



茶皂素对几种鱼类和对虾的毒性研究*

梁亚全^① 夏春华^② 朱全芬^② 孙修涛^① 唐丽萍^②

(^① 中国水产科学院黄海水产研究所, 青岛 266003)

(^② 中国农业科学院茶叶研究所, 青岛 266003)

收稿日期 1990年11月28日

关键词 茶皂素, 清池剂, 对虾养殖

提要 本研究以茶皂素类作为“清池剂”, 试图解决对虾养殖的基础和应用技术问题。试验结果表明: 对虾对茶皂素和油茶皂素有较高的耐受力; 茶皂素与油茶皂素均具鱼毒活性, 油茶皂素则较强。鱼种不同, 中毒反应也略有差异; 两种茶皂素的鱼毒速度快, 在致死浓度时 16h 内出现中毒死亡, 毒性降解也快, 浓度为 5×10^{-6} 时 40h 后不再引起鱼类中毒。

茶皂素是从脱脂后的茶籽饼粕中提取的一类糖甙化合物, 属五环三萜类。茶皂素除了具有表面活性之外, 还具有生理活性。它既可作某些工业生产的添加剂, 又对某些生物有毒性。现已清楚, 茶皂素对冷血动物的毒性就是其溶血性^[1-3]。

目前我国养虾还未使用茶皂素, 现有的清池药物除了进口的鱼藤酮之外, 还有漂白粉、生石灰、氨水、敌百虫和茶籽饼等。但其作用都有一定的局限性。我国茶和油茶饼粕资源丰富, 在南方广大农村, 很早就知道用茶籽饼毒鱼, 其实是利用了茶籽饼中的茶皂素, 因此开发茶皂素类作为水产养殖方面的清池剂有其可能性和现实性。

由于养殖对象是对虾, 而我们的希望是杀死有害鱼类。因此, 本试验主要是观察茶皂素对几种鱼类和对虾的毒性作用, 以便找出对鱼的最低致死浓度以及对虾的安全浓度, 以供实际生产参考。

1. 材料与方法

1.1. 材料

1.1.1. 茶皂素的制备

采用同属于山茶科的茶树 (*Camellia sinensis*) 和油茶 (*Camellia oleifera* Abel) 种子的脱脂饼粕为原料, 按照 B 型茶皂素的工艺路线, 制成茶皂素与油茶皂素粉剂, 活性物含量 $\geq 60\%$ 。

1.1.2. 试验动物

对虾 *Penaeus chinensis* O'sbeck; 纹缟鰕虎鱼 *Tridentiger trignocephalus* (Gill); 鲈鱼 *Lateolabrax japonicus* (Cuvier & Valenciennes); 斑尾复鰕虎鱼 *Synechogobius ommaturus* (Richardson); 梭鱼 *Mugil so-iuy* (Basilewsky) 均来自山东昌邑县下营增殖站进水沟。

1.2. 方法

试验于 1989 年 7~9 月在青岛黄海水产研究所太平角试验场和昌邑县下营潍坊海水养殖场两地进行。对虾、纹缟鰕虎鱼在直径 48cm、高 50cm 的圆形玻璃钢水槽中进行试验, 盛海水 70L。梭鱼、鲈鱼和斑尾复鰕虎鱼用 80cm × 40cm × 50cm 的玻璃水族箱试验, 盛海水 120L。

* 本研究由农业部科技试验开发经费资助。

试验用水：太平角的试验用水采自过滤器过滤的太平角海区(用砂芯过滤器过滤)；下营的试验用水采自养殖场引水渠。

采用 C.E. Stephan^[9] 的移动平均角法计算 LC₅₀ 的值。

II. 试验结果

II. 1. 茶皂素对对虾的毒性

试验设计了 7 个试验组,其茶皂素浓度分别为 0,5,10,20,40,60 和 80×10⁻⁶,在充气和不充气条件下比较了两种茶皂素对平均体长为 2.7cm 的仔虾生存的影响。有关文献^[3]认为,通常观察鱼毒活性 24h 已足够,因鱼中毒死亡在 24h 内已见效。本试验持续观察 96h,表 1 列举了 24h 和 48h 的观察结果。(试验期间水温 24°C,盐度为 29.5 pH 为 8.05)

表 1 茶皂素与油茶皂素对对虾的毒性

Tab. 1 The toxicity of saponin (CS) and (CO) to fish and shrimp

药剂	条件	项 目	0	5	10	20	40	60	80
油茶皂素	不充气	48h 内 死亡数	0	0	0	0	0	8	10
		溶氧(mg/L)	4.6	4.0	3.2	2.4	1.3	0.6	0.3
	充气	24h 内 死亡数	1	0	0	0	0	0	0
		溶氧 (mg/L)	5.9	5.5	5.8	5.5	5.6	5.6	5.7
		48h 内 死亡数	1	2	0	2	1	1	0
		溶氧 (mg/L)	5.9	5.9	5.9	5.5	5.6	5.8	5.8
茶皂素	不充气	48h 内 死亡数	0	0	0	0	9	10	10
		溶氧(mg/L)	4.6	4	3	2.9	0.3	0.3	0.3
	充气	24h 内 死亡数	1	0	0	2	1	0	0
		溶氧 (mg/L)	5.9	5.7	5.8	5.1	5.4	5.3	5.1
		48h 内 死亡数	1	1	0	2	6*	1	1
		溶氧(mg/L)	5.9	5.6	5.7	5.7	—	5.8	5.8

* 充气故障。

为寻找茶皂素对对虾的绝对致死浓度 (LC₁₀₀),用油茶皂素作了 3 组高浓度试验。观察浓度分别为 80,100 和 120×10⁻⁶,饲养方式采用小罐隔离分养,小罐由聚丙烯管制成,10 个小罐放在同一水槽中,水质一样,小虾彼此隔离,每天分别掷蛤肉,预防彼此残食。经 48h 观察发现,在 80 与 100×10⁻⁶ 两组中,10 尾小虾死了 2 尾,120×10⁻⁶ 组中 10 尾小虾死了 5 尾,还不足达到全致死。从虾的活动来看,在 100 与 120×10⁻⁶ 两组中,虾表现为不活跃、不摄食,已有中毒症状。

综合上述试验结果可以认为,对虾对两种茶皂素都有较高的耐受力,即使不充气,使用的安全浓度也可达 10×10⁻⁶。

还测试了两种茶皂素 (100×10⁻⁶) 水溶液在放置过程中溶氧量的变化,发现其有降低水中溶氧量的作用,且茶皂素 > 油茶皂素。

II. 2. 茶皂素对鱼的毒性作用

II. 2.1. 纹缟鰕虎鱼

用平均体长 4.1cm 的小鱼进行试验, 每组 10 尾, 水温 24.8°C, 盐度 29.5, pH 值 8.05, 溶解氧 5.3~5.6mg/L。表 2 列出了两种茶皂素对纹缟鰕虎鱼的毒性结果。

表 2 茶皂素对纹缟鰕虎鱼的毒性试验

Tab. 2 The toxicity of saponin (CS) and (CO) to *Tridentiger trionocephalus*

a. 油茶皂素组												
项 目	浓度 ($\times 10^{-6}$)											
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.45	0.5	1	2	3	4	
死亡数	0	0	0	0	7	8	10	10	10	10	10	
历时 (h)	96	96	96	96	21	21	21	21	2.2	3.2	1.9	
b. 茶皂素组												
项 目	浓度 ($\times 10^{-6}$)											
	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	1	2	3	4
死亡数	0	0	0	0	3	3	7	9	10	10	10	10
历时 (h)	96	96	96	96	21	21	21	21	21	6.2	2.6	2.7

II. 2.2. 鲈鱼

试验采用平均体长 9.58cm 的小鲈鱼作材料, 每组 3 批, 每批 10 尾放于 120L 玻璃水箱中, 水温 25.0~27.6°C。主要进行油茶皂素的毒性试验, 持续观察 48h。结果见表 3。

表 3 油茶皂素对鲈鱼的毒性试验

Tab. 3 The toxicity of saponin (CO) to *Lateolabrax japonicus*

时间(h)	浓度 ($\times 10^{-6}$)										
	0	0.30	0.35	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.50	
	死亡率(%)										
16	7	10	15	34.85	30	60	50	60	90	100	
24	10	10	20	34.85	30	60	50	60	90	100	
48	13	10	20	34.85	30	60	50	60	90	100	

茶皂素对鲈鱼毒性低于油茶皂素, 当试验浓度为 $0.6 \sim 0.9 \times 10^{-6}$ 时, 48h 内死亡率仅在 30~40%, 1×10^{-6} 死亡率为 90%。由于材料来源困难, 没有进一步试验。

表 4 油茶皂素对斑尾复鰕虎鱼的毒性

Tab. 4 The toxicity of saponin (CO) to *Synechogobius ommaturus*

时 间 (h)	死亡数	浓度 ($\times 10^{-6}$)						
		0	0.35	0.40	0.45	0.50	0.60	0.70
		试验鱼数						
		8	8	8	8	7	9	9
16		0	1	2	6	5	5	9
20		0	1	2	1	0	0	0
24		1	0	0	1	1	2	0
40		1	0	1	0	0	2	0

II.2.3 斑尾复鰕虎鱼

选用平均体长为 14.04cm (9.7~18.8cm) 的鱼苗, 在 120L 水体中放 8~9 尾, 水温 25.0~26.0°C, 观察 40h, 结果见表 4。

II.2.4. 梭鱼

虾池中的梭鱼不捕食对虾, 对养虾不构成威胁, 它可活动水体, 清除对虾残饵, 对减轻虾池的污染有好处。试验重复 3 次, 共 30 尾样品, 平均体长为 11.06cm (9.4~19.4cm), 水温为 25.0~26.5°C。结果见表 5。

表 5 油茶皂素对梭鱼的毒性试验

Tab. 5 The toxicity of saponin(CO) to *Mugil so-iuy*

时 间 (h)	浓度($\times 10^{-6}$)						
	0	0.30	0.35	0.40	0.50	0.60	0.70
	死亡率(%)						
16	30.12	39.29	50	46.43	60.72	80.36	100
24	30.12	39.29	50	46.43	60.72	80.36	100
48	33.45	45.54	50	46.43	67.86	86.40	100

II.3. 茶皂素药效持续时间的观察

药效持续时间即毒性有效期问题, 考虑到对毒性敏感性, 试验以纹缟鰕虎鱼为材料进行初步观察, 采用投药后一定时间再放进鱼的办法来检查投药后第 2, 3, 5 天的药效情况, 结果见表 6。同时观察的还有油茶皂素 $1, 2, 3 \times 10^{-6}$ 和茶皂素的 0.7, 0.8 和 1×10^{-6} 各组, 结果较一致。

表 6 药效持续时间的观察

Tab. 6 The sustained time of efficiency of a medicine

药 物	项 目	批 次			
		1	2	3	4
油茶皂素 (0.5×10^{-6})	放养时间 结果	22.3h 后 8h 内全死亡	25h 后 24h 内全死亡	45h 后 无死亡	45h 后 无死亡
油茶皂素 (5×10^{-6})	放养时间 结果	19h 后 3.5h 内全死亡	39h 后 无死亡	112.5h 后 无死亡	
油茶皂素 (5×10^{-6})	放养时间 结果	19h 后 2.5h 内全死亡	45h 后 无死亡	112.5h 后 无死亡	

III. 结论与讨论

III.1. 从试验中发现, 茶皂素(40×10^{-6})油茶皂素(60×10^{-6})引起对虾死亡是缺氧所致, 因为茶皂素有降低水中溶氧量的作用。但当浓度在 10×10^{-6} 以内时这种作用不强烈, 48h 后溶解氧量还保持 $3 \sim 3.3 \text{mg/L}$, 不会影响对虾的存活。考虑到实际应用时浓度不会超过 5×10^{-6} , 因此茶皂素对对虾来说是很安全的药物。茶皂素能降低溶解氧的性质, 到底是其结构本身引起的还是在生产过程中掺杂进去的杂质起的作用, 还需进一步研究。试验中, 还未找到真正的绝对致死浓度, 甚至茶皂素浓度高达 120×10^{-6} , 在充气条件下, 48h 后也只有部分死亡。因为充气, 整个试验水槽都充满泡沫, 因此我们认为再试更高的浓度已无实际意义了。

III.2. 我们的试验结果是在实验室条件下取得的, 所用的 4 种试验鱼类对于虾池来说是

代表性的,它们既代表了肉食性最有危害的种类,也代表了无害的种类。我们还试验了少数三刺钝 (*Iricenthus brevirostris*) 和颌针鱼 (*Iylosurus anastomilla*), 结果与上述 4 种鱼类似。因此,茶皂素(特别是油茶皂素)是一种用于对虾养殖过程中清除有害鱼类的理想药物,它从价格和安全性来说都优于鱼藤酮。

III.3. 在海水中,茶皂素毒性降解迅速,浓度为 5×10^{-6} 时经历 40h 后其毒性已减少到不能引起鱼类中毒死亡。其原因可能与海水呈微碱性有关,因为在碱性条件下,茶皂素不稳定甙元与有机酸相接的酯键断裂分解成原皂草精醇-A 和有机酸,毒性也随之消失。但毒性降解机制还有待于进一步探讨。

III.4. 从试验中看出,茶皂素对鱼的毒性功能主要是破坏其红血球,造成溶血,但这种溶血作用是属何种类型还不清楚。关于茶皂素对鱼的毒性机理我们准备另外专门研究。

III.5. 我们对几种鱼的试验结果与青木搏夫^[1]和唐立安的报道类似,但唐立安观察到茶皂素对对虾 (*P. carinadus*) 的致死浓度为 75×10^{-6} ,与我们在对虾试验中观察到的结果差异较大,他在试验中没有充气,因此很可能不是茶皂素的直接毒性作用,而是茶皂素引起的缺氧使虾死亡。

III.6. 使用茶皂素,特别是虾池使用茶皂素后对于对虾的生长有否影响,是茶皂素用作清池剂以前必须搞清的问题,我们将另行专门试验,不过我们已用茶籽饼作清池剂,而茶皂素毒性降解又这么迅速,一定程度上已可作实用的参考。

III.7. 因为取得实验材料较困难,我们用斑尾复鰓虎鱼试验鱼数较少,而梭鱼的试验对照组自然死亡率较高,尽管在统计时进行了校正,这两组结果很可能不够精密。

III.8. 考虑到实际清池时的匀相困难,以及药物渗到洞穴中相对较慢,建议使用油茶皂素作清池剂时使用浓度大于 2×10^{-6} 。

参考文献

- [1] 张乃禹、林如杰(译),1987。日本对虾养殖,农业出版社。73~75。
- [2] 青山新次郎,1931。药学会志 367。
- [3] 石馆守三等,1952。药学会志 1 527。
- [4] 山田哲也等,1970。农化会志 580。
- [5] Stephan, C.E., 1977. Methods for Calculating and LC_{50} . Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation, ASTM STP 634, F.L. Mayer and J.L. Hamelink, Eds., American Society for testing and Materials, 65-84.

STUDIES ON TOXICITY OF SAPONIN TO FISHES AND SHRIMP *PENAEUS CHINENSIS* O'SBECK

Liang Yaquan, Xia Chunhua, Zhu Quanfen^①, Sun Xiutao and Tang Liping^②
(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao 266003)
(^①Tea Research Institute, Qingdao 266071)

Received; Nov. 28, 1991

Key Words: Saponin, Shrimp culture, Pond cleaner

Abstract

This study with shrimp culture as the main aim, is intended for solving the problems of relevant basic and applied techniques connected with these of saponin as 'pond cleaner' before cultivating shrimp and in culture process as well.

Studies were carried out on the toxicity of Saponin (cs) and Saponin (co) (extracted from *Camellia sinensis* and *Camellia oleifera* seeds respectively) on *Penaeus chinensis* O'sbeck, *Tridentiger trigonocephalus* (Gill), *Lateolabrax japonicus* (Cuvier & Valenciennes), *Synechogobius ommaturus* (Richardson) and *Mugil so-iuy* (Basilewsky).

The results of the experiments were as follows:

1. Shrimp was more tolerant towards both Saponin (cs) and Saponin (co). The concentrated shrimp could tolerate much higher (up to 80×10^{-6}) under the condition of aeration. The safe concentration was 10×10^{-6} without aeration.

2. Saponin(cs) and Saponin(co) were all acutely toxic to fish, toxicity of the latter being higher. Toxic effect on different fish varied slightly. The minimum concentration of Saponin(co) causing 100% mortality of *Lateolabrax japonicus* (Cuvier & Valenciennes) and *Tridentiger trigonocephalus* (Gill) within 24h was 0.5×10^{-6} , whereas the 24h LC_{50} value were 0.4357×10^{-6} ($0.4247-0.4635 \times 10^{-6}$) and 0.3069×10^{-6} ($0.2610-0.3489 \times 10^{-6}$) respectively. Compared to that, the LC_{100} was 0.7×10^{-6} for *Mugil so-iuy* (Basilewsky) and *Synechogobius ommaturus* (Richardson) within 24h, whereas the LC_{50} were 0.5121×10^{-6} ($0.4811-0.5400 \times 10^{-6}$) and 0.4446×10^{-6} ($0.4216-0.4774 \times 10^{-6}$) respectively. The 24h LC_{100} and LC_{50} value of Saponin (cs) were 1×10^{-6} and 0.6292×10^{-6} ($0.5280-0.7170 \times 10^{-6}$) respectively for *Tridentiger trigonocephalus* (Gill).

3. Both kinds of Saponin poisoned fish quickly. Death occurred within 16 h when the concentration reached the LC_{100} level. Their toxicity, however, decreased rapidly too. No death appeared after 40h at the concentration of 5×10^{-6} .