

渔用麻醉剂检测方法的研究进展

陆亦宽^{1,2,3}, 卢瑛^{1,2,3*}, 谢晶^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306;
3. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306)

摘要: 水产品自古以来深受中国百姓的喜爱, 其鲜嫩可口、美味多汁。水产品的鲜活程度与其营养风味有着密切联系, 而长途保活运输过程中, 鱼类密度大、运输环境差, 容易引起鱼体应激反应, 导致其品质下降, 因而如何高效地长途运输鲜活水产品成为了制约水产品行业发展的瓶颈之一。渔用麻醉剂, 因其成本低、使用简单、见效快, 目前已被广泛应用于鲜活水产品的保活运输中。本文综述了渔用麻醉剂的常用类型、检测方法和应用现状, 并对其发展趋势进行了展望, 以期为我国水产品麻醉剂的规范使用、质量监控体系建设提供参考依据。

关键词: 水产品; 渔用麻醉剂; 检测方法

Research progress on detection methods of fishing anesthetics

LU Yi-Kuan^{1,2,3}, LU Ying^{1,2,3*}, XIE Jing^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China;
3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: Aquatic products have been popular with Chinese people since ancient times because they are tender, delicious, and juicy. The freshness of aquatic products is closely related to their nutritional flavor. During the long-distance transportation, the fish are very dense and the transportation environment is poor, which can easily cause the stress response of the fish and cause its quality to decline. How to transport living fish effectively has become one of the bottlenecks restricting the development of the aquatic products industry. Anesthetics for fishing have been widely used in the transportation of fresh aquatic products because their low cost, simple use and quick response. This paper summarized the common types, detection methods and application status of fishery anesthetics, and prospected the development trend of fishery anesthetics, in order to provide reference for the standardized use and quality control system construction of aquatic anesthetics in China.

KEY WORDS: aquatic products; fishing anesthetics; detection method

基金项目: 2019 年上海市科技兴农重点攻关项目(2019-02-08-00-10-F01143)

Fund: Supported by 2019 Annual Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program (2019-02-08-00-10-F01143)

*通讯作者: 卢瑛, 教授, 主要研究方向为研究方向为食品安全检测、水产品质量控制与品质提升。E-mail: y-lu@shou.edu.cn

*Corresponding author: LU Ying, Ph.D, Professor, College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University 999 Hucheng Huan Road, Shanghai 201306, China. E-mail: y-lu@shou.edu.cn

1 引言

水产品,作为一种餐桌上的珍馐,自古以来深受老百姓的喜爱。我国 2016 版《中国居民膳食指南》中建议动物性食品应当优先选择水产品,每人每天建议摄入量 40 g 左右^[1],由此可见,水产品类农副产品是广大百姓摄入蛋白质的理想选择。我国渔业近些年蓬勃发展,国家大力发展蓝色粮仓建设。根据《2019 中国渔业统计年鉴》统计显示,我国 2018 年水产品总产量高达 6457.66 万吨,人均水产品占有量达 46.28 kg^[2],说明我国水产品的产量可以充分满足人民日常饮食所需。

然而,我国渔业产品的安全存在诸多问题,主要集中在兽药残留、质量指标不达标、重金属元素污染等,其中尤以兽药、重金属为主。据统计,在我国 2014~2018 年水产品不合格的问题当中,兽药残留问题、重金属元素污染问题占产品不合格原因的 90%以上^[3]。因而,目前大量的研究集中于如何快速、高通量地检测这些污染源^[4,5],而这就间接导致了其他潜在风险、新型污染等被忽略。

水产品重在鲜活,其鲜活程度极大地影响着水产品的品质和风味。中国地大物博,地产丰富,大多数水产品需要历经长途运输才能从产地到舌尖,这就引出了如何有效保活、保质地长途运输鱼类的问题^[6,7]。而水产品运输过程中,由于成本问题,大多采用高密度运输,这样的环境极易引起鱼类应激反应,使鱼体的生理指标产生一系列的变化^[8]。这类应激反应对鱼体的健康影响重大,虽然短时间内不会有肉眼可见的损伤,但是在之后会引发危害^[9],从而使水产品品质下降,进一步造成经济损失。因此,控制或减少应激反应可降低鱼类的处理成本,提升渔业收入^[10]。

针对水产品长途运输过程中发生的此类问题,渔用麻醉剂因其成本低、使用方便,对鱼类有着良好的镇静作用,可有效降低鱼体在运输过程中应激反应、新陈代谢的发生^[11,12],从而保证了鲜活水产品的品质,得到了广泛应用。如今,国外准许使用的渔用麻醉剂主要有间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐(3-aminobenzoic acid ethyl ester methanesulfonate, MS-222)、鱼安定和丁香酚类,以及个别使用的苯佐卡因、二氧化碳、2-苯氧乙醇等,但各个国家对于渔用麻醉剂的使用仍持审慎态度,对于其使用均有严格规定,制定了时间不等的休药期和限量要求^[13]。我国渔用麻醉剂的监管尚属空白,生产者一般按经验使用,没有经历严格的休药期后直接上市,麻醉剂会残留在宰杀后的鱼体内被人摄入,在人体内蓄积后造成危害^[7,15]。本文针对常用的渔用麻醉剂、检测方法、应用安全性和未来展望进行综述,以期为我国渔用麻醉剂的规范使用、水产品品质安全监管提供依据。

2 渔用麻醉剂的介绍

在渔业作业或鱼类科研实验中,许多操作流程均用到麻醉剂,例如标记鱼体、取血、免疫、称重、运输等,合理科学地运用麻醉剂可以彰显对动物的人道主义关怀,有效减轻鱼类痛苦^[16-18]并降低在危机环境下引发的鱼体应激反应^[11,12]。尤其是长途运输过程中,为了节约成本,鱼类处于拥挤密闭的环境中,极易造成碰撞而受伤,水质也随着运输时间的延长而下降,鱼体应激反应剧烈,皮质醇显著升高,危害鱼类健康^[8,14]。为了有效提高运输过程中水产品的存活率和产品品质,鱼类麻醉剂的安全使用显得尤为重要。目前国内外主要使用的渔用麻醉剂为三卡因、丁香酚类、二氧化碳等,应用较少的麻醉剂为苯佐卡因、2-苯氧乙醇等,以及新开发的渔用麻醉剂如高良姜油等。

2.1 三卡因

MS-222,又称三卡因,化学名称为间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐,俗名鱼安定。纯品为白色粉末,极易溶于水,具有使用简单、起效迅速、复苏快等优点,自 1967 年首次应用于水产品麻醉,已成为全世界应用最广泛的麻醉剂^[19-20]。其良好的水溶性,使得它既可以溶解于淡水中,又可以溶解于海水中,可用于淡水产、海产品的麻醉^[21]。据研究,其主要的麻醉机制是通过抑制 Na^+ 离子通道达到麻醉鱼体的效果^[22]。目前,MS-222 是美国和加拿大唯一一种被批准可应用于市售水产品的渔用麻醉剂,两国对其使用后的暂养期做了严格规定,美国为 21 d 休药期,加拿大为 5 d 休药期^[23,24]。我国目前尚未批准其为合法的食用鱼类麻醉剂,也未建立相应的检测标准。

2.2 丁香酚类

丁香酚类麻醉剂,源自天然植物提取物,主要出产于桃金娘科植物的花朵、叶子之中,最早应用于牙科的镇痛,又因其具有抗菌性、抗氧化性而作为食品添加剂被广泛使用^[25,26],尔后被应用于鱼类的麻醉^[27]。丁香油中有着多种成分,其中主要的有效成分为丁香酚及其异构体异丁香酚,其中丁香酚含量约占 70%~95%,是丁香油的主要成分^[28,29]。目前,我国商家主要使用的丁香酚类麻醉剂为丁香酚水门汀,其中丁香酚含量占 99%以上^[30]。GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中规定,将丁香油等天然提取成分可作为食品添加剂、天然香料使用,但未说明可将其作为水产品麻醉剂使用,也未有明确的监控手段,其使用于我国鱼类麻醉的合法性存疑。

2.3 其他渔用麻醉剂

除了上述 2 种应用广泛和研究深入的渔用麻醉剂外,目前使用较少的渔用麻醉剂还有高良姜油、2-苯氧乙醇等。高良姜油提取自可食用的高良姜,在东南亚地区广泛种植^[31]。2017 年开始有报道关注其对水产品的麻

醉作用。Khumpirapang 等^[32,33]使用罗非鱼、鲤鱼作为模型建立高良姜油的麻醉研究, 并将其与 MS-222 相对比, 发现高良姜油需要更高的浓度才能与 MS-222 有相当的麻醉效果, 但对于鱼类应激反应中血糖的维持明显优于 MS-222, 且对鱼类的白血球、红细胞等没有明显损伤, 是一种天然良好的潜在渔用麻醉剂, 但其麻醉机制有待进一步确认。

2-苯氧乙醇, 是一种无色黏性液体, 可与大多有机试剂按任意比例互溶, 在兽医治疗和内外科方面应用广泛^[34], 由于其麻醉起效快、复苏时间短而被应用于鱼类麻醉^[35]。在鱼类的麻醉过程中有降低氨排放的作用^[7]。且 2-苯氧乙醇价格便宜, 还具有一定的杀菌效果^[36]。在虹鳟鱼和鲮鱼^[37,38]的麻醉中, 具有降低鱼类应激作用的能力, 但复苏时间明显长于 MS-222、丁香酚等渔用麻醉剂, 因而其应用更少。

3 渔用麻醉剂的检测方法

目前渔用麻醉剂的检测方法以仪器分析方法为主, 主要有液相色谱法、液相色谱-荧光法、液相色谱串联质谱法、气相色谱法和气相色谱串联质谱法^[39-46], 而渔用麻醉剂的快速检测方法尚未见报道。水产品样品提取过程中高脂肪、高蛋白的基质干扰, 对于开发仪器检测方法有着明显影响, 其中纯粹的液相色谱法分离效果差、受基质干扰明显, 而气相色谱法更适用于养殖用水的检测, 液相串联质谱灵敏度好但需要多步萃取的样品方能检测, 因而如何快速有效地进行样品前处理工作显得尤为重要。

丁香酚类麻醉剂, 取自于天然的植物之中, 具有抑制真菌的作用, 允许在食品中添加, 因而有诸多关于如何从植物提取物、食品检测的方法见诸报道^[47-51]。而在水产品中的检测方法研究报道则比较少。丁香酚类天然具有挥发性, 因而检测方法的开发集中在气相色谱法上, 2011 年 Bousova 等^[50]首次运用气相色谱固相萃取顶空进样的方法,

成功建立食品中丁香酚检测的欧盟标准方法, 然而该方法所需进样设备昂贵。Lopez 等^[51]采用乙酸乙酯液液萃取固体、半固体、液体食物中的丁香酚, 通过气相色谱串联质谱法检测, 但纯粹的液液萃取法导致基质干扰过大。当前丁香酚类麻醉剂在水产品中的主要检测方法和提取方法如表 1 所示。

丁香酚类一般具有一定的挥发性和半挥发性, 在提取时如何减少丁香酚的损失率至关重要。因此, Kildea 等^[45]使用玻璃纤维滤纸封住萃取顶针口来提取银鲈鱼组织中的丁香酚, 避免挥发性和半挥发性化合物的蒸发损失。而丁香酚作为一种亲油的物质, 广泛采用有机试剂进行提取, 最为常见的有乙腈、甲醇、丙酮、乙酸乙酯^[40,41,48,51]等, 其中丙酮为最优选择, 其毒性也最弱, 是仅次于水的绿色溶剂^[52,53]。检测水产品中的丁香酚类麻醉剂, 最为常见的干扰源为蛋白质和脂质, 为了有效避免杂质带来的基质干扰, 采用固相萃取技术(solid phase extraction, SPE)和 QuEChERS (快速前处理技术) 能有效降低此类干扰, 这主要是源于普通的固相萃取柱含有苯基, 而丁香酚类含有苯环, 因而对丁香酚有良好的吸附效果, 能有效去除干扰^[40], 而快速前处理技术采用有机试剂提取、盐类去除水分干扰、吸附剂除杂, 通用性高^[46]。高平等^[39]比对了不同填料的 C₁₈ 固相萃取柱, 发现纯粹的乙二胺基-N-丙基或中性氧化铝填料回收率不到 50%, 将中性氧化铝与 C₁₈ 结合后效果良好, 滤液澄清。Ye 等^[54]基于丁香酚无可电离基团, 引入丹磺酰氯提高其在质谱上的信号响应和灵敏度, 并进一步优化了液相分离条件, 成功分离了丁香酚和异丁香酚并进行定性定量分析。相比于直接液液萃取, 采用 SPE 小柱净化或者丹磺酰氯衍生后, 丁香酚的检出限上升明显, 相比于荧光检测器, 质谱检测器普遍具有更低的检出限, 因而今后针对丁香酚类麻醉剂的仪器方法可以从衍生或优选 SPE 小柱优化前处理方法, 结合质谱检测器获得较好的检测结果。

表 1 丁香酚类麻醉剂的检测方法及其检出限(limit of detection, LOD)
Table 1 Limits of detection (LODs) and detection methods of clove oil anaesthetics

检测方法	研究对象	前处理方法	检出限	参考文献
液相色谱串联荧光法(liquid chromatography series fluorescence method, LC-FLD)	南美白对虾 罗非鱼 鳊鱼	固相萃取技术(solid phase extraction, SPE)	6.0 μg/kg	[39]
LC-FLD	澳大利亚鲷鱼 海水	乙腈萃取 3 次	1.51 μmol/kg 0.16 μmol/L	[41]
气相色谱串联质谱法(gas chromatography tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)	鱼排	SPE	0.2 μg/kg	[40]
GC-MS/MS	金枪鱼块	QuEChERS	20 μg/kg	[46]
液相色谱串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)	有鳍鱼(6 种)	丹磺酰氯衍生	0.2 ng/g	[54]

三卡因,具有很好的水溶性(1 g溶解于0.8 mL水),可应用于海水鱼和淡水鱼的麻醉,但鱼体麻醉后会引皮质醇上升,皮质醇是应激反应的标志产物之一^[55,56]。目前对三卡因类麻醉剂的检测对象主要集中在养殖用水和鱼肉组

织中,MS-222 作为水溶性良好的化合物,可以通过检测养殖用水来判断 MS-222 的残留^[57]。因而 MS-222 的检测方法基本以液相色谱法为主,三卡因麻醉剂的主要检测方法和提取方法如表 2 所示。

表 2 三卡因麻醉剂的检测方法及检出限
Table 2 LODs and detection methods of MS-222

检测方法	研究对象	前处理方法	检出限	参考文献
LC-MS/MS	大马哈鱼	SPE	0.5 µg/kg	[42]
	罗非鱼		0.6 µg/kg	
	鳟鱼		0.6 µg/kg	
LC-MS/MS	水样	SPE	0.01 µg/L	[57]
批量分析-安培滴定法(BIA-amperometry)	鱼肉组织	冷冻干燥	10 ⁻⁸ mol/L	[58]
LC-MS/MS	鲤鱼	QuEChERS	2.5 µg/kg	[59]
LC-MS/MS	草鱼	QuEChERS	1.0 µg/kg	[60]
LC-MS/MS	鱼肉	SPE	3.0 µg/kg	[61]

与丁香酚类麻醉剂检测方法相同,如何在富集目标物 MS-222 的同时有效去除杂质亦成为研究重点。Peter Scherpenisse 等^[42]利用 C₁₈、C₈、苯基柱、氰基柱净化比较,检测了大马哈鱼、鳟鱼、罗非鱼中的 MS-222 残留,发现 C₁₈ 柱相比其他 SPE 柱有着更好的回收率。而 Zhao 等^[57]针对水样中的 MS-222 检测时,比对了 3 种 SPE 柱,也得到了 C₁₈SPE 柱有着更好的回收率,并进一步指出使用的洗脱液甲醇含量影响颇大,在 60%的浓度下达到最佳洗脱效果,而超过后将会有杂质被一同洗脱而下。Rafael 等^[58]提出了一种新颖的检测技术,首次采用了 BIA-Amperometry 应用于 MS-222、苯佐卡因的检测,针对鱼样回收率达到 99%,但其前处理要经过冷冻干燥等步骤,颇为繁琐。Li 等^[59]改良了 QuEChERS 技术,优选了乙二胺基-N-丙基填料用量和洗脱液醋酸浓度,达到 91.0%~112.1%的加标回收率。最新的 MS-222 检测技术则结合了同位素内标法和通过式固相萃取技术进行检测, Xie 等^[60]在 Li 等^[59]开发的 QuEChERS 技术上自主合成了稳定的三卡因内标,有效校正了标准曲线,降低了基质和操作的干扰,将检出限进一步提高,并提出 MS-222 可以快速被草鱼的鱼肉组织脱除,8 h 后几乎不可检测。高平等^[61]采用新兴 SPE 技术-通过式固相萃取技术,运用 PRiME HLB 固相萃取柱净化,小柱无需活化,直接上样,对比传统的 SPE 小柱如 C₁₈、聚苯乙烯柱等发现操作更加简单,加标回收率更好。

4 渔用麻醉剂的应用现状

MS-222 具有麻醉速度快、使用剂量低、作用时间长等优点^[46],其使用剂量受鱼的种类、水温和使用剂量等影响,一般使用温度范围为 10~25 °C^[62],一般建议的使用剂

量为 25~100 mg/L^[56]。作为唯一一种合法流通于美国和加拿大市场的麻醉剂,其最高残留量为 1 µg/mL 和 10 µg/kg^[63,64]。MS-222 在我国未被批准为合法渔用麻醉剂,但市场上仍有使用。刘平等^[65]随机抽检了北京市场上的水产品,在多宝鱼、草鱼、罗非鱼这 3 种水产品中均检出 MS-222,且草鱼和罗非鱼的残留量超过美国 FDA 的标准要求,这很可能是使用 MS-222 后未经过暂养休药期直接上市所致。

丁香酚类麻醉剂主要有丁香酚、异丁香酚、甲基丁香酚,来源于天然植物,价廉易得。但相较于 MS-222,因其具有挥发性,容易在使用过程中挥发导致麻醉效果下降。目前,在日本、智利、新西兰、芬兰等国均有使用。新西兰和日本均为丁香酚类麻醉剂规定了 7 d 的休药期,以及分别为 0.1、0.05 mg/kg 的最大残留限量,而智利等国将其列为零休药期的渔用麻醉剂^[7,13]。在我国,Ke 等^[40]对中国农贸市场上的水产品共抽检 550 余批次样品,丁香酚类麻醉剂检出率在 10.6%,其中丁香酚的残留浓度范围为 3.11~30690 µg/kg;而在两个石斑鱼样品中,检出异丁香酚浓度分别为 86.2、1032 µg/kg;所有样品均未检出甲基丁香酚。

5 展望

当前,国内外渔用麻醉剂已广泛应用于鱼类的生产、加工、科研等活动中。国内水产品市场的抽检结果表明,我国常用的鱼类麻醉剂为 MS-222 和丁香酚类。不规范地使用麻醉剂,轻则对鱼类的健康有所损害,重则对消费者的身体健康产生危害。我国今后须加强渔用麻醉剂的监督管理和使用标准等政策法规的制定。现有的渔用麻醉剂检测方法以仪器分析为主,受设备、专业人员、样品前处理技

术等限制, 该类方法不利于现场监管和普遍推广应用。今后, 开发渔用麻醉剂的快速检测技术具有较好的前景和市场潜力。此外, 新型、天然来源的渔用麻醉剂开发也可以成为今后的研究方向和突破口, 为我国未来渔业的健康发展和水产品质量安全保障提供有力的技术支撑。

参考文献

- [1] 丁洪流, 代菲, 张素芳, 等. 苏州市售动物性水产品兽药残留和重金属含量调研分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(8): 98–104.
Ding HL, Fei D, Zhang SF, *et al.* Investigation and analysis of veterinary drug residues and heavy metal contents of animal aquatic products sold in Suzhou [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(8): 98–104.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局. 2019 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
Fisheries administration bureau of Ministry of agriculture and rural affairs. China fishery statistical yearbook in 2019. [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2018.
- [3] 郭添荣, 张崑, 叶梅, 等. 中国水产食品质量及安全控制研究进展[J]. 肉类研究, 2019, 33(5): 67–72.
Guo TR, Zhang Y, Ye M, *et al.* Research progress on quality and safety control of aquatic food in China [J]. Meat Sci, 2019, 33(5): 67–72.
- [4] Zhang XW, Shao LY, Lian B. Accumulation characteristics and safety evaluation of heavy metals in four kinds of aquatic products from Lake Taihu [J]. Food Sci, 2018, 10(5): 36–40, 43.
- [5] Guo P, Zhang J, Chen X, *et al.* Preparation of dummy template-imprinted polymers for the rapid extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs residues in aquatic environmental samples [J]. Biomed Chrom, 2018, 32(8): e4193.
- [6] 赵子建, 聂绮倩, 徐德峰, 等. 典型冷链温度下南美白对虾品质劣变规律及相关性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(8): 1789–1794.
Zhao ZJ, Ne QQ, Xu DF, *et al.* Quality deterioration of *Litopenaeus vannamei* stored at typical cold chain temperatures and the correlation analysis [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(8): 1789–1794.
- [7] 符映英, 徐闪浪. 浅析三种渔用麻醉剂应用研究现状[J]. 食品安全导刊, 2019, 3(9): 148–150.
FuYY, Xu SL. Brief analysis of the application and research of three kinds of fishery anesthetics [J]. Chin Food Magaz, 2019, 3(9): 148–150.
- [8] Weber RA, Jorge J, Pérez M, *et al.* Stress-preventing effects of the anaesthetic agents 2-phenoxyethanol, MS-222, clove oil and metomidate in the Senegalese sole *Solea senegalensis* [J]. J Coast Life Med, 2017, 5(12): 510–515.
- [9] Birnie-Gauvin K, Peiman KS, Larsen MH, *et al.* Short-term and long-term effects of transient exogenous cortisol manipulation on oxidative stress in juvenile brown trout [J]. J Exp Biol, 2017, 220: 1693–700.
- [10] Mustapha MK. Aquaculture and fish welfare: are the rights of fish compromised [J]. Zool Pol, 2014, 59(1–4): 49–68.
- [11] 刘慧慧, 邹荣婕, 刘小静, 等. 丁香酚对降低罗非鱼捕捉应激的作用[J]. 中国农学通报, 2019, 35(8): 147–151.
Liu HH, Zou RJ, L XJ, *et al.* Effect of eugenol on reducing tilapia capture stress [J]. Chin Agric Bull, 2019, 35(8): 147–151.
- [12] 林雅云, 吴玉波, 姜丹莉, 等. 不同麻醉方法对降低草鱼捕捉应激的作用[J]. 水生生物学报, 2016, 40(1): 191–195.
Lin YY, Wu YB, Jiang DL, *et al.* Effects of different anesthesia methods on reducing stress of grass carp capture [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2016, 40(1): 191–195.
- [13] 王彩霞, 熊光权, 白婵, 等. 渔用麻醉剂检测方法及其残留安全性评价研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 59–64.
Wang CX, Xiong GQ, Bai C, *et al.* Advances in detection methods and residue safety evaluation of fishery anesthetics [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(1): 59–64.
- [14] Mohammadi M, Khara H. Effect of different anesthetic agents (clove oil, tricaine methanesulfonate, ketamine, tobacco) on hematological parameters and stress indicators of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792 [J]. Comp Clin Pathol, 2015, 24(5): 1–6.
- [15] Ghanawi J, Saoud G, Zakher C, *et al.* Clove oil as an anaesthetic for Australian redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* [J]. Aquac Res, 2019, (1): 1–5.
- [16] Ostrensky A, Pedrazzani AS, André LV. Use of MS-222 (tricaine methanesulfonate) and propofol (2, 6-diisopropylphenol) as anaesthetics for the tetra *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) [J]. Aquac Res, 2015, 47(11): 3477–3488.
- [17] Falahatkar B, Poursaeid S. Anaesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate for Persian sturgeon larvae [J]. Aquac Res, 2016, 48(8): 4578–4581.
- [18] Jobling ML, Ross B. Ross, anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals (third edition) [J]. Rev Fish Biol Fish, 2010, 20(1): 139–140.
- [19] Ferreira CIA, Calisto V, Santos, *et al.* Application of pyrolysed agricultural biowastes as adsorbents for fish anaesthetic (MS-222) removal from water [J]. J Anal Appl Pyrol, 2015, (112): 313–324.
- [20] Fraser TWK, Mayer I, Jon ES, *et al.* The effect of triploidy on the efficacy and physiological response to anesthesia with MS 222 and isoeugenol in Atlantic salmon post-smolts [J]. Aquac Inter, 2014, 22(4): 1347–1359.
- [21] Popovic NT, Strunjak-Perovic I, Coz-Rakovac R, *et al.* Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia [J]. J Appl Ichthyol 2012, 28(4): 1–12.
- [22] Stockman J, Weber ESP, Kass PH, *et al.* Physiologic and biochemical measurements and response to noxious stimulation at various concentrations of MS-222 in Koi (*Cyprinus carpio*) [J]. Veter Anaesth Anal, 2013, 40(1): 35–47.
- [23] 李晓芹, 朱振华, 翟纹静, 等. 渔用麻醉剂使用现状和检测技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(29): 72–73, 170.
Li XQ, Zhu ZH, Zhai WJ, *et al.* Review of application and detection of fish anesthesia [J]. Anhui Agric Sci, 2017, 45(29): 72–73, 170.
- [24] Zou N, Chen R, Qin Y, *et al.* Comparison of pulse glow discharge-ion mobility spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry based on multipug filtration cleanup for the analysis of tricaine mesylate residues in fish and water [J]. J Sep Sci, 2016, 39(18): 3638–3646.
- [25] Gause BR, Trushenski JT, Bowzer JC, *et al.* Efficacy and physiological responses of grass carp to different sedation techniques: I. effects of various chemicals on sedation and blood chemistry [J]. N Am J Aquac, 2012, 74(4): 560–566.
- [26] Priborsky, Velisek J. A review of three commonly used fish anesthetics [J]. Fish Sci Aquac, 2018, 26(4): 417–442.

- [27] Mahboubi M, Mahboubi M. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Eugenia caryophyllata* essential oil [J]. *J Essent Oil Bear Pl*, 2015, 18(4): 967–975.
- [28] Wan J, Zhong S, Schwarz, *et al.* Influence of oil phase composition on the antifungal and mycotoxin inhibitory activity of clove oil nanoemulsions [J]. *Food Funct*, 2018, 9(5): 2872–2882.
- [29] Kildea MA, Allan GL, Kearney RE. Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanusbidyanus*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 232(1–4): 265–277.
- [30] 金元, 何雅静, 程波, 等. 丁香酚类麻醉剂的安全性探讨[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, (1): 41–48.
Jin Y, He YJ, Cheng B, *et al.* Safety of eugenol anesthetics [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, (1): 41–48.
- [31] Matsuda H, Morikawa T, Managi H, *et al.* Antiallergic principles from alpinialgalanga: Structural requirements of phenylpropanoids for inhibition of degranulation and release of TNF- α and IL-4 in RBL-2H3 cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13(19): 3197–3202.
- [32] Pikulkaew S, Khumpirapang N, Chaisri W, *et al.* Effects of *Alpinia galanga* oil on anesthesia and stress reduction in *Oreochromis niloticus* [J]. *Drug Discov Therap*, 2017, 11(4): 186–192.
- [33] Khumpirapang N, Pikulkaew S, Anuchapreeda S, *et al.* *Alpinia galanga* oil—A new natural source of fish anaesthetic [J]. *Aquac Res*, 2018, 49(4): 1–11.
- [34] Öğretmen F, Gölbaşı S, Inanan BE, *et al.* Use of clove oil and eugenol to anesthetize fingerling *ShabutBarbusgrypus* [J]. *N Am J Aquacult*, 2014, 76(1): 9–13.
- [35] Yildiz M, Kayim M, Akin S. The anesthetic effects of clove oil and 2-phenoxyethanol on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at different concentrations and temperatures [J]. *Iran J Fish Sci*, 2013, 12(4): 947–961.
- [36] 韩军军, 胡江伟, 时春明, 等. 不同条件下 2-苯氧乙醇对扁吻鱼幼鱼的麻醉效果[J]. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(2): 211–215.
Han JJ, Hu JW, Shi CH, *et al.* Anesthetic effect of 2-phenoxyethanol on the juvenile fish under different conditions [J]. *J Shanghai Ocean Univ*, 2019, 28(2): 211–215.
- [37] Joly, Ghanawi, Samer, *et al.* Anaesthetic efficacy of clove oil, benzocaine, 2-phenoxyethanol and tricaine methanesulfonate in juvenile marbled spinefoot (*Siganusrivulatus*) [J]. *Aquac Res*, 2013, 44(3): 359–366.
- [38] Akbary P, Pirbeigi A, Jahanbakhshi A. Analysis of primary and secondary stress responses in bighead carp (*Hypophthalmichthysnobilis*) by anesthetization with 2-phenoxyethanol [J]. *Inter J Environ Sci Technol*, 2016, 13(4): 1009–1016.
- [39] 高平, 黄和, 刘文侠, 等. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法测定水产品中 4 种丁香酚类化合物[J]. *中国食品卫生杂志*, 2016, 28(1): 62–67.
Gao P, Huang H, Liu WX, *et al.* Determination of 4 eugenol compounds in aquatic products by SPE-HPLC-FLD [J]. *Chin J Food Hyg*, 2016, 28(1): 62–67.
- [40] Ke C, Liu Q, Li L, *et al.* Simultaneous determination of eugenol, isoeugenol and methyleugenol in fish fillet using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2016, (1031): 189–194.
- [41] Tuckey NPL, Forgan LG. A rapid and simple fluorometric method for quantifying isoeugenol in seawater and in plasma and white muscle from Australasian snapper (*Pagrus auratus*) [J]. *Food Chem*, 2012, 133(4): 1664–1670.
- [42] Scherpenisse P, Bergwerff AA. Determination of residues of tricaine in fish using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 586(1–2): 407–410.
- [43] Nochetto CB, Reimschuessel R, Giesecker C, *et al.* Determination of tricaine residues in fish by liquid chromatography [J]. *J AOAC Int*, 2009, 92(4): 1241–1247.
- [44] 刘海新, 张农, 余颖, 等. 气相色谱-质谱法检测鱼肉中 MS-222 残留[J]. *渔业研究*, 2013, 35(6): 441–447.
Liu HX, Zhang N, Yu Y, *et al.* Determine MS-222 residues in fish by GC-MS/MS [J]. *J Fish Res*, 2013, 35(6): 441–447.
- [45] Kildea MA, Allan GL, Kearney RE. Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanusbidyanus*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 232(1–4): 265–277.
- [46] Li J, Liu H, Wang C, *et al.* Stable isotope labeling-assisted GC/MS/MS method for determination of methyleugenol in food samples [J]. *J Sci Food Agric*, 2018, 98(9): 3485–3491.
- [47] Yun SM, Lee MH, Lee KJ, *et al.* Quantitative analysis of eugenol in clove extract by a validated HPLC method [J]. *J AOAC Int*, 2010, 93(6): 1806–1810.
- [48] Sgorbini B, Cagliero C, Pagani A, *et al.* Determination of free and glucosidically-bound volatiles in plants. Two case studies: L-menthol in peppermint (*Mentha x piperita* L.) and eugenol in clove (*Syzygiumaromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry) [J]. *Phytochemistry*, 2015, 117: 296–305.
- [49] Saran S, Menon S, Shailajan S, *et al.* Validated RP-HPLC method to estimate eugenol from commercial formulations like Caturjata Churna, Lavangadi Vati, Jatiphaladi Churna, Sitopaladi Churna and clove oil [J]. *J Pharm Res*, 2013, 6(1): 53–60.
- [50] Bousova K, Mittendorf K, Senyuva H. A solid-phase microextraction GC/MS/MS method for rapid quantitative analysis of food and beverages for the presence of legally restricted biologically active flavorings [J]. *J AOAC Int*, 2011, 94(4): 1189–1199.
- [51] Lopez, Van P, Sisseren M, *et al.* A straightforward method to determine flavouring substances in food by GC-MS [J]. *Food Chem*, 2015, (174): 407–416.
- [52] Andrea H, Milena D, Eva M. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1153(1–2): 54–73.
- [53] Funari CS, Carneiro RL, Khandagale MM. Acetone as a greener alternative to acetonitrile in liquid chromatographic fingerprinting [J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(9): 1458–1465.
- [54] Ye L. Development and validation of a LC-MS/MS method for the determination of isoeugenol in finfish [J]. *Food Chem*, 2017, 228: 70–76.
- [55] Stehly GR, Meinertz JR, Gingerich WH. Effects of temperature on the elimination of benzocaine and acetylated benzocaine residues from the edible fillet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Food Addit Contam*, 2000, 17(5): 387–392.
- [56] Ferreira CIA, Calisto V, Santos, *et al.* Application of pyrolysed agricultural biowastes as adsorbents for fish anaesthetic (MS-222) removal from water [J]. *J Anal Appl Pyrol*, 2015, 112(Complete): 313–324.
- [57] Zhao DH, Wang Q, Wang XF, *et al.* Determination of MS-222 in water samples by solid-phase extraction coupled with liquid

- chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr Sci*, 2017: 1–5.
- [58] De Lima, Rafael & de Oliveira Silva, Michele & Felix, *et al.* Determination of benzocaine and tricaine in fish fillets using BIA with amperometric detection [J]. *Electroanalysis*, 2017, 30(2): 283–287.
- [59] Li J, Liu H, Yu M, *et al.* Rapid determination of tricaine mesylate residues in fish samples using modified QuEChERS and high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Anal Meth*, 2014, 6(22): 9124–9128.
- [60] Xie C, Li Q, Han G, *et al.* Stable isotope dilution assay for the accurate determination of tricaine in fish samples by HPLC–MS–MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33(5): e4512.
- [61] 高平, 杨曦, 莫彩娜, 等. 通过式固相萃取净化/高效液相色谱–串联质谱法快速测定水产品中 6 种麻醉剂残留[J]. *分析测试学报*, 2019, (9): 1059–1065.
- Gao P, Yang X, Mo CN, *et al.* Rapid determination of six anesthetics residues in aquatic products by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry with pass-through solid phase extraction [J]. *J Instrum Anal*, 2019, (9): 1059–1065.
- [62] Falahatkar B, Poursaeid S. Anaesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate for Persian sturgeon larvae [J]. *Aquac Res*, 2016, 48(8): 1–12.
- [63] Bowker J, Trushenski J, Tuttlelau M, *et al.* Guide to using drugs, biologics, and other chemicals in aquaculture [M]. America: Am Fish Soc Fish Culture Section, 2011.
- [64] Health Canada (2013). Proposal to amend the list of maximum residue limits (MRLs) for veterinary drugs in foods—proposed MRL. [DB/OL]. [2018–5–20]. <https://www.Canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/veterinary-drugs/maximum-residue-limits-mrls/list-maximum-residue-limits-mrls-veterinary-drugs-foods.html>.
- [65] 刘平, 辛爽英, 范赛, 等. 超高效液相色谱–串联质谱法同时检测鱼肉中 5 种渔用麻醉剂残留[J]. *卫生研究*, 2019, 48(4): 640–645, 650.
- Liu P, Xin SY, Fan S, *et al.* Simultaneous determine of five kinds fish anesthetic residues in fish meat by UPLC–MS/MS [J]. *J Hyg Res*, 2019, 48(4): 640–645, 650.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



陆亦宽, 主要研究方向为食品安全快速检测。

E-mail: 739784443@qq.com



卢 瑛, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全检测、水产品质量安全控制与品质提升。

E-mail: y-lu@shou.edu.cn