



Autorin: Dr. Marianne Erbs

Untersuchungen von Zuchtfischen auf farbige Aquakulturwirkstoffe

Anzahl untersuchte Proben: 42

Anzahl beanstandete Proben: 2

Ausgangslage

Seit den 1970ern gehört die Aquakultur zu einem der am schnellsten wachsenden Lebensmittelproduktionssektoren der Welt. Um die steigende Nachfrage nach Speisefisch und Meeresfrüchten erfüllen zu können, werden in Aquafarmen global derzeit gleich viele Fische gezüchtet, wie die Fischerei wildlebende Fische fängt. Im engen Zuchtbecken der Monokulturen ist das Risiko eines Ausbruchs von Krankheiten im Fischbestand erhöht. Folglich werden Medikamente eingesetzt, um Parasiten, Pilze und Bakterien in Aquakulturen zu bekämpfen. Die Wirkstoffe werden mit dem Fischfutter verabreicht oder direkt ins Wasser der Fischanlage gegeben.



Malachitgrün, Kristallviolett und Brillantgrün sind synthetische Verbindungen mit leuchtender Farbkraft, die zur Gruppe der Triarylmethane gehören. Diese Farbstoffe werden verwendet um eine Reihe von Materialien wie z.B. Textilien, Leder- und Papierprodukte sowie Zellen in der mikroskopischen Diagnostik zu färben. Daneben werden sie zur therapeutischen Behandlung von Zierfischen und Zierfischeiern gegen Parasiten, Pilzbefall und bakterielle Infektionen angewandt. Nach der Verabreichung werden die Substanzen von den Fischen rasch aufgenommen und zu den farblosen schwer wasserlöslichen Leukoformen verstoffwechselt. Diese Rückstände können noch Monate nach der Anwendung im Fettgewebe des Fisches nachgewiesen werden. Sowohl Malachitgrün und Leukomalachitgrün als auch Kristallviolett und Leukokristallviolett stehen im begründeten Verdacht, krebserregend und erbgutschädigend zu sein. Demzufolge sind diese Wirkstoffe in der Speisefischproduktion seit einigen Jahren in vielen Ländern nicht zugelassen. Die regelmässigen Meldungen im EU-Schnellwarnsystem (RASFF - The Rapid Alert System for Food and Feed) über Speisefischprodukte, welche mit Malachitgrün oder Kristallviolett bzw. ihren Leukoformen verunreinigt sind, deuten auf eine illegale Anwendung hin. Nach dem Jahr 2005 ist jedoch eine deutliche Abnahme von Meldungen betreffend Malachitgrün im RASFF zu vermerken. Dies könnte ein Hinweis auf neue Anwendungen von alternativen Wirkstoffen sein, die als Ersatz für Malachitgrün in Aquafarmen eingesetzt werden.

Analysen, welche sich auf bekannte oder erwartete Wirkstoffe beschränken, können nur solche Zielsubstanzen aufdecken. Bisher angewendete Nachweisverfahren waren auf eine geringe Anzahl Triphenylmethanverbindungen limitiert und heute noch werden mit vielen Methoden lediglich Malachitgrün und Leukomalachitgrün bestimmt. Neben Malachitgrün, Kristallviolett und Brillantgrün gibt es eine Reihe von strukturverwandten Verbindungen, die möglicherweise ähnliche Ei-

genschaften aufweisen können. Dazu gehören weitere Triarylmethane und deren farblosen Leukoformen (z.B. Ethylviolett, Viktoriablauf-Formen) sowie Vertreter aus den Substanzgruppen Xanthene (z.B. Rhodamine), Phenothiazine (z.B. Methylenblau) und Phenoxazine (z.B. Nilblau). Das Kantonale Laboratorium Basel-Stadt hat zuletzt im Jahr 2001 Zuchtfischprodukte auf chromophore Aquakulturwirkstoffe untersucht. Mit dem damaligen Messverfahren wurden Malachitgrün und Leukomalachitgrün bestimmt. Die farblose Leukoform wurde dabei zu ihrer chromophoren Form (Malachitgrün) oxidiert und mittels VIS-Spektralphotometrie detektiert. Im Berichtsjahr wurde eine neue LC-MSMS-Methode implementiert, die ein wesentlich breiteres Spektrum an bekannten bzw. potentiellen Aquakulturwirkstoffen abdeckt. Die massenspektrometrische Detektion ermöglicht den Nachweis von 20 Zielkomponenten bis in den Spurenbereich von wenigen µg/kg sowie eine direkte und individuelle Bestimmung der farblosen Leukoformen.

Untersuchungsziele

Mit dieser Kampagne wollten wir eine aktuelle Marktübersicht über allfällig verwendete unerlaubte chromophore Aquakulturwirkstoffe in gezüchteten Speisefischen, Meeresfrüchten und Roggen erhalten.

Gesetzliche Grundlagen

In der Schweiz wurde 2002 in der Fremd- und Inhaltsstoffverordnung (FIV, SR 817.021.23) ein Toleranzwert von 10 µg/kg für Malachitgrün inkl. Leukofarbstoff in Fischen eingeführt. Dieser Wert entsprach dem damaligen EU-Grenzwert und war noch bis Ende 2008 in der Schweiz gültig. Seither sind diese Substanzen de facto unerlaubt. Mit der Totalrevision der FIV in 2017 wurde eine neue Verordnung über Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe und Futtermittelzusatzstoffe in Lebensmitteln tierischer Herkunft (VRLtH, SR 817.022.13) geschaffen. Damit hat die Schweiz eine Harmonisierung mit dem EU-Recht vorgenommen. Die VRLtH definiert den sogenannten Referenzwert für Massnahmen. Hierbei handelt es sich um den Rückstandswert eines pharmakologisch wirksamen Stoffes, für den kein Rückstandshöchstgehalt festgelegt werden kann, da er nicht zugelassen ist. Dieser Referenzwert entspricht dem Eingreifwert der EU (RPA – Reference Point for Action). Für die Summe von Malachitgrün und Leukomalachitgrün beträgt er 2,0 µg/kg in Fleisch von Erzeugnissen der Aquakultur und deckt sich mit der in der EU geforderten Mindestleistungsgrenze (MRPL – Minimum Required Performance Level). Die MRPL ist der Mindestgehalt eines Analyten in einer Probe, der mindestens nachgewiesen und bestätigt werden muss. Die MRPL ist eine reine Leistungsanforderung an die Analysenmethode und darf nicht mit der toxikologisch abgeleiteten Rückstandshöchstmenge (MRL - Maximum Residue Limit) verwechselt werden.

In der Schweiz existieren derzeit keine offiziellen Eingreifwerte für Kristallviolett und Leukokristallviolett oder sonstige mögliche chromophore Aquakulturwirkstoffe. Hier gilt das Prinzip der Nulltoleranz. Im weiteren muss gemäss Art. 19 der Verordnung des EDI über Lebensmittel tierischer Herkunft (VLtH, SR 817.022.108) für den Verbraucher ersichtlich sein, ob der Fisch aus Aquakultur oder Wildfang im Meer oder aus Binnenfischerei stammt.

Probenbeschreibung

In sieben Basler Lebensmittel- und Delikatessenläden wurden 42 Fischereierzeugnisse aus 15 Ländern erhoben. Dabei handelte es sich ausschliesslich um Produkte aus Aquakulturen. Unter den Speisefischen (36) befanden sich Fischwaren, die ganz (4), filetiert (31), geräuchert (11), frisch (Offenverkauf; 16), tiefgeföhlt (12) und/oder verarbeitet (1) waren.

Herkunft	Anzahl Proben
China	1
Ecuador-Honduras	1
Frankreich	1
Panama	1
Spanien	1
Türkei	1
Deutschland	2
Griechenland	2
Malaysia	2
Polen	2
Schottland	3
Norwegen	4
Dänemark	5
Schweiz	6
Vietnam	10
Total	42

Fischart	Anzahl Proben
Buntbarsch	1
Cobia	1
Felchen	1
Kaviar	1
Südostasiatischer Karpfen	1
Wolfsbarsch	1
Egli (Flussbarsch)	2
Red Snapper	2
Goldbrasse	2
Pangasius	5
Crevetten	5
Lachs	9
Regenbogenforelle	11
	42

Prüfverfahren

Eine neue Methode wurde implementiert um 18 bekannte bzw. potentielle chromophore Aquakulturwirkstoffe und zwei farblose Metaboliten in gezüchteten Fischereierzeugnissen quantitativ bestimmen zu können. Die Substanzen werden mit saurem Acetonitril aus der Matrix extrahiert und unlösliche Anteile abzentrifugiert. Der Überstand wird anschliessend verdünnt, filtriert und mittels Kopplung von Flüssigchromatographie und Tandem-Massenspektrometrie (LC-MSMS) analysiert. Die Analysemethode erfüllt die von der EU geforderte Mindestleistungsgrenze (MRPL) von 2,0 µg/kg Probe (Summe von Malachitgrün und Leukomalachitgrün).

Ergebnisse und Massnahmen

In einem tiefgekühlten Karpfenfisch aus Vietnam waren 2,0 µg/kg Leukomalachitgrün nachweisbar. Gemäss Datierung des Produktes lag es zur Zeit der Probenahme seit 14 Monaten im Tiefkühler. Frischer Cobia aus Panama enthielt 1,2 µg/kg Leukokristallviolett. In beiden Fällen war die jeweilige Vorläufersubstanz im Fisch nicht mehr nachweisbar. Die Leukoformen (farblose reduzierte Form) haben eine längere biologische Halbwertszeit in Fisch als ihre chromophoren Vorläuferverbindungen (farbige oxidierte Form). Da Fische aus Aquakulturen unter kontrollierten Bedingungen gehalten werden, ist der Nachweis einer Leukoform in derartigen Proben immer als Hinweis auf einen möglichen illegalen Einsatz des Ausgangsstoffs zu werten, auch wenn die jeweilige Vorläufersubstanz im Fisch nicht mehr detektierbar ist. Beide Produkte wurden als nicht verkehrsfähig eingestuft und mit einem Verkaufsverbot belegt. In allen anderen untersuchten Proben konnten keine der geprüften Aquakulturwirkstoffe detektiert werden.

Schlussfolgerungen

Aufgrund von Fortschritten in der chemischen Analytik ist die vorliegende direkte Bestimmung von zwei Leukoformen im unteren Spurenbereich möglich geworden. Die Ergebnisse dieser Kampagne deuten darauf hin, dass chromophore Wirkstoffe immer noch in Aquafarmen verwendet werden. Der Einsatz scheint auf wenige Wirkstoffe begrenzt zu sein und in den meisten Fällen werden die rechtlichen Vorgaben eingehalten. Das Kantonale Laboratorium Basel-Stadt wird die Situation mit weiteren Marktkontrollen verfolgen.