福馬林液，使樣品中分別含有 20、80 或 200 ppm 之福馬林 (即含有 1.85, 7.40 或 18.50 mg/L 的甲醛)，以 Vortex mixer 均勻混合後靜置 30 min。含不同濃度福馬林之魚肉均質液分別加入 20 % 硫酸、10 % 三氯醋酸或 10 % 過氯酸 (w/v) 等萃取劑，經均質、過濾並以蒸餾水稀釋 (1:2)，調整濾液 pH 值至 6.0，再以蒸餾水稀釋至原濾液的五倍。取稀釋液與等量之雙倍 Nash 試劑 (Double-strength Nash reagent, DSNR) (Castell and Smith, 1973) 混合後，以 60 °C 水浴 5 min，再以分光光度計 (Shimadzu UV-1601, Japan) 於 415 nm 波長下檢測吸光值。由樣品之光譜吸收值比對檢量線，依下列公式求出甲醛含量，並據此算出回收率 (%)。

$$\mu\text{g formaldehyde/g} = A \times \frac{V_n \times V_e}{V_u \times V_a \times W_t}$$

A：由檢體吸光值依檢量線求得的值

V_n：調整 pH 且稀釋後的體積 (ml)

V_e：魚肉均質液與萃取液之總體積 (ml)

V_u：未調整 pH 前濾液取樣的體積 (ml)

V_a：魚肉均質液的採樣體積 (ml)

W_t：魚肉取樣量 (g)

三、鯉魚肌肉殘留甲醛測定

選取活力正常，體重 48.8 ± 10.6 g 之鯉魚，先予以充分投餌飼育兩週，於試驗前兩天停止給餌。在 130 L 水箱中裝水 80 L，放養 20 尾魚，水質條件為：溶氧 7.8 ~ 8.7 ppm；pH 值 8.1 ~ 8.7；硬度 200 ~ 210 ppm。與一般福馬林藥浴治療的方式相同 (蔡, 1986; Xu and Rogers, 1993)，將魚隻分別施以福馬林 250 ppm 藥浴 1 hr、100 ppm 藥浴 2 hr 或 25 ppm 長時間不換水藥浴，另以未經福馬林處理者為對照組。100 ppm 組與 250 ppm 組在藥浴時間結束後，開始採樣並立即換水，而為便於觀察 25 ppm 組於不換水長時間藥浴的變化，因而在藥浴 2 hr 後即開始採樣，之後每隔 24 hr 採樣一次，以測定鯉魚肌肉內甲醛殘留量的變化。

Table 1 LC₅₀ values of formalin and 95% confidence limits for common carp reared at 20 and 30 °C

Temperature (°C)	Concentration (ppm)		
	24-h LC ₅₀ (95% confidence limits)	48-h LC ₅₀ (95% confidence limits)	96-h LC ₅₀ (95% confidence limits)
20	142.13 (134.34 ~ 195.87)	131.70 (125.38 ~ 142.92)	126.44 (120.91 ~ 132.78)
30	135.56 (126.32 ~ 168.0)	115.14 (106.64 ~ 122.33)	101.69 (87.62 ~ 107.41)

Table 2 Effect of extractants on formaldehyde recovery (%) from carp muscle exposed to various concentrations of formalin¹

Extractant	Formalin fortified (ppm)		
	20	80	200
20 % Sulfuric acid	65.04 ± 1.99 ^c	52.89 ± 2.38 ^b	45.66 ± 3.93
10 % Trichloroacetic acid	60.88 ± 2.15 ^b	48.85 ± 2.91 ^{ab}	46.35 ± 3.40
10 % Perchloric acid	51.09 ± 1.81 ^a	46.15 ± 1.17 ^a	41.35 ± 2.17

¹Means ± SD with different superscripts in the same column significantly differ ($p < 0.05$).

試驗係在恆溫室中進行，溫度分別控制在 20 及 30 °C，以了解水溫對甲醛殘留之影響，每一處理均為三重複。被採樣的魚隻先以清水沖洗體表，由於魚肉在冰存和解凍的過程中會因死後變化而產生甲醛 (天野等, 1963)，因而在採得背部肌肉後，隨即萃取分析其體內的甲醛含量，萃取劑為 20 % 硫酸，萃取與分析步驟同方法二所述。

四、鯉魚血液生化值檢測

選取體重 81.2 ± 19.3 g 之鯉魚，與肌肉殘留甲醛試驗同樣的處理方式。將各箱魚隻分別施以福馬林 250 ppm 藥浴 1 hr、100 ppm 藥浴 2 hr 及 25 ppm 不換水長時間藥浴，另以未經福馬林處理者為對照組，試驗分別於 20 及 30 °C 環境下進行。在福馬林藥浴時間結束後以及藥浴後 24 hr，由各水箱中取樣六尾魚，經 MS-222 麻醉後自尾柄部抽血，以肝素 (heparin) 處理過之毛細管吸取血液，經毛細管離心機以 $12000 \times g$ 離心後讀取血容積比，而血紅素則是以市售檢驗試劑測定 (Sigma diagnostic kits, No. 525)。其餘全血以 $12000 \times g$ 離心 15 min 後，將上層之血漿取出以市售檢驗試劑 (Sigma diagnostic kits, No. 315, 541) 分析血糖與

總蛋白 (total plasma protein)。試驗數據以變異數分析 (ANOVA) 及鄧肯氏多變域測驗檢測差異 (Steel and Torrie, 1980)，差異顯著水準定在 $\alpha = 0.05$ ，而血容積比之數值則先予以常態化 (Snedecor and Cochran, 1967) 再進行統計分析。

結 果

一、福馬林的急性毒試驗

在 20 及 30 °C 水溫環境下，鯉魚置於福馬林溶液中 24、48 及 96 hr 之 LC₅₀ 值及其 95 % 信賴區間如 Table 1 所示，在 30 °C 時的 24、48 及 96 hr 之 LC₅₀ 值均較 20 °C 時低，顯示福馬林在 30 °C 時，對鯉魚的毒性較強。由於福馬林在水中極易分解，因此不論在 20 或 30 °C 時，其對鯉魚的 48 hr 與 96 hr 的 LC₅₀ 值差距並不大，分別為 131.70 與 126.44 ppm 以及 115.14 與 101.69 ppm。

二、不同甲醛萃取方法之比較

以 20 % 硫酸、10 % 三氯醋酸或 10 % 過氯酸作為萃取劑萃取肌肉甲醛之回收率如 Table 2 所

Fig. 1 Formaldehyde in the muscle of common carp treated with different concentrations of formalin at 20 °C. Vertical bars represent standard deviations.

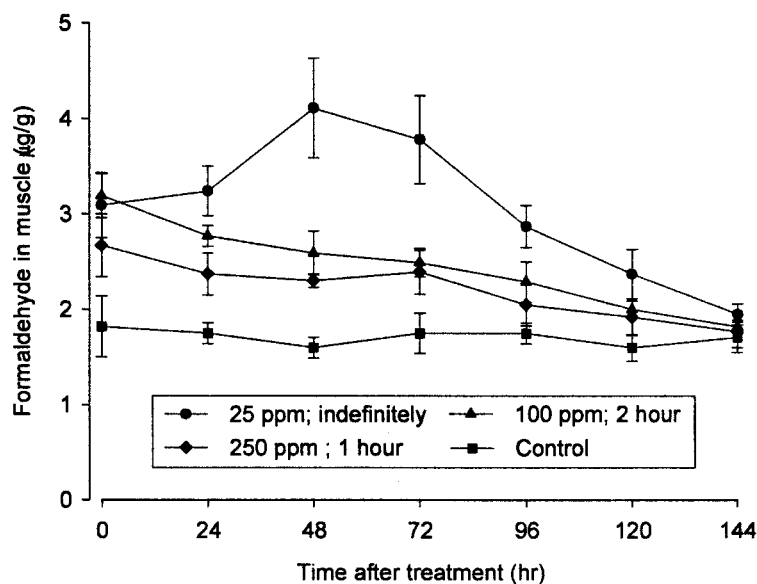
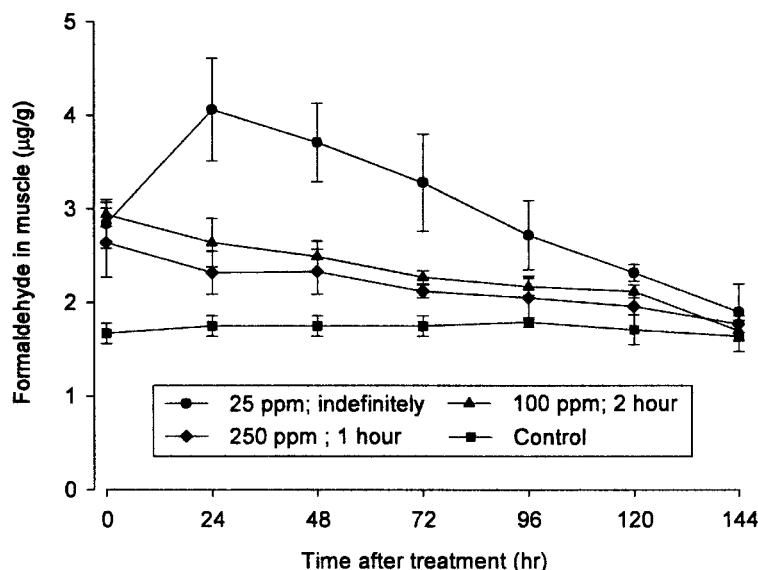


Fig. 2 Formaldehyde in the muscle of common carp treated with different concentrations of formalin at 30 °C. Vertical bars represent standard deviations.



示，鯉魚肌肉中添加 20 ppm 之福馬林以 20 % 硫酸的萃取效果顯著較佳，而以 10 % 過氯酸的萃取效果最差，但三種萃取劑對高濃度甲醛的萃取回收率均偏低。本試驗因而採用 20 % 硫酸作為檢測肌肉甲醛含量的萃取劑。

三、鯉魚肌肉殘留甲醛測定

鯉魚經不同福馬林藥浴處理後，肌肉中甲醛殘留量之變化如 Fig. 1 及 Fig. 2 所示，結果顯示不論福馬林藥浴的濃度高低，在短時間 (1 或 2 hr)

內鯉魚肌肉所含的甲醛量便已顯著提高；大致而言，不論溫度高低，各處理組在浸泡福馬林後，魚體中的甲醛含量約在 2.60 ~ 3.20 µg/g 之間。250 ppm 組及 100 ppm 組分別在 1 及 2 hr 藥浴換水後，肌肉中的甲醛量也逐漸減少，在 144 hr 後與對照組無顯著差異，大約在 1.70 ~ 1.95 µg/g 之間。在長時間藥浴的 25 ppm 組因浸泡福馬林的時間較長，魚體內的甲醛含量也較高，而在 20 及 30 °C 達到高峰的時間分別為 48 及 24 hr，但不論溫度高低，回復到背景值的時間亦為 144 hr。

Table 3 Hematological responses of common carp exposed to various formalin treatments¹

Formalin treatment	Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dl)	Glucose (mg/dl)	Plasma protein (g/dl)
Post treatment				
Temperature: 20 °C				
250 ppm; 1 hour	36.33 ± 2.58	9.91 ± 0.67	117.75 ± 31.74 ^b	3.54 ± 0.43
100 ppm; 2 hour	35.50 ± 3.02	9.74 ± 0.73	111.58 ± 31.63 ^b	3.28 ± 0.26
25 ppm; indefinitely	34.67 ± 5.54	9.75 ± 1.07	77.05 ± 11.16 ^a	3.41 ± 0.26
Control	33.67 ± 2.58	10.00 ± 0.74	71.68 ± 17.50 ^a	3.44 ± 0.32
Temperature: 30 °C				
250 ppm; 1 hour	36.50 ± 4.59	10.10 ± 1.24	109.71 ± 20.67 ^b	3.48 ± 0.42
100 ppm; 2 hour	37.17 ± 5.81	11.15 ± 1.95	100.40 ± 23.63 ^{ab}	3.35 ± 0.26
25 ppm; indefinitely	33.33 ± 6.62	10.19 ± 1.45	84.21 ± 25.10 ^{ab}	3.65 ± 0.34
Control	31.83 ± 4.45	10.38 ± 1.03	76.52 ± 10.38 ^a	3.29 ± 0.47
Twenty four hours post treatment				
Temperature: 20 °C				
250 ppm; 1 hour	39.00 ± 3.85 ^b	9.87 ± 1.06	43.89 ± 9.11 ^{ab}	2.55 ± 0.59
100 ppm; 2 hour	35.17 ± 3.49 ^{ab}	9.78 ± 1.88	45.16 ± 7.61 ^{ab}	2.71 ± 0.40
25 ppm; indefinitely	37.33 ± 1.97 ^b	9.41 ± 0.62	55.93 ± 10.48 ^b	2.63 ± 0.14
Control	32.67 ± 3.83 ^a	9.54 ± 0.84	41.17 ± 12.17 ^a	2.69 ± 0.24
Temperature: 30 °C				
250 ppm; 1 hour	38.17 ± 4.02 ^b	10.12 ± 1.02	39.98 ± 9.95 ^{ab}	2.57 ± 0.30
100 ppm; 2 hour	35.67 ± 2.73 ^{ab}	9.99 ± 0.38	38.30 ± 10.55 ^{ab}	2.97 ± 0.63
25 ppm; indefinitely	36.50 ± 3.73 ^{ab}	9.92 ± 2.29	49.86 ± 8.01 ^b	3.04 ± 0.32
Control	33.83 ± 1.72 ^a	9.58 ± 0.68	37.61 ± 8.25 ^a	3.01 ± 0.43

¹Means ± SD with different superscripts in the same column at the same time and temperature significantly differ ($p < 0.05$).

四、鯉魚血液生化值檢測

鯉魚經福馬林藥浴結束後及藥浴完 24 hr 後之血液生化值如 Table 3 所示。魚隻在分別施以福馬林 250 ppm 藥浴 1 hr 以及 100 ppm 與 25 ppm 藥浴 2 hr 後，各處理組之血容積比、血紅素及血漿總蛋白濃度與對照組間並無顯著差異，但在 20 °C 下，兩個高濃度藥浴組的血糖值顯著高於對照組，而在 30 °C 下，250 ppm 藥浴 1 hr 的魚隻血糖也顯著高於對照組；但是在藥浴後的 24 hr，25 ppm 不換水長時間藥浴組的血糖值反而顯著高於對照組。此外，不論溫度高低，250 ppm 藥浴 1 hr 的魚隻在藥浴後 24 hr 的血容積比也顯著高於對照組。

討 論

水產養殖業以福馬林作為預防及治療外部寄生蟲病已有很長的歷史，早期有關其對魚類急性毒的研究大多集中在鮭鱒魚類 (Piper and Smith, 1973)，但福馬林的毒性卻可因魚種、年齡、環境因素及魚的健康狀況而異 (Piper and Smith, 1973; Speare and MacNair, 1996)。在本試驗中，福馬林對鯉魚之 LC_{50} 值不論是 24、48 或 96 hr，在 30 °C 時的值均分別較 20 °C 時低 (Table 1)，顯示福馬林在 30 °C 時的毒性較在 20 °C 時強，Piper and Smith (1973) 也曾指出水溫是影響福馬林毒性的主要環境因素。福馬林對魚類的急性毒也因魚種而異，例如福馬林 96 hr 的 LC_{50} 值在虹鱒

Table 4 Formaldehyde recovery from aquatic animal muscle extracted with different extractants

Species	Extractants	Recovery (%)	Reference
<i>Gadus morhua</i>	10% Trichloroacetic acid	51.3	Castell and Smith, 1973
	10% Perchloric acid	49.2	<i>ibid</i>
<i>Ictalurus punctatus</i>	10% Trichloroacetic acid	56.7	Sillis and Allen, 1979
<i>Micropterus salmoides</i>	10% Trichloroacetic acid	48.0	<i>ibid</i>
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10% Trichloroacetic acid	59.0	<i>ibid</i>
<i>Penaeus stylirostris</i>	10% Trichloroacetic acid	56.8	Hose and Lightner, 1980
<i>Anguilla japonica</i>	3% Trichloroacetic acid	78.8	Ueno et al., 1984
<i>Morone saxatilis</i>	20% Sulfuric acid	83.3	Xu and Rogers, 1993
<i>Tilapia niloticus</i>	20% Sulfuric acid	80.1	Xu and Rogers, 1995
<i>Penaeus merguensis</i>	5% Trichloroacetic acid	47.2	Yamagata and Low, 1995
	10% Perchloric acid	54.0	<i>ibid</i>
	12% Zinc sulfate heptahydrate	62.1	<i>ibid</i>
<i>Paralichthys olivaceus</i>	12% Zinc sulfate heptahydrate	90.0	Jung et al., 2001
<i>Cyprinus carpio</i>	20% Sulfuric acid	65.0	This study
	10% Trichloroacetic acid	60.9	<i>ibid</i>
	10% Perchloric acid	51.1	<i>ibid</i>

(*Oncorhynchus mykiss*) 和美洲河鱈 (*Ictalurus punctatus*) 分別為 72 和 64 ppm (Post, 1987);而在本試驗中,於 20 °C 與 30 °C 水溫下,福馬林對鯉魚 96 hr 之 LC₅₀ 值分別為 126.44 與 101.69 ppm (Table 1),此數值與早期 Chinabut *et al.* (1988) 同樣在鯉魚的研究結果(106 ~ 128 ppm) 相當接近;但同為鯉科魚類,青魚 (*Mylopharyngodon piceus*) 在 20 及 30 °C 水溫中,福馬林對其 96 hr 之 LC₅₀ 值分別只有 85.06 與 84.13 ppm (林等, 1999),顯然鯉魚對福馬林的耐受力較青魚強。另外,由於福馬林在水中極易分解,半衰期約為 2 ~ 3 天 (Ueno *et al.*, 1984; Xu and Rogers, 1995; Jung *et al.*, 2001),因此不論在 20 或 30 °C,其對鯉魚 48 與 96 hr 的 LC₅₀ 值差距並不大 (Table 1),這在虱目魚 (*Chanos chanos*) 和銀鱸 (*Bidyanus bidyanus*) 也有類似的情形 (Cruz and Pitogo, 1989; 林等, 2003)。

魚體肌肉甲醛含量之分析大多是改良自 Nash (1953) 和 Cochin and Axelrod (1959) 的方法,以中性化過氯酸萃取肌肉中的甲醛,利用甲醛、乙醯丙酮 (acetylacetone) 與胺鹽的反應形成黃色的 3,5-diacyetyl-1,4-dihydrolutidine (DDL),再以分光光度計於 415 nm 波長下檢測吸光值。在萃取過程

中,甲醛有時易與蛋白質、胺類、胺基酸及其它有機物結合,無法充分與 Nash 試劑反應 (Castell and Smith, 1973),因此發展出各種萃取劑以提高萃取甲醛的效果,然而,各種萃取劑應用在不同魚蝦類的萃取效果不盡相同,回收率約在 47.2 ~ 90.0 % 之間 (Table 4)。一般最常使用的萃取劑為 10 % 三氯醋酸,但本試驗的結果顯示,三氯醋酸的萃取回收率並不比 20 % 硫酸來得高 (Table 2),Xu and Rogers (1993, 1995) 在條紋鱈 (*Morone saxatilis*) 和尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 的試驗也認為硫酸是最佳萃取劑,其甲醛萃取回收率甚至高於 80 %,比本試驗鯉魚肌肉甲醛的回收率還高出約 15 % (Table 4),可能由於不同魚種間的化學成分組成不盡相同,肌肉中的甲醛結合能力 (formaldehyde-binding capacity) 不同所致,而 Castell and Smith (1973) 也曾建議每一種魚都應建立甲醛的回收係數 (recovery factor),以利檢測各魚種的甲醛含量。

甲醛是細胞正常代謝的產物,在水果、蔬菜、水產品及發酵食品中都含有少量甲醛 (Yamagata and Low, 1995);在水產動物,可經由酵素作用或非酵素路徑將氧化三甲胺 (trimethylamine oxide)

分解成二甲胺 (dimethylamine) 與甲醛，其內源性甲醛含量約在 0.1 ~ 31.8 $\mu\text{g/g}$ 之間 (原田, 1975)，且在魚類的肌肉、皮膚以及內臟均有甲醛的存在，但以肌肉為主 (天野等, 1963)。由本試驗結果顯示 (Figs. 1, 2)，對照組魚隻肌肉中平均甲醛含量為 1.72 $\mu\text{g/g}$ (範圍在 1.60-1.82 $\mu\text{g/g}$ 之間)，由於是在採樣後隨即萃取分析，此含量應即為鯉魚體內自然產生的內源性甲醛量。此外，即使是在其餘的處理組，魚體肌肉甲醛的含量最高也只有 4.11 $\mu\text{g/g}$ ，比對照組多出約 2.5 $\mu\text{g/g}$ (Figs. 1, 2)，顯示藥浴福馬林後，由鰓部或皮膚進入魚體內的外源性甲醛量可能有限，在其他淡水魚類的福馬林藥浴試驗中，每克肌肉的甲醛殘留量也是只有數微克而已 (Ueno *et al.*, 1984; Subasinghe and Yusoff, 1993; Xu and Rogers, 1993; Xu and Rogers, 1995)。

本試驗結果顯示藥浴福馬林後，在短時間內鯉魚肌肉的甲醛含量顯著高於對照組，而在換水後 144 hr 才回復背景值；此外，在長時間藥浴的 25 ppm 組因浸泡福馬林的時間較長，魚體內的甲醛含量也較高，而在 20 及 30 $^{\circ}\text{C}$ 達到高峰的時間分別為 48 及 24 hr，但不論溫度高低，回復到背景值的時間亦為 144 hr (Figs. 1, 2)，顯示水溫可能影響鯉魚對外源性甲醛的吸收速率。Subasinghe and Yusoff (1993) 指出，銀無鬚魮 (*Puntius gonionotus*) 在藥浴 50 ppm 福馬林 24 hr 後，肌肉甲醛殘留量為 5.75 $\mu\text{g/g}$ ，而蟾蜍 (*Clarias batrachus*) 在分別施予 50 或 100 ppm 福馬林 24 hr 後，體內甲醛含量分別為 14.03 或 18.72 $\mu\text{g/g}$ ，且在轉移至清水中 24 hr 後即無明顯的甲醛殘留；此外，Ueno *et al.* (1984) 也指出日本鰻 (*Anguilla japonica*) 在浸泡 50 ppm 福馬林後一兩天內魚體甲醛含量升高至 5.8 ~ 7.6 $\mu\text{g/g}$ ，而後再降至 2.1 ~ 4.0 $\mu\text{g/g}$ (約略是一般的基準值)；再者，條紋鱸以福馬林 25 ppm 藥浴 24 hr，雖可發現魚體有甲醛殘留的跡象，但僅在藥浴後 48 與 72 hr 分別與對照組有顯著差異 (Xu and Rogers, 1993)。在另一方面，Sillis and Allen (1979) 將美洲河魴、大口黑鱸 (*Micropterus salmoides*) 及虹鱔、銀魴 (*Oncorhynchus kisutch*) 分別施以 300 ppm 福馬林藥浴 3 hr 及 1 hr，或將美洲河魴和大口黑鱸分別施以 35 ppm 福馬林長期藥浴，結果在各種魚體肌肉中的甲醛含量並無明顯較對照組高；且在藍蝦 (*Penaeus stylirostris*)、

尼羅吳郭魚、牙鯡 (*Paralichthys olivaceus*) 及史氏鱸 (*Sebastes schlegeli*) (Hose and Lightner, 1980; Xu and Rogers, 1995; Jung *et al.*, 2001) 的福馬林藥浴試驗也有類似的情形發生。在上述的各項研究中，均曾進行萃取劑回收率檢測且大都有對照組試驗，其結果與本試驗結論 (Figs. 1, 2) 不同，是否因各魚種的肌肉甲醛結合能力不同所致 (Castell and Smith, 1973)，則仍有待進一步研究。

血液性狀常被廣泛用於魚類的健康診斷，其中血液化學成分變化是魚類在藥物中毒時的重要參考依據 (尾崎, 1978)，血容積比、血紅素和血糖等常被用來作為毒性化學物質造成魚類生理緊迫的指標 (Wedemeyer and McLeay, 1981)。以往的文獻報導，短期間高濃度藥浴福馬林後，虹鱔 (Wedemeyer, 1971; Smith and Piper, 1972; Williams and Wootten, 1981)、鯉魚 (Yamamoto, 1991) 和牙鯡 (Jung *et al.*, 2003) 等之血容積比和血紅素均增加；本次試驗結果發現，雖然藥浴福馬林後各處理組魚隻的血容積比均較對照組高，但統計上並無差異；然而，不論是在 20 或 30 $^{\circ}\text{C}$ 下，250 ppm 組藥浴後 24 hr，其血容積比顯著高於對照組 (Table 3)。此外，鯉魚血紅素含量似乎不受福馬林藥浴的影響 (Table 3)，Wedemeyer and Yasutake (1974) 與 Kakuta *et al.* (1991) 曾報導藥浴福馬林並未明顯改變魚隻的血紅素量，這可能是魚隻可忍受福馬林所造成的緊迫，也可能是福馬林的緊迫在短期內對血紅素不造成影響。此外，以短期間高濃度浸泡福馬林容易造成魚的鰓絲受損 (Smith and Piper, 1972; Cruz and Pitogo, 1989)，使魚隻處於類似缺氧狀態，以致血液充滿較多的不成熟紅血球 (Smith and Piper, 1972)，而血容積比是指血液中血球所佔之比例，在本試驗中藥浴福馬林一段時間後血紅素量不受影響但血容積比卻顯著升高，是否為鯉魚血液中不成熟紅血球數量增多所致，仍待進一步研究。

血糖是魚類重要的生理反應指標，魚類受到緊迫時的血糖值會升高 (Hattingh, 1976; Wedemeyer and McLeay, 1981)，在本試驗中，鯉魚於 20 $^{\circ}\text{C}$ 下分別施以福馬林 250 ppm 藥浴 1 hr 以及 100 ppm 藥浴 2 hr 後，其血糖值顯著高於對照組，而在 30 $^{\circ}\text{C}$ 下，250 ppm 藥浴 1 hr 的魚隻血糖也顯著高於對照組，此外，在藥浴後的 24 hr，25 ppm 長時間藥浴

組的血糖值卻反而顯著高於對照組 (Table 3)，顯示高濃度的福馬林即使在短時間內也會造成鯉魚魚體的緊迫反應，而 25 ppm 低濃度藥浴的即時影響雖不及高濃度藥浴組，但在 24 hr 後對魚體的影響仍然存在；這種藥浴福馬林會造成所謂高血糖 (hyperglycemia) 的現象亦曾在尼羅吳郭魚 (Omoregie *et al.*, 1994) 的試驗中發現。另一方面，雖然魚類在處於某些緊迫狀態下，其血漿總蛋白濃度可能會有所變化 (許等, 1999)，但本試驗的結果顯示，鯉魚血漿總蛋白濃度並未明顯受到影響 (Table 3)。Kakuta *et al.* (1991) 將鯉魚施以 280 ppm 福馬林藥浴 2 hr，魚隻血漿總蛋白濃度也同樣不受影響；而 Chandrasekar and Jayabalan (1993) 將鯉魚浸泡致死濃度的安殺番 (Endosulfan) 殺蟲劑，其血漿總蛋白濃度亦無明顯變化，池田等 (1986) 也認為血漿總蛋白濃度可反映魚隻的營養狀態，但不易因組織蛋白質濃度而變動，即使是處於輕度的病態也不容易有所變化。

參考文獻

- 天野慶之, 山田金次郎, 尾藤方通 (1963) タラおよびスケトウにおけるホルムアルデヒドの存在について. 日水誌, 29: 695-701.
- 池田弥生, 尾崎久雄, 瀬崎啓次郎 (1986) 魚類血液図鑑. 緑書房, 東京, 361 pp.
- 尾崎久雄 (1978) 血液化学検査による健康診断. 魚の呼吸と循環 (日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 63-80.
- 林天生, 楊順德, 彭弘光 (1999) 常用水產藥物對青魚之急性毒研究: 孔雀綠、甲基藍、硫酸銅、福馬林、高錳酸鉀及美舒添. 水產研究, 7: 25-34.
- 林天生, 楊順德, 彭弘光, 劉富光 (2003) 常用水產藥物孔雀綠、甲基藍、硫酸銅、福馬林、高錳酸鉀及美舒添對銀鱸之急性毒研究. 水產研究, 11: 47-56.
- 原田勝彦 (1975) 魚介類におけるホルムアルデヒドとジメチルアミンを生成酵素に関する研究. 水産大学校研究報告, 23: 163-241.
- 許晉榮, 張惠芬, 丁雲源 (1999) 氨毒對淡水及海吳郭魚血學指數的影響. 水產研究, 7: 65-71.
- 蔡錦林 (1986) 魚病學. 華一書局, 台北, 台灣, 95 pp.
- Castell, C. H. and B. Smith (1973) Measurement of formaldehyde in fish muscle using TCA extraction and the Nash reagent. J. Fish. Res. Bd. Can., 30: 91-98.
- Chandrasekar, S. and N. Jayabalan (1993) Hematological responses of the common carp, *Cyprinus carpio* L. exposed to the pesticide endosulfan. Asian Fish. Sci., 6: 331-340.
- Chinabut, S., C. Limsuwan, K. Tonguthai and T. Pungkachonboon (1988) Toxic and sublethal effect of formalin on freshwater fishes. NACA, Bangkok, Thailand, 20 pp.
- Cochin, J. and J. Axelrod (1959) Biochemical and pharmacological changes in the rat following chronic administration of morphine, nalorphine and normorphine. J. Pharmacol. Exp. Ther., 125: 105-110.
- Cruz, E. R. and C. L. Pitogo (1989) Tolerance level and histopathological response of milkfish (*Chanos chanos*) fingerling to formalin. Aquaculture, 78: 135-145.
- Finney, D. J. (1971) Probit Analysis (3rd edn.). Cambridge University Press, New York, U.S.A., 333 pp.
- Hattingh, J. (1976) Blood sugar as an indicator of stress in the fresh water fish, *Labeo capensis* (Smith). J. Fish Biol., 10: 191-195.
- Holl, D., D. Bucke, P. Burgess and I. Wellby (2001) Diseases of Carp and Other Cyprinid Fishes. Blackwell Science Ltd, Oxford, U.K., 264 pp.
- Hose, J. E. and D. V. Lightner (1980) Absence of formaldehyde residues in penaeid shrimp exposed to formalin. Aquaculture, 21: 197-201.
- Jung, S. H., J. W. Kim, I. G. Jeon and Y. H. Lee (2001) Formaldehyde residues in formalin-treated olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), black rockfish (*Sebastes schlegelii*), and seawater. Aquaculture, 194: 253-262.
- Jung, S. H., D. S. Sim, M.-S. Park, Q. T. Jo and Y. Kim (2003) Effects of formalin on haematological and blood chemistry in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). Aquacult. Res., 34: 1269-1275.
- Kakuta, I., K. Namba, K. Uematsu and S. Murachi (1991) Physiological response of the fish, *Cyprinus carpio*, to formalin exposure-I. Effects of formalin on urine flow, heart rate, respiration. Comp. Biochem. Physiol., 100C: 405-411.
- Leblanc, E. L., R. J. Leblanc, and D. M. Ervin (1988) Comparison of three methods of formaldehyde

- determination on frozen sole, pollock, haddock and cod fillets. *J. Food Biochem.*, 12: 79-95.
- Nash, T. (1953) The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem. J.*, 55: 416-421.
- Omoregie, E., T. G. Eseyin and P. C. Ofojekwu (1994) Chronic effects of formalin on erythrocyte counts and plasma glucose of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Asian Fish. Sci.*, 7: 1-6.
- Piper, R. G. and C. E. Smith (1973) Factors influencing formalin toxicity in trout. *Prog. Fish-Cult.*, 35: 78-81.
- Post, G. (1987) Diseases caused by toxic substances. *In* Textbook of Fish Health. T.F.H. Publications, Inc., New Jersey, U.S.A., 250-277.
- Rach, J. J., G. E. Howe, T. M. Schreier (1997) Safety of formalin treatments on warm- and coolwater fish eggs. *Aquaculture*, 149: 183-191.
- Schlotfeldt, H. J. (1992) Current practices of chemotherapy in fish culture. *In* Chemotherapy in Aquaculture: from theory to reality (C. Michel and D. J. Alderman eds.). Office International Des Epizooties, Paris, France. 25-38.
- Scott, P. (1993) Therapy in aquaculture. *In* Aquaculture for Veterinarians-Fish Husbandry and Medicine (L. Brown ed.). Pergamon Press, New York, U.S.A., 131-152.
- Sillis, J. B. and J. L. Allen (1979) Residues of formaldehyde undetected in fish exposed to formalin. *Prog. Fish-Cult.*, 41: 67-68.
- Smith, C. E. and R. G. Piper (1972) Pathological effects in formalin-treated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 29: 328-329.
- Snedecor, G. W. and W. G. Cochran (1967) Statistical methods. Iowa State University Press, Ames, IA, 593 pp.
- Speare, D. J. and N. MacNair (1996) Effects of intermittent exposure to therapeutic levels of formalin on growth characteristics and body condition of juvenile rainbow trout. *J. Aquat. Anim. Health*, 8: 58-63.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie (1980) Principles and Procedures of Statistics (2nd edn.). McGraw-Hill, New York, U.S.A., 633 pp.
- Subasinghe, R. P. and F. M. Yusoff (1993) Retention of formaldehyde in the tissues of two tropical fish species following exposure to therapeutic levels. *Aquacult. Fish. Manag.*, 24: 693-697.
- Trevors, J. T. and C. W. Lusty (1985) A basic microcomputer program for calculating LD50 values. *Water Air Soil Pollut.*, 24: 431-442.
- Ueno, R., Y. Horiguchi and S. S. Kubota (1984) Study of quality in fish as food-I. Concentration of formaldehyde in various tissues of cultured eel by formalin bath. *Bull. Fac. Fish., Mie Univ.*, 11: 37-42.
- Wedemeyer, G. (1971) The stress of formalin treatment in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 28: 1899-1904.
- Wedemeyer, G. A. and D. J. McLeay (1981) Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. *In* Stress and Fish (A. D. Pickering ed.), Academic Press, London, U.K., pp. 247-275.
- Wedemeyer, G. and W. T. Yasutake (1974) Stress of formalin treatment in juvenile spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 31: 179-184.
- Williams, H. A. and R. Wootten (1981) Some effects of therapeutic levels of formalin and copper sulphate on blood parameters in rainbow trout. *Aquaculture*, 24: 341-353.
- Xu, D. and W. A. Rogers (1993) Formaldehyde residue in striped bass muscle. *J. Aquat. Anim. Health*, 5: 306-312.
- Xu, D. and W. A. Rogers (1995) Formaldehyde residue in the muscle of Nile tilapia. *Asian Fish. Soc.*, 8: 81-88.
- Yamamoto, K. I. (1991) Effects of formalin on gas exchange in the gills of carp *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98C: 463-465.
- Yamagata, M. and L. K. Low (1995) Rapid determination of formaldehyde in banana shrimp, *Penaeus merguensis*. *J. Food Sci.*, 60: 718-720.

Studies on the Formalin Toxicity and Formaldehyde Residues in Common Carp (*Cyprinus carpio*)

Shuenn-Der Yang*, Tain-Sheng Lin and Fu-Guang Liu

Chupei Station, Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

In this study, we investigated the acute toxicity of formalin (a 37% formaldehyde solution) and formaldehyde residue in the muscle of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to different formalin concentrations for various periods. The effects on some hematological parameters of the carp were also examined. The acute toxicity test revealed that the 96-h LC_{50} values of formalin for carp reared at 20 and 30 °C were 126.44 and 101.69 ppm, respectively. The practical therapy of formalin for fish was considered in the formaldehyde residue study; therefore, carp reared at 30 or 20 °C were treated with 250 ppm formalin for 1 h, 100 ppm for 2 h, and 25 ppm for long-term exposure. Fish with no formalin treatment served as the control group. Formaldehyde in the muscle was analyzed after 1 h for the 250-ppm group and 2 h for the other three groups, and the analysis continued every 24 h after the first sampling. Results showed that formaldehyde in the muscle increased in the first samples after being exposed to various formalin treatments, and the level of formalin in treated fish was significantly higher than that of the control group. Furthermore, formaldehyde in the muscle of fish at 30 and 20 °C treated with 25 ppm for the long-term exposure reached a peak at 24 and 48 h, respectively. However, the formaldehyde concentrations of treated fish gradually decreased before returning to the background level after 144 h in each group. Hematocrit, hemoglobin, and total plasma protein did not significantly differ among any groups after various formalin treatments. However, plasma glucose levels in fish treated with formalin at 250 ppm for 1 h and at 100 ppm for 2 h were significantly higher than those of the control fish. Interestingly, this hyperglycemic condition was also found in fish treated with 25 ppm formalin for the long-term exposure after 24 h. It was also found that the hematocrit level of fish treated with 250 ppm formalin after 24 h was markedly higher than that of the control fish. The results of this study showed that the formaldehyde concentrations of all formalin-treated fish returned to the background level after 144 h, and non-significant changes in hemoglobin and total plasma protein among treatments were also observed during the period of formalin exposure.

Key words: common carp, *Cyprinus carpio*, formalin, acute toxicity, formaldehyde residue, hematological parameter

*Correspondence: Chupei Station, Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute, 111 Tai-Ho, Chupei, Hsinchu 302, Taiwan. E-mail: yangsder@ms45.hinet.net