

# 鱼肉中 LMG 的分子印迹仿生 ELISA 检测方法

彭爱红, 王茜雅, 林郑忠, 陈晓梅, 黄志勇

(集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 针对水产品中隐性孔雀石绿 (leuco malachite green, LMG) 残留的问题, 建立了鱼肉中 LMG 的分子印迹仿生酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测方法。以 LMG 为模板分子, 在 pH=8.5 的 Tris-HCl 介质中, 多巴胺 (dopamine, DA) 经氧化自聚合 4 h 即可在微孔板表面形成聚合物膜, 经 V(甲醇): V(乙酸)=9:1 混合溶液洗脱模板分子后, 形成 LMG 分子印迹聚合物膜 (membrane of molecularly imprinted polymer, MIP)。以 LMG-MIP 膜为仿生抗体, 建立了鱼肉中 LMG 残留的仿生 ELISA 检测方法。该方法灵敏度为 5.18  $\mu\text{g/L}$ , 检出限达 0.03  $\mu\text{g/L}$ 。利用隐性结晶紫和孔雀石绿这 2 种 LMG 的结构类似物进行方法的特异性试验, 交叉反应率为 21.3%。实际样品加标回收实验表明, 方法的回收率为 71.8%~73.5%, RSD $\leq$ 4.2%。结果表明, 该检测方法可用于鱼肉中 LMG 残留的快速筛查。

**[关键词]** 隐性孔雀石绿; 酶联免疫吸附法; 分子印迹仿生抗体; 鱼肉

**[中图分类号]** S 948; TS 201.6

## Detection of Leuco Malachite Green in Fish by Biomimetic ELISA Method

PENG Aihong, WANG Xiya, LIN Zhengzhong, CHEN Xiaomei, HUANG Zhiyong

(College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** For the detection of leuco malachite green (LMG) in aquatic products, a biomimetic ELISA method was established based on the biomimetic antibody membrane of molecularly imprinted polymer (MIP). Using LMG as template molecules, the LMG-MIP membrane could be formed on the surface of microplates through the dopamine (DA) self-polymerization for 4 h in Tris-HCl (pH=8.5). After elution of LMG by methanol-acetic acid at the volume ratio of 9:1, the LMG-MIP membrane on microplates could be used as biomimetic antibody of LMG in ELISA. The sensitivity estimated with  $IC_{50}$  was 5.18  $\mu\text{g/L}$  and the detection limit was 0.03  $\mu\text{g/L}$ . The cross-reactivities for two structural analogues of LMG were 21.3% for malachite green. The recovery tested by LMG standard spiking in fish samples ranged from 71.8% to 73.5%, and the average relative standard deviation was less than 4.2%. The results showed that the method could be used for the rapid detection of LMG residues in fish.

**Keywords:** leuco malachite green; ELISA; molecularly imprinted biomimetic antibody; fish

## 0 引言

隐性孔雀石绿 (leuco malachite green, LMG), 又称无色孔雀石绿、二(对二甲氨基苯基)苯基

**[收稿日期]** 2018-01-10

**[基金项目]** 福建省自然科学基金项目 (2015J01615); 福建省科技计划项目 (2016Y0064); 福建省海洋功能食品工程中心开放课题 (C11172); 集美大学创新团队基金项目 (2010A007)

**[作者简介]** 彭爱红 (1968—), 女, 副教授, 硕士, 从事食品安全检测技术方向研究。通信作者: 黄志勇 (1963—), 男, 教授, 博士, 从事食品安全检测技术方向研究。E-mail: zhyhuang@jmu.edu.cn

甲烷, 系三苯甲烷类碱性工业染料孔雀石绿 (malachite green, MG) 的还原产物。由于 MG 具有抑制细菌和寄生虫的作用, 能够抗感染、延长水产品存活时间<sup>[1]</sup>, 因而常被作为杀菌剂和防腐剂非法用于水产养殖中<sup>[2-3]</sup>。但是, 由于 MG 具有潜在的致癌、致畸和致突变作用<sup>[2,4]</sup>, 而且 MG 进入动物机体后, 通过生物转化会快速代谢生成性质更稳定、毒性更强的脂溶性的 LMG<sup>[5-6]</sup>, 对人体生殖系统和免疫系统危害极大<sup>[7-8]</sup>。鉴于 MG 和 LMG 的危害, 美国、加拿大、日本和欧盟等都禁止在水产养殖中使用 MG, 我国政府也于 2002 年将 MG 列入《食品动物禁用的兽药及其化合物清单》中, 禁止将 MG 用于所有食品动物的养殖及运输过程<sup>[9]</sup>。由于 LMG 比 MG 在水产品中的残留时间更长, 因而其危害更大。为了更准确地对水产品中的 MG 残留进行监控, 研究 LMG 残留的快速检测方法很有必要。

目前, MG 残留的快速检测方法主要是酶联免疫法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[10-12]</sup>, 但现有的商品化的 ELISA 检测试剂盒主要是以 MG 为靶标, 不能直接检测 LMG, 因而需将 LMG 转变成 MG, 使样品前处理变得复杂, 且转化率难以控制<sup>[13]</sup>。分子印迹聚合物 (molecular imprinted polymers, MIPs) 具有类似生物抗体的高特异性结合反应, 能够人工设计合成<sup>[14]</sup>。利用 MIPs 作为仿生抗体, 可以使得 ELISA 检测更加简便、易于推广<sup>[15]</sup>。但由于常用的聚苯乙烯微孔板难以耐受乙腈、丙酮等有机溶剂, 用传统的 MIPs 制备方法会不同程度地损坏微孔板而影响测定。因此, 本文利用多巴胺 (dopamine, DA) 氧化-自聚合的原理, 以 pH = 8.5 的 Tris-HCl 溶液为介质, DA 在溶解氧的作用下发生自聚合, 在微孔板表层形成富含邻苯二酚基团, 能强力附着于固体材料的聚多巴胺层<sup>[16]</sup>。以 LMG 为模板分子, 在 96 孔板表层制备了 LMG-MIP 膜, 以此膜为仿生抗体, 建立了用于水产品中 LMG 快速检测的仿生 ELISA 法。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

MB-100-4A 微孔板振荡器 (杭州奥盛仪器有限公司); Spectra Max plus 384 酶标仪 (美谷分子仪器有限公司); FD-1D-50 真空冷冻干燥箱 (北京博医康实验仪器有限公司); HH-1 数显恒温水浴锅 (江苏省金坛市环宇科学仪器厂); pH 211C pH 计 (意大利哈纳有限公司); 96 孔酶标板 (厦门市绿茵试剂玻仪有限公司)。

MG, AR, 西陇化工股份有限公司; LMG, AR, Aladdin; 过硫酸铵, AR, 广东光华科技股份有限公司; 盐酸多巴胺, AR, Macklin; 辣根过氧化物酶 (HRP), AR, Aladdin; N, N-二甲基甲酰胺 (DMF), AR, 西陇化工股份有限公司; 三羟甲基氨基甲烷, BR, Aladdin; 其他试剂均为国产分析纯, 实验用水均为 18.2 MΩ·cm 超纯水, 鲈鱼样品购买于集美新华都超市。

### 1.2 LMG 仿生抗体分子印迹膜的制备

在 96 孔板内, 每孔加入 200 μL 1 mol/L 过硫酸铵溶液, 40 ℃ 水浴加热 1 h, 用超纯水超声清洗微孔板 10 min, 烘箱干燥后得到羟基化的微孔板。取一定量的 LMG (200 mg/L) 无水乙醇溶液于烧杯中, 按体积比 1:1 加入 2 g/L 多巴胺溶液 (Tris-HCl 配制, pH = 8.5), 混匀后加入羟基化的微孔板中, 每孔 300 μL, 将微孔板置于微孔板振荡仪上室温振荡 4 h。弃微孔板溶液, 将微孔板置于 V(甲醇): V(乙酸) = 9:1 混合溶液中, 超声波振荡清洗模板分子至少 3 次, 每次 15 min, 最后用超纯水清洗至中性, 于 60 ℃ 烘箱干燥, 即得到 LMG-MIP 膜微孔板。非印迹膜 (NIPs) 微孔板的制备除不加入模板分子 LMG 外, 其余步骤同 MIPs 的制备方法。

### 1.3 LMG 酶标抗原的合成

因 LMG 分子不含有羧基和氨基等活性基团与蛋白质偶联, 因此必须对 LMG 半抗原进行结构改造引入羧基或氨基。参考 Yang 等<sup>[17]</sup>的方法制备羧基化隐性孔雀石绿。于圆底烧瓶中加入 2.4 mL DMF (19 mmol/L)、900 mg 对甲酰基苯甲酸 (6 mmol/L)、2.4 g 无水 ZnCl<sub>2</sub> (18 mmol/L) 和 60 mL 无水乙醇, 超声振荡混合后, 氮气下加热回流。反应结束后, 加入 30 mL 甲醇, 超声混匀, 再加入少量氨水产

生浅绿色沉淀, 沉淀用超纯水清洗, 真空干燥后即得到浅绿色粉末状的羧基化隐性孔雀石绿。

称取 2 mg 羧基化 LMG 粉末, 加入 1 mL 质量分数 20% DMF, 磁力搅拌下加入 33  $\mu\text{L}$  碳二亚胺 (EDC, 2 g/L) DMF 溶液, 待溶解并混匀后, 用稀醋酸调 pH 值至 5.0, 加入 7.5 mg HRP, 混匀后, 用氨水调 pH 值至中性, 室温下反应 3 h, 即得到 LMG-HRP 酶标抗原, 于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

为了检测酶标抗原是否偶联成功, 分别将 HPR、半抗原羧基化孔雀石绿、酶标抗原 LMG-HPR 的偶联物等溶液进行紫外-可见光谱扫描, 比较三者的特征峰值, 以验证偶联反应的发生。

#### 1.4 LMG 仿生 ELISA 方法的建立

用  $V(\text{无水乙醇}):V(\text{水})=3:1$  混合溶液配制质量浓度为 0.1, 1, 10, 100, 1000  $\mu\text{g/L}$  LMG 标准溶液, 在 LMG-MIPs 孔板中每孔加入 200  $\mu\text{L}$  标准溶液, 室温振荡 1 h 后, 弃去溶液。迅速在每孔加入 200  $\mu\text{L}$  用磷酸缓冲溶液稀释 800 倍的 LMG 酶标抗原溶液 (2 g/L), 室温继续振荡 1 h, 待反应结束后洗净孔板。加入 150  $\mu\text{L}$  20 mmol/L 邻苯二胺 (OPD) 显色液于每孔中并振荡 30 min, 再加入 50  $\mu\text{L}$  硫酸 (2 mol/L) 作为终止液, 振荡 1 min 后, 于酶标仪中测定微孔板中溶液在 492 nm 处的吸光度值。以不加 LMG 的孔板为对照组。

以 LMG 浓度的对数值为横坐标, 以抗原抗体分子间结合反应的抑制率 (即样品组的平均吸光度值与对照组的平均吸光度值之比) 为纵坐标, 绘制仿生 ELISA 标准曲线。

#### 1.5 选择性试验

选择隐性结晶紫 (leuco crystal violet, LCV) 和 MG 作为 LMG 结构相似物进行方法的特异性试验。交叉反应率 (cross-reactivity, CR) 的计算公式如下:  $\text{CR}/\% = \text{IC}_{50}(\text{LMG})/\text{IC}_{50}(\text{类似物}) \times 100$ 。

#### 1.6 样品的加标回收实验

称取 5.0 g 新鲜鱼肉 (去皮剔骨), 捣碎后加入体积分数 20% 盐酸羟胺 1.5 mL 和 0.05 mol/L 乙酸铵 (pH=4.5) 3.5 mL, 匀浆 5 min。称取 1 g 浆液于 10 mL 离心管中, 加入 10, 20, 50  $\mu\text{L}$  LMG-乙醇溶液 (100  $\mu\text{g/L}$ ), 再加入一定量乙腈, 超声混匀, 离心 (4500 r/min) 10 min, 收集上清液, 重复提取一次, 合并上清液。将提取液吹干, 用 1 mL  $V(\text{无水乙醇}):V(\text{水})=3:1$  混合溶液复溶, 用建立的仿生 ELISA 法测定样品中 LMG 的回收率。

## 2 结果与讨论

### 2.1 96 微孔板的羟基化预处理

常用的聚苯乙烯微孔板具有很强的惰性和疏水性, 用过硫酸铵水相热分解, 可以氧化聚苯乙烯表面, 使其出现氧空位, 继而吸收空气水分, 从而出现表面羟基, 使得表面羟基增多, 以达到亲水改性的目的, 有利于多巴胺表面聚合制备分子印迹膜。

### 2.2 LMG-MIPs 合成条件的优化

#### 2.2.1 模板分子和 DA 的质量比对目标物吸附性能的影响

模板分子 LMG 和 DA 的质量比将影响 MIPs 膜对目标分子的吸附性能。实验以 LMG 为目标物, 用建立的仿生 ELISA 法考察了 LMG 和 DA 的质量比分别为 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 时, LMG-MIP 膜对目标物的吸附性能, 结果如图 1 所示。由图 1 可以看出, 当 LMG 和 DA 的质量比为 1:5 时, 由于 DA 的量较少, 微孔板上形成的位点较少。而当 DA 的量过大时, 虽然吸附量会增加, 但由于聚合程度高形成的

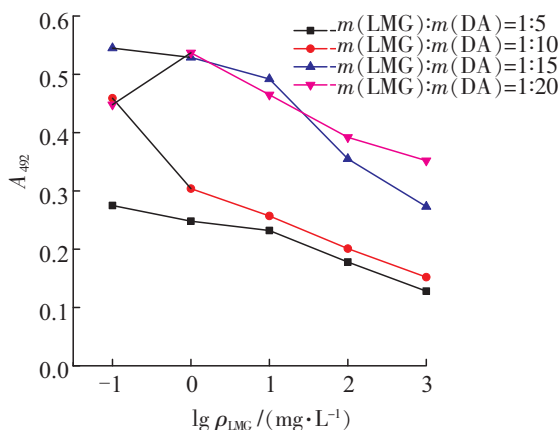


图 1 LMG 和多巴胺的质量比对目标物吸附性能的影响

Fig.1 Effect of the mass ratios of LMG and dopamine in MIP membrane on the adsorption abilities

MIP 膜颜色较深而产生干扰, 且由于形成的 MIP 膜厚导致 LMG 模板分子不易被洗脱, 造成假阳性。因此, 本实验选择 LMG 和 DA 质量比为 1: 10。

2. 2. 2 聚合时间对 MIPs 膜吸附性能的影响

DA 的氧化自聚合时间对 MIP 膜的厚度也产生较大影响, 如聚合时间不够, 则形成有效的孔穴结构少, 从而影响 MIP 对目标物的吸附。而聚合时间过长, 则导致 MIP 膜太厚。实验考察了聚合时间分别为 2, 4, 6, 8 h 对 MIPs 膜吸附性能的影响, 结果如图 2 所示。

由图 2 可见, 当聚合时间为 2 h, 因微孔板上结合位点少, 对 LMG 的检测灵敏度低。而当聚合时间延长至 6, 8 h 时, 微孔板 MIP 膜的吸光度值在 0.6 ~ 1.1, 此时微孔板颜色较深, 干扰较严重 (如图 2b)。当聚合时间为 4 h 时, 微孔板的膜厚适当, 干扰小, LMG-MIP 膜微孔板在 492 nm 处的吸光度值 ( $0.06 \pm 0.006$ ) 与空白板 ( $0.05 \pm 0.005$ ) 相近, 因此采用的聚合时间为 4 h。

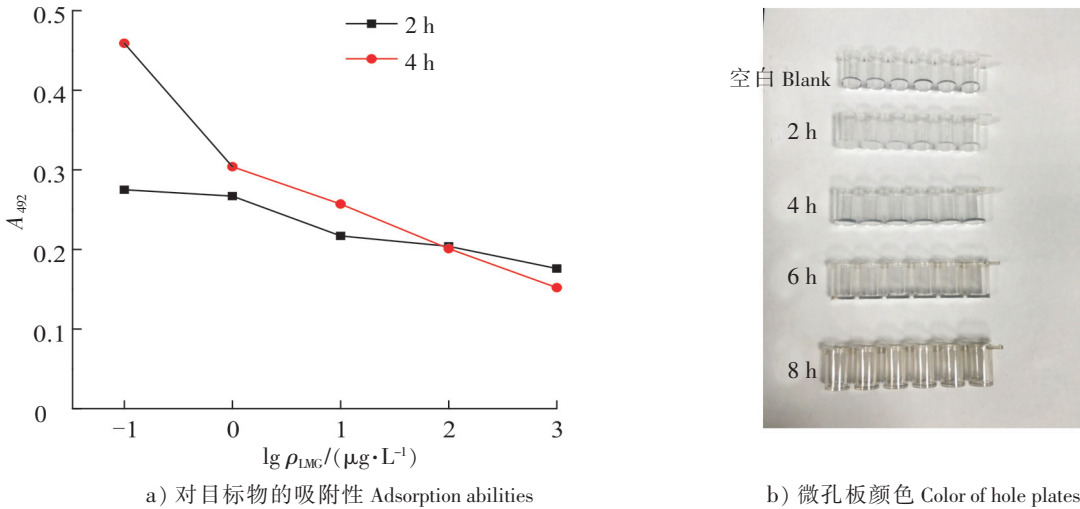


图 2 聚合时间对 MIPs 膜吸附性能的影响  
Fig.2 Effects of polymerization time in MIPs membrane on the adsorption abilities

2. 3 扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 形貌表征

将 96 孔板的合成原料聚苯乙烯板切成 1 cm × 1 cm 的方块, 分别在其表面制备 MIPs 膜和 NIPs 膜, 对空白聚苯乙烯板、MIPs 膜和 NIPs 膜进行 SEM 表征, 结果见图 3。图 3 分别是 96 孔板上空白微孔板 (图 3a)、MIP 膜 (图 3b) 和 NIP 膜 (图 3c) 的 SEM 图。由图 3 可以看出, MIPs 膜和 NIPs 膜平铺于 96 孔板中, 形貌平整。但 MIPs 膜与 NIPs 膜相比有一定的褶皱, 这可能是由于聚合时加入了 LMG, 之后又被洗脱出去的缘故。

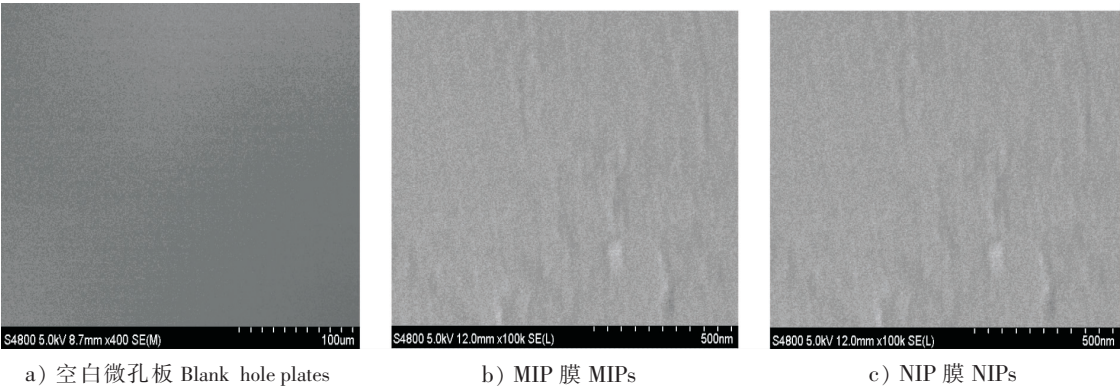


图 3 空白微孔板、MIP 膜和 NIP 膜的扫描电镜图  
Fig.3 SEM images of blank hole plates, MIPs and NIPs



2.4 酶标抗原的表征分析

由图 4 可以看出，羧基化的 LMG 在 230，319，426 nm 处有吸收峰，HRP 在 285，403 nm 处有吸收峰，而酶标抗原 LMG-HRP 在 226，319，426 nm 处有吸收峰，HRP 在 403 nm 处的吸收峰偶联后消失了，而羧基化 LMG 在 319，426 nm 处的吸收峰在偶联后也明显减弱，说明 LMG-HRP 的偶联反应已经发生。

2.5 仿生 ELISA 标准曲线

在优化的实验条件下（模板分子和多巴胺的质量比为 1:10，聚合时间为 4 h），建立了 LMG 仿生 ELISA 方法的标准工作曲线（见图 5），线性方程为  $y = -10.932x + 57.805$ ，相关系数  $r = 0.9953$ 。实验以  $IC_{50}$  值表示方法的灵敏度， $IC_{85}$  表示最低检出限<sup>[10,18]</sup>。由曲线可知，LMG 的  $IC_{50}$  值为 5.18  $\mu\text{g/L}$ ，最低检出限为 0.03  $\mu\text{g/L}$ 。

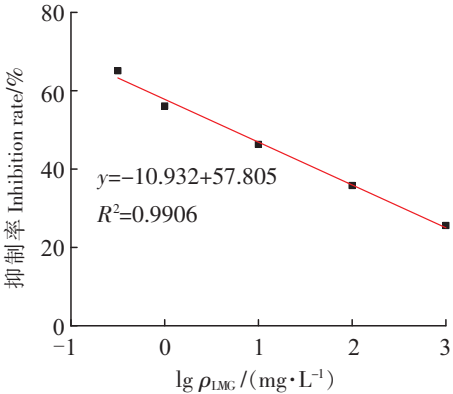
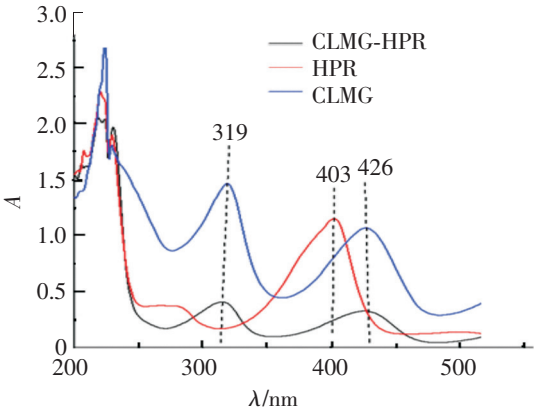


图 4 CLMG、HRP 和酶标抗原的紫外-可见光谱图

图 5 LMG 仿生 ELISA 标准曲线

Fig.4 UV-Vis spectra of CLMG, HRP and CLMG-HRP

Fig.5 Standard working curve of ELISA for LMG detection

2.6 选择性

实验选取 LMG 的两种结构类似物 LCV 和 MG 进行方法的选择性试验。由表 1 可知，所制备的 MIP 膜对 LCV 和 MG 的 CR 较低，分别为 4.2% 和 21.3%，说明微孔板 LMG-MIP 膜在仿生 ELISA 竞争反应中对 LMG 有较好的特异识别能力。

2.7 样品加标回收率

为了验证微孔板 LMG-MIP 膜作为仿生抗体所建立的 ELISA 方法的有效性，用实际鱼肉进行加标回收实验，结果如表 2 所示。

由表 2 可见，回收率为 71.8% ~ 73.5%， $RSD \leq 4.2\%$ 。可见，本文所建立的仿生 ELISA 法能直接检测鱼肉样品中的 LMG 残留量，方法简便快速，可用于水产品中 LMG 的快速筛查。

表 1 LMG 及其类似物的 $IC_{50}$ 和 CR			表 2 样品 LMG 的加标回收测定结果 ( $n=3$ )				
Tab.1 $IC_{50}$ values and CR of LMG and its analogues			Tab.2 Recoveries of LMG in weever by ELISA ( $n=3$ )				
交叉反应物 Competitive compound	$IC_{50}$ / $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	CR/%	样品 Sample	$\rho(\text{LMG})$ / $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	ELISA 测定值 Measured values / $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	回收率 Recoveries rate/%	相对标准偏差 RSD/%
隐性孔雀石绿 LMG	5.0	100	鲈鱼 Weever	1	$0.72 \pm 0.03$	72.3	4.2
隐性结晶紫 LCV	120.2	4.2		2	$1.44 \pm 0.05$	71.8	3.5
孔雀石绿 MG	23.5	21.3		5	$3.68 \pm 0.15$	73.5	4.1

### 3 结论

以 LMG 为模板分子,利用 DA 氧化自聚合在羟基化的微孔板表面制备分子印迹膜,以此 MIP 膜作为仿生抗体,建立了 LMG 仿生 ELISA 检测方法。方法的检出限达到  $0.03 \mu\text{g/L}$ ,对 LCV 和 MG 的交叉反应率分别为 4.2% 和 21.3%。将所建立的方法应用于鱼肉样品中 LMG 的检测,加标回收率为 71.8 ~ 73.5%,  $\text{RSD} \leq 4.2\%$ 。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 杨先乐,喻文娟,王民权,等. 对孔雀石绿的禁用及其思考 [J]. 水产科技情报, 2005, 32(5): 19-22.
- [2] SRIVASTAVA S, SINHA R. Toxicological effects of malachite green [J]. Aquatic Toxicology, 2004, 66(3): 319-329. DOI:10.1016/j.aquatox.2003.09.008.
- [3] 李宁. 孔雀石绿对健康的影响 [J]. 国外医学: 卫生学分册, 2005, 32(5): 262-264.
- [4] 刘军,胡华军,张明洲,等. 渔药孔雀石绿的毒性、危害和检测现状 [J]. 浙江农业学报, 2006, 18(5): 397-400. DOI:10.3969/j.issn.1004-1524.2006.05.027.
- [5] 李秀霞,李娇,孙协军,等. 水产品中孔雀石绿及其代谢产物残留检测方法研究进展 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(3): 385-388, 393. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.03.075.
- [6] TAN Z, XING L, GUO M, et al. Persistence of malachite green and leuco malachite green in perch (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29(3): 647-655. DOI:10.1007/s00343-011-0141-4.
- [7] CULP S J, BLANKENSHIP L R, KUSEWITT D F, et al. Toxicity and metabolism of malachite green and leuco malachite green during short-term feeding to Fischer 344 rats and B6C3F1 mice [J]. Chemico-Biological Interactions, 1999, 122(3): 153-170. DOI:10.1016/S0009-2797(99)00119-2.
- [8] MITTELSTAEDT R A, MEI N, WEBB P J, et al. Genotoxicity of malachite green and leuco malachite green in female Big Blue B6C3F1 mice [J]. Mutation Research, 2004, 561(1/2): 127-138. DOI:10.1016/j.mrgentox.2004.04.003.
- [9] 中华人民共和国农业部. 食品动物禁用的兽药及其它化合物清单: 中华人民共和国农业部公告 193 号 [R]. (2002-04-09) [2018-01-01]. [http://jiuban.moa.gov.cn/zwillm/tzgg/gg/201104/t20110422\\_1976324.htm](http://jiuban.moa.gov.cn/zwillm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976324.htm).
- [10] 李晓丽,陈雪岚,刘春梅,等. 孔雀石绿单克隆抗体的制备及直接竞争 ELISA 方法的建立 [J]. 食品科学, 2009, 30(24): 283-286. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2009.24.061.
- [11] 邢玮玮,王榕妹,王俊卿,等. 酶联免疫吸附分析法测定水产品及水中孔雀石绿和无色孔雀石绿 [J]. 化学研究与应用, 2010, 22(1): 42-46. DOI:10.3969/j.issn.1004-1656.2010.01.009.
- [12] 王宇,杨金易,徐振林,等. 孔雀石绿单克隆抗体制备和酶联免疫检测方法的建立 [J]. 分析化学, 2016, 44(9): 1385-1393. DOI:10.11895/j.issn.0253-3820.160360.
- [13] 黄向荣,钟松清,万译文,等. 快速检测鱼样中隐性孔雀石绿的酶联免疫法研究 [J]. 当代水产, 2014(9): 81-83. DOI:10.3969/j.issn.1674-9049.2014.09.030.
- [14] HAUP K, MOSBACH K. Molecularly imprinted polymers and their use in biomimetic sensors [J]. Chemical Reviews, 2000, 100(7): 2495-2504. DOI:10.1021/cr990099w.
- [15] 吕春晖,王硕,方国臻,等. 分子印迹在仿生免疫吸附分析中的应用 [J]. 化学进展, 2012, 24(5): 844-851.
- [16] LEE H, DELLATORE S M, MILLER W M, et al. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings [J]. Science, 2007, 318(5849): 426-430. DOI:10.1126/science.1147241.
- [17] YANG M C, FANG J M, KUO T F, et al. Production of antibodies for selective detection of malachite green and the related triphenylmethane dyes in fish and fishpond water [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(22): 8851-8856. DOI:10.1021/jf071195y.
- [18] 梁莉甜,刘志国,付云洁,等. 隐性孔雀石绿多克隆抗体的制备及鉴定 [J]. 食品科学, 2013, 34(7): 227-230. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201307047.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)