

牛奶三聚氰胺污染的毒性作用研究进展

李生涛

(河南省南阳农业学校, 河南 南阳 473000)

摘要: 牛奶三聚氰胺污染对人类健康造成了极大的危害, 引起了世界范围的高度关注。综述了牛奶三聚氰胺污染的原因及近年来对三聚氰胺毒性作用的研究进展, 为牛奶三聚氰胺污染的防治提供参考。

关键词: 三聚氰胺; 毒性作用; 牛奶; 乳制品

中图分类号: S852.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2014)02-0011-04

Research Progress on Toxicity of Melamine in Milk

LI Sheng-tao

(Henan Nanyang Agriculture School, Nanyang 473000, China)

Abstract: The pollution of melamine in milk caused serious damage on human health and attracted extensive attention. In this paper, the pollution reason of milk with melamine and toxicity of melamine were reviewed detailedly to provide reference for the prevention of pollution with melamine.

Key words: melamine; toxic effect; milk; dairy product

2008年,我国爆发了大批婴幼儿因长期食用被三聚氰胺(melamine)污染的奶粉而发生泌尿道结石和肾衰竭并导致6名儿童死亡的毒奶粉事件,使牛奶和乳制品三聚氰胺污染问题成为世界范围的食品公共安全焦点。随后,有关乳制品中三聚氰胺污染现象时有发生:2009年和2010年国内均有三聚氰胺奶粉“重出江湖”的报道^[1];2013年伊朗国内市场上销售的某些品牌的奶粉和液态奶发生三聚氰胺污染^[2]。鉴于牛奶及乳制品中三聚氰胺污染事件引起的严重食品安全问题,三聚氰胺的毒性作用和检测方法引起了国内外学者的广泛关注和重视,对三聚氰胺毒性作用的认识越来越深入,并建立了一系列检测食品三聚氰胺污染的方法^[3-5]。近几年关于其毒性作用的研究取得了很大的进展,最初认为,三聚氰胺的毒性作用仅局限于泌尿系统,随后相继发现了三聚氰胺对其他组织器官的毒性作用,包括中枢神经系统^[6],并对其毒性作用的发生机制进行了大量深入研究。对近年来牛奶及乳制品中三聚氰胺

污染的毒性作用研究进展进行了综述,为牛奶三聚氰胺污染的防治提供参考。

1 牛奶及乳制品中三聚氰胺污染的原因

牛奶及乳制品中三聚氰胺污染的主要原因是为了虚假提高产品中蛋白质含量而进行的人为非法添加^[7],因而牛奶及乳制品中的蛋白质含量是评定其质量优劣的重要营养指标之一。蛋白质含量测定的常用方法是凯氏定氮法:蛋白质是复杂的含氮有机化合物,通过测定样品中氮元素的含量再乘以蛋白质系数来间接表示样品中的蛋白质含量。这种方法的缺点是不能有效区别样品中的蛋白氮与非蛋白氮,只要添加一些含氮量高的物质就可提高样品中的蛋白质检测值。三聚氰胺分子式为 $C_3H_6N_6$,分子量为126.16,含氮量可达66.67%,是纯白色单斜棱晶体,无异味,形态酷似蛋白粉,成本低廉,被称为蛋白精。不法分子利用检测方法的局限性将其作为蛋白质替代品添加到饲料、不合格的牛奶及乳制品

收稿日期:2013-09-20

作者简介:李生涛(1964-),男,河南镇平人,高级讲师,硕士,主要从事乳品检验、猪病诊断研究。

E-mail:Liboya1234@163.com

中以提高其蛋白质测定值^[1]。

此外,奶牛饲料中三聚氰胺污染也可能是导致牛奶三聚氰胺污染的一个因素。Battaglia 等^[8]、Sun 等^[9]研究表明,给奶牛饲喂三聚氰胺污染的饲料之后也可在其所产的牛奶中检测出三聚氰胺,并且与饲料中三聚氰胺的含量呈高度相关性。

2 三聚氰胺产生毒性作用的机制

研究表明,三聚氰胺与其同系物三聚氰酸具有协同毒性,两者单独存在时,毒性均很低,共同存在时则可引起较为严重的毒性作用^[10-11]。在 2004 年、2007 年美国爆发的猫、狗出现肾结石和肾衰竭的宠物中毒事件中,人们发现宠物饲料中同时含有三聚氰胺和三聚氰酸,并认为这 2 种物质同时污染饲料是宠物中毒的主要原因。但在 2008 年中国发生的毒奶粉事件中,污染的婴幼儿配方奶粉中仅发现了三聚氰胺,未检测到三聚氰酸^[12]。2013 年,Zheng 等^[13]发表了三聚氰胺产生肾毒性的作用机制:三聚氰胺产生的肾毒性是由肠道微生物介导的。研究发现,在用抗生素抑制大鼠的肠道微生物活性后,三聚氰胺对大鼠的肾毒性明显减弱,并且排泄物中三聚氰胺含量增加。体外试验进一步证实,三聚氰胺可以被实验动物粪便中培养出的肠道细菌所降解,这些肠道菌利用三聚氰胺作为氮源进行生物降解,通过连续脱氨基作用逐步形成三聚氰酸二酰胺、三聚氰酸一酰胺、三聚氰酸;通过 16S 核糖体 DNA 序列分析确定这些肠道菌主要为克雷伯菌属的细菌。将克雷伯菌属细菌定植于大鼠的肠道中,发现三聚氰胺的肾毒性显著增加,肾脏中的结石数目增多,并且在给大鼠饲喂只含三聚氰胺的饲料后,可以在肾脏中检出三聚氰酸,且其浓度随着克雷伯菌属细菌数的增多而增加。研究者随后通过肾脏中三聚氰胺、三聚氰酸、尿酸的比例以及体外重结晶试验,推断出三聚氰胺在肾脏中形成结石的动态过程,即三聚氰胺和三聚氰酸首先结合形成晶核,继而形成三聚氰胺-三聚氰酸-尿酸的共结晶,结石堵塞肾小管导致肾脏中毒。

3 三聚氰胺的毒性作用

3.1 泌尿毒性

泌尿系统是三聚氰胺产生毒性作用的主要靶器官。早在 1984 年 Melnick 等^[14]就通过 F344 大鼠和 B₆C₃F₁ 小鼠来研究三聚氰胺的亚慢性(试验期

为 13 周)和慢性(试验期为 103 周)毒性作用。结果表明,攻毒的大鼠和小鼠的泌尿道均有损伤,雄性动物膀胱结石的发生率比雌性动物高,在亚慢性毒性试验中攻毒的雄性动物的膀胱结石和膀胱上皮组织增生的发病率较高,且膀胱上皮有溃疡发生。在慢性毒性试验中,雄性动物的膀胱移行细胞癌的发生率显著高于雌性动物,并且 8 只发生膀胱移行细胞癌的动物中有 7 只同时也发生了膀胱结石,攻毒浓度为 2 250 mg/kg 组的大鼠在发生膀胱结石时未发生膀胱癌,攻毒浓度为 4 500 mg/kg 和 9 000 mg/kg 组的动物肾脏慢性炎症的发生率较高,攻毒浓度为 2 250 mg/kg 和 4 500 mg/kg 组的动物膀胱的急性和慢性炎症以及膀胱上皮细胞增生的发生率较高。2007 年,在美国宠物中毒事件中死亡的猫的临床症状和解剖结果也表明,三聚氰胺的毒性主要在泌尿系统,其症状主要有食欲不振、呕吐、尿频、昏睡、氮质血症等;病理解剖发现,肾远曲小管和集合管内有条纹状结晶形成,肾远曲小管坏死和再生,肾包膜下的血管周围炎症、纤维化和血管内纤维蛋白性血栓形成^[15]。大量的研究调查显示,在 2008 年我国发生的大量婴幼儿患泌尿道结石和肾衰竭是由三聚氰胺引起的^[16-17]。

3.2 神经毒性

近年来研究发现,三聚氰胺对幼年动物的中枢神经系统具有毒性作用。Wang 等^[18]的体外试验研究表明,三聚氰胺对海马神经元具有毒性作用,将质量浓度为 312 μg/mL 的三聚氰胺作用于培养的海马神经元 12 h 后发现,细胞发生了病理性改变,表现为:细胞皱缩,染色质浓缩,并可见不溶性代谢产物;细胞内 Ca²⁺ 荧光强度和 caspase-3 活性增强,由于 caspase-3 是细胞凋亡中的关键因子,说明三聚氰胺可以促进海马神经元的凋亡。海马与学习记忆等认知功能密切相关。An 等^[19]、Yang 等^[20]模拟婴幼儿长期服用三聚氰胺奶粉的情况,对断奶大鼠连续 4 周以 300 mg/kg 的剂量进行灌胃,应用模型大鼠进行 Morris 水迷宫测试,结果表明,模型组大鼠的学习能力受到损伤,记忆和准确性受到影响。

3.3 生殖毒性

三聚氰胺对动物的生殖系统具有毒性作用。Yin 等^[21]对雄性小鼠用不同剂量的三聚氰胺单独攻毒和不同剂量的三聚氰胺、三聚氰酸联合攻毒,攻毒小鼠的睾丸组织均出现不同程度的病理损伤,损伤程度与攻毒剂量呈相关性。单独三聚氰胺攻毒组

小鼠在高剂量时[50 mg/(kg·d)]精原细胞凋亡程度明显增大,并且精子异常;三聚氰胺和三聚氰酸联合攻毒组小鼠在低剂量时[1 mg/(kg·d)]就对睾丸产生了明显的毒性作用,精原细胞凋亡程度比单独三聚氰胺攻毒小鼠严重。Lv 等^[22]的研究也表明,三聚氰胺和三聚氰酸联合暴露可致小鼠睾丸组织坏死、生精小管破裂、生精细胞减少。

3.4 致癌毒性

三聚氰胺的致癌毒性作用研究仅靠动物试验来进行,目前不能确定三聚氰胺对实验动物是否具有直接致癌作用,但其可诱导实验动物肿瘤的发生。Okumura 等^[23]连续 36 周给 F344 雄性大鼠饲喂不同含量的三聚氰胺饲料,结果表明:饲喂 1%和 3%三聚氰胺组大鼠的膀胱癌发生率分别为 5%和 79%,乳头状肿瘤的发生率分别为 5%和 63%;饲喂含 3%三聚氰胺的饲料能导致大鼠膀胱结石的形成,并能诱发膀胱肿瘤和输尿管肿瘤,膀胱结石的发病率与肿瘤的发病率呈正比。Ogasawara 等^[24]也得出了相似的结果,且认为三聚氰胺诱导的实验动物泌尿道肿瘤是由结石颗粒对黏膜的刺激间接造成的,而不是三聚氰胺或其代谢产物和膀胱上皮细胞之间的相互作用引起的。

3.5 遗传毒性

DNA 是生物遗传物质的载体,亲代遗传信息通过 DNA 复制传递给子代,从而保持物种的延续。一旦 DNA 发生损伤,就会导致遗传信息丢失或改变,影响遗传稳定性。卢静^[25]以不同浓度的三聚氰胺、三聚氰酸以及三聚氰胺与三聚氰酸的混合物分别处理人胚肾细胞,用 γ H2AX 焦点免疫荧光法和彗星试验法检测处理细胞的 DNA 损伤情况,结果表明,用三聚氰胺和三聚氰酸单独处理人胚肾细胞时,不会产生 DNA 损伤,无遗传毒性;而当三聚氰胺和三聚氰酸混合暴露时,处理的人胚肾细胞出现了 DNA 损伤,表明产生了遗传毒性。

4 小结

牛奶营养丰富,是接近完美的食品,被人们称为白色血液。但是,2008 年我国的婴幼儿毒奶粉事件使牛奶三聚氰胺污染成为世界范围关注的焦点,其对牛奶产业产生的恶劣影响至今仍难以消除。人们对三聚氰胺的毒性作用及其机制进行了大量的研究。目前,关于三聚氰胺毒性作用的认识越来越深入,三聚氰胺的多器官、多系统毒性作用相继被证

实,对于其毒性作用机制也有了更进一步的认识,但仍需进行大量深入细致的研究。

参考文献:

- [1] 崔福洲. 剖析三聚氰胺乳粉构筑食品诚信建设长堤[J]. 中国化工贸易,2012(1):218-219.
- [2] Hassani S, Tavakoli F, Amini M, *et al.* Occurrence of melamine contamination in powder and liquid milk in market of Iran[J]. Food Addit Contam Part A Chem Control Expo Risk Assess,2013,30(3):413-420.
- [3] 王林琰,李绍钰. 饲料中添加三聚氰胺的危害与控制措施[J]. 河南农业科学,2009(4):127-128.
- [4] 郑洁,周兵,邵康群,等. 三聚氰胺分光光度法快速检测研究[J]. 现代农业科技,2011(4):342-343.
- [5] 王顺来,王自良. 动物性食品三聚氰胺污染检测技术研究进展[J]. 现代农业科技,2011(18):353-355.
- [6] Wei Y, Liu D. Review of melamine scandal; Still a long way ahead[J]. Toxicol Ind Health,2012,28(7):579-582.
- [7] Gossner C M, Schlundt J, Ben Embarek P, *et al.* The melamine incident; Implications for international food and feed safety[J]. Environ Health Perspect,2009,117(12):1803-1808.
- [8] Battaglia M, Cruywagen C W, Bertuzzi T, *et al.* Transfer of melamine from feed to milk and from milk to cheese and whey in lactating dairy cows fed single oral doses[J]. J Dairy Sci,2010,93(11):5338-5347.
- [9] Sun P, Wang J Q, Shen J S, *et al.* Residues of melamine and cyanuric acid in milk and tissues of dairy cows fed different doses of melamine[J]. J Dairy Sci,2011,94(7):3575-3582.
- [10] Dorne J L, Doerge D R, Vandebroek M, *et al.* Recent advances in the risk assessment of melamine and cyanuric acid in animal feed[J]. Toxicol Appl Pharmacol,2013,270(3):218-229.
- [11] Reimschuessel R, Giesecker C M, Miller R A, *et al.* Evaluation of the renal effects of experimental feeding of melamine and cyanuric acid to fish and pigs[J]. Am J Vet Res,2008,69(9):1217-1228.
- [12] Skinner C G, Thomas J D, Osterloh J D. Melamine toxicity[J]. J Med Toxicol,2010,6(1):50-55.
- [13] Zheng X, Zhao A, Xie G, *et al.* Melamine-induced renal toxicity is mediated by the gut microbiota[J]. Sci Transl Med,2013,5(172):172ra22.
- [14] Melnick R L, Boorman G A, Haseman J K, *et al.* Uro-

- lithiasis and bladder carcinogenicity of melamine in rodents[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1984, 72(2): 292-303.
- [15] Cianciolo R E, Bischoff K, Ebel J G, *et al.* Clinicopathologic, histologic, and toxicologic findings in 70 cats inadvertently exposed to pet food contaminated with melamine and cyanuric acid[J]. *J Am Vet Med Assoc*, 2008, 233(5): 729-737.
- [16] Chang H, Shi X, Shen W, *et al.* Characterization of melamine-associated urinary stones in children with consumption of melamine-contaminated infant formula [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(11/12): 985-991.
- [17] Shi G Q, Wang Z J, Feng Z J, *et al.* A survey of urolithiasis in young children fed infant formula contaminated with melamine in two townships of Gansu, China[J]. *Biomed Environ Sci*, 2012, 25(2): 149-155.
- [18] Wang Y, Liu F, Wei Y, *et al.* The effect of exogenous melamine on rat hippocampal neurons[J]. *Toxicol Ind Health*, 2011, 27(6): 571-576.
- [19] An L, Li Z, Yang Z, *et al.* Cognitive deficits induced by melamine in rats[J]. *Toxicol Lett*, 2011, 206(3): 276-280.
- [20] Yang J, An L, Yao Y, *et al.* Melamine impairs spatial cognition and hippocampal synaptic plasticity by presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in infant rats[J]. *Toxicology*, 2011, 289(2/3): 167-174.
- [21] Yin R H, Wang X Z, Bai W L, *et al.* The reproductive toxicity of melamine in the absence and presence of cyanuric acid in male mice[J]. *Res Vet Sci*, 2013, 94(3): 618-627.
- [22] Lv Y, Liu Z, Tian Y, *et al.* Effect on morphology, oxidative stress and energy metabolism enzymes in the testes of mice after a 13-week oral administration of melamine and cyanuric acid combination [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2013, 65(2): 183-188.
- [23] Okumura M, Hasegawa R, Shirai T, *et al.* Relationship between calculus formation and carcinogenesis in the urinary bladder of rats administered the nongenotoxic agents thymine or melamine[J]. *Carcinogenesis*, 1992, 13(6): 1043-1045.
- [24] Ogasawara H, Imaida K, Ishiwata H, *et al.* Urinary bladder carcinogenesis induced by melamine in F344 male rats; Correlation between carcinogenicity and urolith formation[J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16(11): 2773-2777.
- [25] 卢静. 三聚氰胺与三聚氰酸混合物毒理学效应的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.