

# 丁香酚类麻醉剂的安全性探讨

金元<sup>1</sup>, 何雅静<sup>1</sup>, 程波<sup>1</sup>, 宋金龙<sup>1</sup>, 柯常亮<sup>2</sup>, 刘永涛<sup>3</sup>, 郑重<sup>1</sup>, 付晓苹<sup>1</sup>,  
李强<sup>1</sup>, 李乐<sup>1\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院质量与标准研究中心, 北京 100141; 2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广州 510300;  
3. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 武汉 430223)

**摘要:**我国消费者喜食鲜活水产品与水产养殖分布不均衡的矛盾导致水产品的长距离、长时间运输成为常态, 而渔用麻醉剂能有效地降低运输过程中的损伤。丁香酚类产品作为一种目前产业中使用最普遍鱼类麻醉剂, 其残留及安全问题受到了广泛的关注。本文主要综述了丁香酚类麻醉剂包括丁香油(丁香酚)、异丁香酚、AQUI-S及甲基丁香酚产品的毒理学研究和各国管理现状, 并对其食用安全性进行了分析, 同时通过影响麻醉效果的参数分析对其使用安全性进行了探讨, 最后对我国丁香酚类麻醉剂的使用、管理和科研提出了相应建议。

**关键词:** 麻醉剂; 丁香油; 丁香酚; 异丁香酚; 甲基丁香酚; 安全性

## Research on safety of eugenol derivatives anesthetics

JIN Yuan<sup>1</sup>, HE Ya-Jing<sup>1</sup>, CHENG Bo<sup>1</sup>, SONG Jin-Long<sup>1</sup>, KE Chang-Liang<sup>2</sup>, LIU Yong-Tao<sup>3</sup>,  
ZHENG Zhong<sup>1</sup>, FU Xiao-Ping<sup>1</sup>, LI Qiang<sup>1</sup>, LI Le<sup>1\*</sup>

(1. *Quality and Standard Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China;*  
2. *South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;*  
3. *Yangtze Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China*)

**ABSTRACT:** Long-distance and long-time transportation phenomenon is caused by the contradiction between appetite for fresh aquatic products and uneven distribution of aquaculture, while the fish anesthetics can effectively reduce the fish damage during transportation process. Eugenol derivatives products are widely used in aquatic products, and the residues and safety problems have been widely concerned. In this paper, the toxicological studies and current management status of eugenol derivatives anesthetics, including clove oil (eugenol), isoeugenol, AQUI-S and methyl eugenol products were summarized, the edible safety was also analyzed, and the utilization security was investigated through the influence analysis of parameter on anesthesia effect. At last, several corresponding suggestions were provided for the future application, administration and research of eugenol derivatives anesthetics in China.

**KEY WORDS:** anesthetics; clove oil; eugenol; isoeugenol; methyleugenol; safety

基金项目: 国家水产品质量安全风险评估重大专项(GJFP2016009)

**Fund:** Supported by National Major Projects for Aquatic Products Quality and Safety Risk Assessment (GJFP2016009)

\*通讯作者: 李乐, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品质量标准与风险评估, E-mail: lil@cafs.ac.cn

\*Corresponding author: LI Le, Ph.D, Research Associate, Chinese Academy of Fishery Sciences, No.150, Qingta, Fengtai District, Beijing 100141, China. E-mail: lil@cafs.ac.cn

## 1 引言

鲜活水产品受到我国消费者的普遍喜爱, 由于水产品品种分布的多样性, 鲜活水产品跨地区、长时间的运输已成为常态。而活鱼在运输过程中应激反应大, 极易导致免疫抑制、物理损伤甚至死亡<sup>[1]</sup>。为保持水产品的好卖相、降低感染概率, 养殖业内普遍采取活鱼麻醉的方式来减缓运输途中的代谢及损伤。

与鱼安定(MS-222)、苯唑卡因(benzocaine)等渔用麻醉剂相比, 丁香酚类产品自 20 世纪 70 年代初被发现对鱼类有强烈的麻醉作用后, 以其高性价比在水产运输领域得以广泛使用。丁香酚、异丁香酚是目前使用最广泛的丁香酚类麻醉剂, 分别是丁香油、AQUI-S(异丁香酚类麻醉剂)的主要活性成分。其中, 异丁香酚是丁香酚代谢物的一种。而甲基丁香酚常混合于丁香油、AQUI-S 等麻醉剂产品中, 可能会对食品安全性造成影响。

本文以丁香酚类物质的麻醉效果为基础对其合理使用的安全性进行分析, 以风险监测和毒理学数据为基础对其食用安全性进行初步评估, 对保障水产品质量安全具有重要意义。

## 2 丁香酚及丁香油

丁香酚, 分子式  $C_{10}H_{12}O_2$ , 是无色至淡黄色微稠液体, 具有强烈的丁香气味, 可溶于低极性或非极性的溶剂, 如乙醇、乙醚、氯仿等, 不溶于水。丁香酚性质不稳定, 长期暴露在空气中会变黑变黏稠, 出现刺激性臭味。丁香酚主要用于制造香水、香精、精油、修饰剂和定香剂, 还可用于抗菌、局部麻醉和降血压。

丁香油是一种天然的挥发性油脂, 提取自丁香、肉豆蔻、肉桂、罗勒、月桂叶等植物的花蕾、叶和茎, 呈深棕色, 具有持久的香气<sup>[2]</sup>。丁香油是一种典型的温和麻醉剂, 与水门汀混合后, 在补牙时用于窝洞封闭、间接盖髓, 还可用于治疗头痛、关节痛等。

作为鱼用麻醉剂使用, 丁香油有效活性成分丁香酚, 占丁香油组分的 85%~95%<sup>[3,4]</sup>。另外, 丁香油中还含有少量异丁香酚(4-丙烯基-2-甲氧基苯酚,  $C_{10}H_{12}O_2$ )和甲基丁香酚((1-(3,4-二甲氧苯基)-2-丙烯,  $C_{11}H_{14}O_2$ )。

目前水产市场上多数商家使用丁香油水门汀产品作为渔用麻醉剂, 实际上丁香油和水门汀是分开包装的 2 种商品, 仅在补牙时混合使用, 而鱼贩使用的是丁香油。农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(广州)2016 年调查发现, 目前市场上所使用的丁香油水门汀, 其丁香酚含量高达 99.9%。因此, 我们考虑丁香油麻醉剂的安全性仅考虑丁香酚。

### 2.1 毒理学数据

国际癌症研究机构(International Agency for Research

on Cancer, IARC)对大鼠/小鼠进行了高剂量的丁香酚灌喂实验。在小鼠试验中, 雌性小鼠的肝脏肿瘤发病率明显增加; 对于雄性小鼠, 只有接受低剂量丁香酚灌喂的小鼠发病率增加。而在大鼠试验中, 没有观察到肿瘤发病率增加的现象。其他丁香酚灌喂实验中, 由于作用时间短, 皮肤暴露接触量和腹腔注射量均不足以评价其致癌性。细菌中的 DNA 损伤实验表明, 尽管丁香酚可诱导染色体畸变, 但丁香酚并没有致突变作用<sup>[5]</sup>。因此, IARC 将丁香酚的致癌性划为第 3 类(Group 3, 对人体致癌性尚未归类的物质或混合物, 对人体致癌性的证据不充分, 对动物致癌性证据不充分或有限。或者有充分的实验性证据和充分的理论机理表明其对动物有致癌性, 但对人体没有同样的致癌性)<sup>[6]</sup>。

美国国家毒理学计划(National Toxicology Program, NTP)认为, 丁香酚对大鼠的器官组织没有明显的损伤性毒性。并且通过 103 周的小鼠/大鼠丁香酚灌喂实验, 均没有观察到雌性或雄性大鼠诱发癌症的现象发生<sup>[7]</sup>。而对于小鼠来说, 丁香酚的致癌性证据并不明确。在丁香酚每日 3000 mg/kg 摄入量的条件下, 雄性小鼠的肝癌和腺瘤的发病率均有所增加, 并且丁香酚与雌性小鼠的肝脏细胞癌或腺瘤的发病率相关<sup>[7]</sup>。据 NTP 的突变实验结果, 丁香酚不会诱导啮齿动物突变反应的发生。丁香酚诱导的细胞遗传学效应(染色体畸变和姐妹染色单体交换)仅在中国仓鼠卵巢巢细胞内发生<sup>[7]</sup>。

欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)报告称, 丁香酚可被迅速、全面地吸收并通过尿液几乎完全排出。根据有效的急性毒性数据, 口服摄入丁香酚对人体是有害的。丁香酚具有肝毒性, 可能会造成肝脏损伤。摄入过量可能会引起一系列的症状, 包括抽搐、腹泻、恶心、意识障碍、头晕或心跳加速等<sup>[8]</sup>。作为香料使用, 丁香酚对皮肤和眼睛有刺激性作用, 可产生致敏反应。但是在何种程度上丁香酚可引起过敏反应尚有争议<sup>[9]</sup>。在 13 周的大鼠灌喂实验中, 在无明显损害作用水平(no observed adverse effect level, NOAEL, 600 mg/(kgbw/d))下, 约 10%的雄性大鼠体重减轻。基于现有的研究结果, 丁香酚不大可能导致遗传毒性或细胞毒性。在 2 年期的大鼠/小鼠灌喂试验中, 没有任何证据证明丁香酚对人类有潜在的致癌作用<sup>[10]</sup>。

目前尚未有关于丁香酚的多代研究, 并且基于已有资料, 普遍认为没有必要对丁香酚进行多代研究。而在发育毒理学的研究中得到, 大鼠和兔的发育 NOAEL 分别为 100 mg/(kg bw·d)和 250 mg/(kg bw·d), 并且丁香酚对这 2 种生物均没有致畸作用, 在现有的研究中也未发现丁香酚具有神经毒性<sup>[10]</sup>。

### 2.2 各国管理现状

根据多年来对丁香酚进行的毒理学研究, 各国对丁香油的应用、监管条例具有一定的差异。

美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 已批准丁香油作为食品中的调味剂、镇痛剂和牙科黏合剂使用, 还可以用作个人护理产品中的芳香剂。另外, 丁香油可添加在皮肤外用药物中。尽管丁香油和其组成成分通常被认为是安全的 (generally recognized as safe, GRAS), 但仅限于牙科填充物和食品添加剂方面。不论是丁香油还是其成分在渔用麻醉剂领域均不划入 GRAS 类<sup>[8]</sup>。食品药品监督管理局兽药管理中心 (The Food and Drug Administration's Center for Veterinary Medicine, FDA/CVM) 规定, 无论是丁香油还是其含有的各种活性成分 (包括丁香酚、异丁香酚和甲基丁香酚) 均不可作为新型兽药流通使用<sup>[11]</sup>。考虑到丁香油安全的不确定性, 美国 FDA 暂时终止了对丁香油作为非商品渔用麻醉剂使用申请的批准<sup>[12]</sup>。

加拿大动物福利局批准丁香油作为渔用麻醉剂, 但仅限于活鱼安乐死, 不能作为食用鱼类的麻醉剂<sup>[13,14]</sup>。

日本允许丁香酚作为渔用麻醉剂使用, 其药浴剂量为 50~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 其残留限量值为 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[14]</sup> 并且在 2006 年 11 月发布了《水产养殖用药第 23 号通报》对适用于鱼类和甲壳类的丁香酚麻醉剂的休药期进行了更明确的规定。其中鱼类 7 d, 甲壳类 10 d<sup>[15]</sup>。

捷克允许使用丁香油在鱼类人工产卵前的暂时固定阶段或者是鱼体离水处理阶段, 推荐麻醉浓度为 30  $\text{mg}/\text{L}$ <sup>[16]</sup>。

在欧盟, 丁香油除了用于食用合成香料、调味剂、芳香剂等, 还可作为葡萄酒酿造过程中的杀虫剂使用<sup>[10]</sup>。在水产领域目前还没有明确规定。

GB2760-2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》<sup>[17]</sup>明确丁香叶油、丁香花蕾油、丁香茎油、罗勒油和月桂叶油等含丁香酚成分的天然提取植物可作为食品添加剂使用, 丁香酚、异丁香酚和甲基丁香酚等丁香酚类物质可用作食品用合成香料<sup>[17]</sup>。另外, 丁香油在我国是被批准食用的口腔填充黏合剂。但是目前, 丁香酚作为渔用麻醉剂还没有明确的使用规定。并且 GB 2760-2014《食品添加剂使用标准》<sup>[17]</sup>和 GB2762-2012《食品中污染物限量》<sup>[18]</sup>均未明确规定食品中丁香酚的最大残留限量。

### 2.3 食用安全性分析

Fischer 等<sup>[19]</sup>采用气液相色谱-质谱联用技术, 通过与合成的标准品进行比对, 确定了 6 种丁香酚在人体中的代谢产物: 丁香酚、4-羟基-3-甲氧基苯丙烷、顺式和反式异丁香酚、3-(4-羟基-3-甲氧基苯)-丙烷-1,2-氧化物、3-(4-羟基-3-甲氧基苯)-丙烷-1,2-二醇和 3-(4-羟基-3-甲氧基苯)-丙酸。由于没有获得标准品, 初步推导出的代谢物还有 3 种: 3-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯)-烯丙基苯、3-(6-巯基-4-羟基-3-甲氧基苯)丙烷和 2-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯)-丙酸。实验结果表明, 丁香酚口服后可迅速吸收代谢,

并可在 24 h 内通过尿液基本完全排除。尿液中未代谢的丁香酚含量低于 0.1%<sup>[20]</sup>。由此可见, 丁香酚在人体中代谢效果非常好, 但其代谢产物还需要进一步证实。

根据目前已获知丁香酚的毒理学实验结果, 丁香酚的急性参考剂量 (acute reference dose, ARfD) 不需要考虑<sup>[10]</sup>。JECFA 规定丁香酚的 ADI 为 0~2.5  $\text{mg}/\text{kg}$ <sup>[21]</sup>。根据 WHO GEMS/Food Cluster Diets(2012) 的调查显示, 中国居民水产品 (未经处理) 的平均消费量分别为淡水鱼 27.0  $\text{g}/\text{d}$ , 海水鱼 1.29  $\text{g}/\text{d}$ , 其他鱼类 7.16  $\text{g}/\text{d}$ , 合计消费水产品 35.5  $\text{g}/\text{d}$ <sup>[22]</sup>。根据农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室 (广州) 2015 年风险监测结果, 水产品中丁香酚残留检出率约为 10.6%, 残留量范围为 3.11~36090.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。按照最高残留量计算, 每人每天从食用鱼中摄入的丁香酚总量最多为 1281.2  $\mu\text{g}$ , 仅占 JECFA 推荐 ADI 的 51.2%。

另外, GB 2760-2014《食品添加剂使用标准》中并未对丁香酚在食品中作为食用添加剂做出明确的限量标准规定, 因此在计算人均每天丁香酚的摄入量时只能考虑其作为渔用麻醉剂的摄入量。初步评估表明, 丁香酚作为鱼类麻醉剂对食用安全没有影响。

### 2.4 使用安全性分析

目前, 对丁香酚麻醉效果的研究主要集中在鱼类麻醉领域, 对虾类产品的麻醉有待进一步研究。基于已有的实验结果, 丁香酚对鱼类的麻醉效果受到多种因素的影响,

考虑到代谢速率的差异性, 鱼体的大小及成熟度在测定麻醉剂的安全浓度和有效浓度中起着重要作用。通常小型鱼所需的浓度比大型鱼低<sup>[23,24]</sup>。且随着鱼龄的增加, 所需麻醉剂的含量增加, 且复苏率偏低<sup>[25,26]</sup>。除了鱼本身的因素, 麻醉剂浓度、麻醉时间、溶氧量等因素也会影响到麻醉效果。鱼类入麻的时间随着麻醉剂浓度的增加而逐渐缩短, 复苏时间也随着丁香酚浓度的增加而增加<sup>[20,27,28]</sup>。然而, 鱼类麻醉所需时间并非总是随着丁香酚浓度的提高而缩短, 而是存在一个临界浓度<sup>[12]</sup>, 麻醉剂浓度过高浓度或麻醉剂时间过长可能会导致毒性致死现象<sup>[20]</sup>。另外, 温度影响鱼体对麻醉剂药物的积累和净化, 提升温度能加快鱼的呼吸频率, 从而使得更多的麻醉剂进入鱼组织中达到麻醉效果<sup>[20,29,30]</sup>, 从而影响鱼体进入麻醉状态所需的时间, 温度越高, 麻醉时间越短<sup>[31,32]</sup>。并不是所有鱼类都受到温度的显著影响。Hseu 等<sup>[30]</sup>在报告中指出, 温度对美洲鲟 (一种淡水鲟鱼) 麻醉效果的影响不明显<sup>[30]</sup>。

此外, 鱼的品种对丁香酚的使用效果具有极大的影响。不同种类的鱼对不同含量的麻醉剂的反应并没有显著的规律性。与暖水鱼相比, 冷水鱼能够对较低浓度的丁香酚麻醉剂产生反应<sup>[24]</sup>。而一般情况下, 生活在高溶氧浓度水域的鱼对麻醉剂敏感性较高, 需要浓度较低<sup>[33]</sup>。丁香酚除了可用于鱼类麻醉, 还可用于部分品种的虾类<sup>[34-37]</sup>。综合现有研究结果, 对于大部分鱼类的推荐浓度为 0.02~0.05

mL/L<sup>[7]</sup>, 鲟的推荐浓度为 0.07 mL/L, 甲壳纲类(如蟹、虾)水产生物的推荐浓度为 100~200 mL/L<sup>[30]</sup>。

在实际应用过程中, 应进行多因素分析, 并结合实际水质的情况(包括 pH、温度等水体条件)以及经济收益等因素合理使用丁香油麻醉剂, 在不影响鱼的成活率的前提下将效益最大化。

### 3 异丁香酚及 AQUI-S

异丁香酚, 分子式  $C_{10}H_{12}O_2$ , 淡黄色微稠厚液体, 具有柔和清甜的辛香, 类似丁香气味。异丁香酚不溶于水和甘油, 溶于乙醇等有机溶剂, 主要存在于丁香、卡南加香石竹、晚香玉等精油中。常为顺式异构体与反式异构体的混合物, 以反式为主(>87%)。异丁香酚可用于配制香精、制备香兰素, 还可以用于配制依兰、肉豆蔻等精油以及多种食用香精。

AQUI-S 是一种水分散性的液体麻醉剂, 主要应用于鱼类、甲壳类动物和水生贝壳类动物。AQUI-S 对于鱼类的麻醉非常有效, 还可以用于大部分畜牧业和运输应用<sup>[38]</sup>, 也可直接在水(海水或者淡水)中稀释使用, 不借助其他溶剂。目前, 美国、新西兰、澳大利亚等国使用的 AQUI-S 渔用麻醉剂主要由新西兰农作物和食品研究所研发<sup>[39]</sup>, 其研发技术已经成熟, 主要成分是异丁香酚(50%)和聚山梨醇酯 80(一种乳化剂, 50%)<sup>[40]</sup>, 异丁香酚是该产品主要的麻醉成分。

#### 3.1 毒理学数据

IARC 认为异丁香酚对动物和人是安全的, 未将异丁香酚列入致癌物<sup>[6]</sup>。

NTP 报告称, 目前普遍缺乏对异丁香酚的毒性和致癌性的评估。NTP 以 F344/N 大鼠和 B6C3F1 小鼠为实验对象进行了为期 2 年的实验研究。两年期大鼠灌喂实验结果表明, 异丁香酚没有导致其乳腺癌和胸腺瘤的发病率增加。因此, 没有确切的证据能够证明异丁香酚的致癌作用。在小鼠试验中有明确的结论指出, 异丁香酚致使雄性大鼠的肝腺细胞瘤和癌症(联合)发病率增加, 但没有充足的实验数据指出异丁香酚会导致雌性小鼠组织细胞肉瘤的发病率增加。另外实验结果表明, 异丁香酚会导致雌性和雄性大鼠的鼻腔以及雌性和雄性小鼠的胃腺、前胃和鼻腔还有雌性小鼠的肾脏发生非肿瘤性病损<sup>[8]</sup>。

NTP 实验结果显示, 异丁香酚引起接触性或过敏性皮炎。在遗传毒性方面, 异丁香酚明显增加体外培养的人类淋巴细胞姐妹染色单体的交换。异丁香酚对于细菌并没有代谢活性或致突变作用, 并且对酵母和中国仓鼠的卵巢细胞也没有致突变作用。目前, 没有明确的实验结果证明异丁香酚对人体有致癌作用、致畸作用以及生殖毒性<sup>[8]</sup>。

EFSA 曾对异丁香酚的遗传毒性进行了大量的体内和体外实验研究。有足够的证据表明, 异丁香酚没有遗传毒

性和神经毒性作用。在两年期的致癌性研究中, EFSA 以小鼠为实验对象进行研究, 发现异丁香酚对雄性小鼠肝脏的致癌性的实验结果是不明确的, 并且对于大鼠和雌性小鼠的癌症发病率也没有任何影响。多项研究结果表明, 异丁香酚与人类的癌症发病率的相关性也并不清楚。考虑到异丁香酚对人类安全没有相关的药理学作用, 因此异丁香酚没有相应的 NOAEL, 其观察到有害作用的最低水平(lowest observed adverse effect level, LOAEL)为 75 mg/(kgbw·d)<sup>[11]</sup>。

另外, 在对小鼠做局部给药后, 异丁香酚能够导致小鼠的淋巴结细胞增殖。然而异丁香酚并没有诱导小鼠血液中的免疫球蛋白 IgE 浓度的增加, 因此异丁香酚并不是一种呼吸致敏剂。异丁香酚对人体的不良反应, 主要反应在皮肤刺激性作用<sup>[41]</sup>。

#### 3.2 各国管理现状

考虑到异丁香酚的毒理学研究结果, 以及多种外界因素的影响, 各国对 AQUI-S 及异丁香酚的监管条例具有一定的差异。

FDA 目前仍在进行 AQUI-S(AQUIS New Zealand Ltd., ANZL)产品的相关评估工作。FDA 初步的实验结果指出, 80 mg/L AQUI-S 浓度是冷水鱼和暖水鱼的安全使用上限<sup>[39]</sup>。另外基于初步的研究数据, FDA 认为 60 mg/LAQUI-S 对于鲑鱼并不安全, 因此推荐浓度 40~50 mg/L。考虑到新西兰 AQUI-S 有限公司推荐使用 AQUI-S 的剂量为 100 mg/L(40min)、175 mg/L(20 min), 远高于 FDA 认为的安全剂量上限, 因此 FDA 于 2006 年 3 月展开的针对 AQUI-S 用于麻醉海水养殖鲑鱼的审批流程至今仍未通过, 该麻醉剂未被允许推广、出售<sup>[42]</sup>。

欧盟批准异丁香酚作为食品调味剂使用。异丁香酚作为麻醉剂使用时, 建议使用剂量为 7.5~13.4mg/L; 其低剂量范围在 2.5~5 mg/L, 可用作轻微麻醉或者减压<sup>[41]</sup>。欧盟药品管理局(European Medicines Agency, EMA)对其使用安全性进行评估, 建议其 ADI 为 0.075 mg/(kg bw·d), 最大残留量(maximum residue limit, MRL)为 6 mg/kg<sup>[41]</sup>。

而在许多国家(包括新西兰、智利、韩国、法罗群岛、哥斯达黎加和洪都拉斯等)<sup>[40]</sup>, AQUI-S 是一种“零休药期”的渔用麻醉剂, 主要用于鱼类和贝壳类的养殖和捕捞<sup>[43]</sup>。新西兰在 2005 年规定食用鱼中异丁香酚的 MRL 为 0.1 mg/kg, 2013 年撤销了最大残留限量, 2015 年食品标准中未将异丁香酚列入残留限量名录<sup>[43]</sup>。

AQUI-S 在 2009 年底由澳大利亚农药和兽药管理局(Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, APVMA)完成商业制备许可认证, 用于可鱼类的麻醉剂和镇定<sup>[12]</sup>。并且, AQUI-S 是澳大利亚西部唯一注册使用的食用鱼类麻醉剂产品<sup>[44]</sup>。异丁香酚用于麻醉剂鲑鱼的推荐剂量为 17~25 mL/kg, 在推荐剂量范围内使用该麻醉剂, 休

药期为 0<sup>[45]</sup>。

### 3.3 食用安全性分析

异丁香酚通过 JECFA(2004)评估, 确认其在食品中的安全性, 并且不设置使用剂量限制或 ADI 值。随后, EFSA 的食品添加剂部门对异丁香酚作为调味品、加工助剂、食品接触材料进行评价, 该小组对其遗传毒性持保留意见。欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)近期对异丁香酚做了毒理学安全评估, 规定了其 ADI 值, 并推荐 MRL 为 6mg/kg(以鲑鱼为参考对象)<sup>[46]</sup>。

异丁香酚作为渔用麻醉剂, 主要残留在鱼皮和鱼肉中。根据 EMA 提供的数据, 异丁香酚没有相应的 NOAEL 值, 其毒理学 LOAEL 为 75 mg/(kgbw·d)。考虑到其不确定系数(uncertainty factor, UF)为 1000, 因此, 设定 ADI 为 0.075 mg/(kgbw·d)<sup>[41]</sup>。

据欧盟统计, 每人每天平均食用 300 g 鱼<sup>[22]</sup>, 以鲑鱼为参考标准, 推荐 MRL 值 6mg/kg, 因此, 每人每天通过食用鱼肉摄入的异丁香酚为 1800 μg。另外, 考虑到人体摄入的异丁香酚除来自鱼类的麻醉剂外还有食用调味剂。根据 JECFA 标准, 异丁香酚作为调味剂摄入量不得超过 120 μg/(人·d)<sup>[21]</sup>, 因此每人每天摄入的异丁香酚约为 1920 μg。按照人均体重 60 kg 计算, 人均每日摄入的异丁香酚量仅占 EMA 推荐 ADI 的 42.7%。由此可见, 在合理使用范围内, 异丁香酚对人体是安全的。

### 3.4 使用安全性分析

鱼体的生理性质包括成熟度、大小、种类等, 以及水质的参数如温度、pH、盐度、硬度等, 都可能影响异丁香酚麻醉剂的代谢速率。从实验研究来看, 温度对麻醉效果的影响程度最大, pH 的影响最小<sup>[40]</sup>。

AQUI-S 在 10~20 mg/L(有效成分异丁香酚的浓度 5~10 mg/L)浓度下, 对大部分鱼类有显著麻醉作用。并且在 20 mg/L 浓度下, 异丁香酚不会对鱼产生毒副作用。有实验结果表明, 随着 AQUI-S 麻醉剂浓度的增加, 麻醉速度明显加快<sup>[12]</sup>。对于不同品种的鱼类, AQUI-S 的麻醉效果有显著性差异。20~50 mg/L 浓度 AQUI-S 仅适用于冷水鱼, 可使其在 3~5 min 内迅速进入麻醉状态; 而在 60~80 mg/L 浓度范围内, 冷水鱼和暖水鱼在麻醉时间上没有显著差异<sup>[47]</sup>。

尽管丁香油中有效麻醉成分丁香酚含量可达 95%, 而 AQUI-S 中异丁香酚含量仅 50%, 但 AQUI-S 的麻醉效果要比丁香油明显, 并且更加安全。目前, AQUI-S 已在许多国家批准使用, 新西兰、澳大利亚等国使用的 AQUI-S 主要来自新西兰 AQUI-S 有限公司。作为一款在市场上广泛流通的水产品麻醉剂产品, 该公司指出 AQUI-S 可用于水产品捕捞、运输等方面, 并且没有明确的安全剂量下限或上限。但超过推荐剂量的话, 水生动物的深度麻醉可能会导

致无法苏醒至死亡。

针对不同种类的水生动物, 新西兰 AQUI-S 有限公司推荐使用剂量和麻醉时间如表 1 所示<sup>[48]</sup>。

表 1 新西兰 AQUI-S 有限公司推荐使用剂量和麻醉时间  
Table 1 Recommended dosage and duration of anesthesia by New Zealand AQUI-S Ltd.

种类	推荐剂量	麻醉时间
鱼类	100 mg/L	40 min
	175 mg/L	20 min
甲壳纲动物 (如蟹、龙虾, 等)	150 mg/L	40 min
	250 mg/L	20 min
软体动物 (如章鱼、海参, 等)	200 mg/L	40 min
	300 mg/L	20 min

AQUI-S 目前已是一款成熟的渔用麻醉剂产品, 对鱼类的麻醉是安全有效的。由于针对不同种类水产品的使用条件做出了相应的建议, 在使用时可根据不同品种选择合适的使用剂量。

## 4 甲基丁香酚及其安全性分析

甲基丁香酚, 分子式  $C_{11}H_{14}O_2$ , 呈现淡黄色, 具有丁香和康乃馨的味道。甲基丁香酚具有脂溶性, 不溶解于水、乙二醇或丙二醇, 溶解于甲醇、乙醚、氯仿等其他有机溶剂中。甲基丁香酚在室温下不稳定, 在空气中颜色会变深, 并且在室温下很容易蒸发。

甲基丁香酚可从丁香酚中直接分离获得, 是一种常见的苯丙素类物质。甲基丁香酚存在于很多植物中, 特别是香料、药用植物, 主要用作果冻、烘焙食物、软饮料、口香糖、糖果、布丁和冰淇淋等食物中的芳香剂、调味剂<sup>[49]</sup>。在美国, 甲基丁香酚是一种活性杀虫剂的有效成分<sup>[50]</sup>。另外, 甲基丁香酚也被用作啮齿类动物麻醉剂<sup>[51]</sup>。

IARC 通过小鼠灌喂实验和小鼠/大鼠腹腔内给药实验, 证实甲基丁香酚对哺乳动物具有致癌作用。试验结果表明, 在小鼠试验中, 口服甲基丁香酚导致肝脏肿瘤(肝腺瘤、肝细胞癌、肝母细胞瘤)的发病率显著增加。在大鼠试验中, 口服甲基丁香酚引起肝肿瘤(肝细胞腺瘤、肝细胞癌、肝胆管、肝胆管细胞癌)的发病率明显升高, 并且在雌性和雄性大鼠的胃腺、肾小管中诱发良性和恶性神经内分泌肿瘤, 对雌性大鼠诱发乳腺纤维腺瘤、皮肤纤维瘤、皮肤纤维瘤或纤维肉瘤(联合)或对雄性大鼠诱发间皮瘤。在大鼠试验中, 肾脏肿瘤、纤维瘤和皮肤纤维肉瘤、间皮瘤等都是罕见的自发性肿瘤。腹腔内给药研究结果显示, 腹腔注射甲基丁香酚引起雄性小鼠肝细胞腺瘤的发生率显著增加<sup>[52]</sup>。IARC 表示, 尽管甲基丁香酚在细菌中不会导致突变, 但它可诱导染色体体外畸变, 影响 DNA 加合物在啮齿

类动物肝脏内的形成<sup>[52]</sup>。

因此, IARC 将甲基丁香酚划入 2B 类致癌物质<sup>[53]</sup>(Group 2B, 即对人体致癌的可能性较低的物质或混合物, 在动物实验中发现的致癌性证据尚不充分, 对人体的致癌性的证据有限)。

NTP 基于大量的动物实验, 有足够的证据表明甲基丁香酚对人体有致癌性。实验结果显示, 2 种小鼠口服摄入甲基丁香酚, 会诱发数个组织部位产生肿瘤。甲基丁香酚作用于胃管可诱发大鼠或小鼠良性或者恶性的肝细胞癌。与 IARC 的结果一致, 甲基丁香酚能够诱导大鼠产生良性或恶性的胃部肿瘤(神经内分泌肿瘤)、肾腺管瘤、乳腺(纤维腺瘤)、皮肤纤维瘤等<sup>[54]</sup>。

EFSA 曾发布相关文件, 明确在哺乳动物毒理学领域, 甲基丁香酚被认定具有遗传毒性和致癌性<sup>[10]</sup>。

尽管美国基于动物实验数据, 认为甲基丁香酚对人体一定有致癌性, 然而目前还没有任何流行病学的研究能够证明人类癌症与甲基丁香酚的摄入或接触相关<sup>[55]</sup>。不过, 甲基丁香酚对实验动物有致癌作用是明确的。

## 5 讨论和建议

### 5.1 使用建议

综合丁香酚类麻醉剂的使用安全性和食用安全性分析, 尽管 AQUI-S 麻醉剂在同类产品中最成熟、安全, 且很多国家已批准使用, 但考虑到新西兰生产的 AQUI-S 的推荐使用剂量远高于 FDA 认为的安全剂量上限, 美国仍未批准该产品的推广、出售。另一方面, 据调查, 目前我国市场上使用的渔用麻醉剂主要是丁香油水门汀, 其丁香酚含量高达 99%, 价格为每瓶(20 mL)10~20 元。而 AQUI-S 需从新西兰等国家进口, 其异丁香酚含量约为 50%。综合考虑成本、麻醉效果和使用安全性等因素, 推荐在水产品长途运输中首选丁香油麻醉剂。但选择使用的丁香油产品, 其丁香酚含量需达到 99%以上, 以降低杂质成分可能导致的食用安全风险。

### 5.2 管理建议

针对丁香油麻醉剂的使用管理, 各国还存在很大的争议, 很多国家考虑到丁香油中可能含有甲基丁香酚, 而尚未批准该麻醉剂的使用, 而日本等国家已允许丁香油作为鱼类麻醉剂在市场上流通使用。目前, 我国还没有丁香油渔用麻醉剂的相关管理条例。考虑到日本高度重视食品安全问题, 且对水产养殖领域的用药规定在国际上非常领先, 建议在我国相关研究缺失的情况下, 对丁香油的使用管理参考日本对丁香酚的规定, 设立临时的使用和管理限量。具体药浴剂量为 50~200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 残留限量值为 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 对于休药期, 鱼类为 7 d, 甲壳类为 10 d。

AQUI-S 麻醉剂的使用管理, 根据不同品种使用限量

有差异。对于大部分鱼类, 推荐剂量为 100mg/L(40 min); 对于甲壳纲类动物如蟹、龙虾等, 推荐剂量为 150 mg/L(40 min); 对于软体动物, 如章鱼、海参等, 推荐剂量为 150 mg/L(40 min)。AQUI-S 的休药期为 0。

### 5.3 研究建议

目前, 对于丁香酚的代谢研究仅限于人体领域, 缺乏针对鱼类的实验数据。要制定我国水产品中丁香酚的最高残留限量标准, 就需要对其标志代谢物和靶组织进行研究。此外, AQUI-S 产品主要依赖国外进口, 针对这种情况, 建议我国科研机构联合企业开展异丁香酚类麻醉剂产品的自主研发, 并对其使用剂量做明确规定。

### 参考文献

- [1] Shawn D, Coyle Robert M, Durborow James H, *et al.* Anesthetic in aquaculture [Z]. SRAC Publication No.3900.
- [2] Wiley Blackwell. Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals [M]. Colorado: Wiley e-book, 2014.
- [3] Harper C. Status of clove oil and eugenol for anesthesia of fish (150) [J]. Aquacult Magaz, 2003, 29(6): 41-42.
- [4] Guidance for industry, concerns related to the use of clove oil as an anesthesia for fish (150) [Z].
- [5] IPCS. IARC Summaries & Evaluations-eugenol [Z].
- [6] International Agency of Research on Cancer. IARC classified radiofrequency electromagnetic fields as possibly carcinogenic to humans [Z].
- [7] U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health Carcinogenesis. Studies of eugenol in F344/N Rats and B6C3F1 mice (feed studies)[Z].
- [8] Executive summary of safety and toxicology information-isoegenol [R]. 1991, [https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem\\_background/exsumpdf/isoegenol\\_508.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/isoegenol_508.pdf)
- [9] Cropwatch claims victory regarding "26 allergens" legislation [Z].
- [10] European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance eugenol [J]. EFSA J, 2010, 8(4):1542.
- [11] National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of isoegenol (CAS No. 97-54-1) in F344/N Rats and B6C3F1 mice (gavage studies) [R]. 2010, [https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt\\_rpts/tr551.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr551.pdf)
- [12] Gladden JN, Brainard BM, Shelton JL. Evaluation of isoegenol for anesthesia in koi carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Am J Vet Res, 2010, 8(71): 859-866.
- [13] Ackerman P, Galesloot H, Christine M. Nitinat river salmon hatchery-fish health management plan department of fisheries and oceans salmon enhancement program [Z].
- [14] Pacific herring anesthetic trials with eugenol, isoegenol and MS-222 in association with coded wire tagging study [R]. Canad Tech Report Fish Aquat Sci, 2005.
- [15] The Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan [EB/OL]. [2010-03-01].

- [http://www.maff.go.jp/j/syouan/suisan/suisan\\_yobo/pdf/100316\\_suisan\\_ikyaku.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/suisan/suisan_yobo/pdf/100316_suisan_ikyaku.pdf).
- [16] Hamackova J, Kouril J, Kozak P. Clove oil as an anesthetic for different freshwater fish species [J]. *Bulgar J Agric Sci*, 2006, 12: 185–194.
- [17] GB 2760-2011 食品安全国家标准食品添加剂使用标准[S].  
GB 2760-2011 National food safety standard-Standard for uses of food additives [S].
- [18] GB2762-2012 食品安全国家标准食品中污染物限量[S].  
GB2762-2012 National food safety standard-Limits of pollutants in food [S].
- [19] Fischer IU, Unrun GE, Dengler HJ. The metabolism of eugenol in man [J]. *Xenobiotica*, 1990, 20(2): 209–222.
- [20] 陈德芳, 汪开毓, 廖国平, 等. 丁香酚对斑马鱼麻醉效果的研究[J]. *水产科技情报*, 2013, 40(4): 193–198.  
Chen DF, Wang KY, Liao GP, *et al.* Studies on anesthetic effect of eugenol on zebra fish [J]. *Fish Sci Technol Inform*, 2013, 40(4): 193–198.
- [21] WHO. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [Z].
- [22] WHO. WHO GEMS/Food cluster diets, GEMS/Food consumption [R]. 2012,  
[https://extranet.who.int/sree/Reports?op=vs&path=WHO\\_HQ\\_Reports/G7/PROD/EXT/GEMS\\_cluster\\_diets\\_2012&userid=G7\\_ro&password=inetsoft123](https://extranet.who.int/sree/Reports?op=vs&path=WHO_HQ_Reports/G7/PROD/EXT/GEMS_cluster_diets_2012&userid=G7_ro&password=inetsoft123).
- [23] Shawn DC, Robert M. Anesthetics in aquaculture [J]. SRAC Publication, 2004, 11: 3900.
- [24] Anders, Mckinleys, Lavecchiam. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance [J]. *North Am J Fish Manag*, 1997, 17(2): 301–307.
- [25] Oikawa S, Takeda T, Itazawa Y. Scale effects of MS-222 on a marine teleost, porgy major [J]. *Aquaculture*, 1994, 121(4): 369–379.
- [26] Hiroki Y, Atsuashi S, Itsuki C. The effectiveness of clove oil as an anesthetic on adult common carp, *Cyprinus carpio L.* [J]. *J Anim Vet Adv*, 2011, 10(2): 210–213.
- [27] 李靖, 刘宝良, 王顺奎, 等. 丁香酚对大西洋鲑麻醉效果的实验研究[J]. *海洋科学进展*, 2015, 01(33): 92–99.  
Li J, Liu BL, Wang SK, *et al.* Studies on anesthetic effect of eugenol on salmon [J]. *Adv Marine Sci*, 2015, 01(33): 92–99.
- [28] 李春梅, 黄永坚. 丁香酚对鲫鱼、锦鲤麻醉效果的研究[J]. *广西轻工业*, 2009, 10(131): 6–8.  
Li CM, Huang YJ. Studies on anesthetic effect of eugenol on carp and cyprinus carpio [J]. *Guangxi J Light Ind*, 2009, 10(131): 6–8.
- [29] 孟庆磊, 董学斌, 朱永安, 等. 丁香酚对澳洲长鳍鳗麻醉效果的研究[J]. *农学学报*, 2011, 01(7): 46–50.  
Meng QL, Dong XF, Zhu YA, *et al.* Use of eugenol as an anesthetic of Australian longfinned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner) [J]. *J Agric*, 2011, 01(7): 46–50.
- [30] Hseu JR, Yeh SL, Chu YC. The anesthetic effect of 2-phenoxyethanol in goldlined sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *J Taiwan Fish Res*, 2(2): 41–49.
- [31] 吕书为, 雷红涛, 孙明远. 鱼用麻醉剂安全性研究进展[J]. *食品科学*, 2012, 33(1): 267–270.  
Lu SW, Lei HT, Sun MY. Research process in safety of fish anesthetics [J]. *Food Sci*, 2012, 33(1): 267–270.
- [32] İlhan Aydın, Bilal Akbulut, Ercan Küçük. Effects of temperature, fish size and dosage of clove oil on anaesthesia in turbot (*Psetta maxima linnaeus*, 1758) [J]. *Turkish J Fish Aquatic Sci*, 2015, 4(13): 899–904.
- [33] 魏锁成. 用于鱼类的麻醉剂及麻醉剂管理[J]. *西北民族大学学报*, 2005, 03(1): 43–45.  
Wei SC. Anesthetics and anesthetics management for fish [J]. *J Northwest Univ Nat*, 2005, 03(1): 43–45.
- [34] 黄雪芹, 孔杰, 张天时. 丁香酚对中国对虾幼虾麻醉效果的研究[J]. *安徽农业科技*, 2008, 36(22): 9572–9574.  
Huang XQ, Kong J, Zhang TS. Studies on Anesthetic effect of eugenol on juvenile *Penaeus chinensis* [J]. *Anhui Agric Sci Technol*, 2008, 36(22): 9572–9574.
- [35] 何新龙, 傅洪拓, 龚永生, 等. 丁香酚对日本沼虾麻醉效果的研究[J]. *中国农学通报*, 2007, 23(9): 620–623.  
He XL, Fu HT, Gong YS. Eugenol as an anesthetic for the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense* [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2007, 23(9): 620–623.
- [36] 李世宏, 杨亚军, 刘希望, 等. 丁香酚在畜牧业生产中的应用[J]. *中国草食动物科学*, 2015, 05: 68–69.  
Li SH, Zhang YJ, Liu XW. Application of eugenol in animal husbandry [J]. *China Plant-Eat Anim Sci*, 2015, 05: 68–69.
- [37] Waterstrat PR. Evaluation of eugenol as an anesthetic for the American lobster, *Homarus americanus* [J]. *J World Aquacult Soc*, 2005, 36: 420–424.
- [38] AQUI-S New Zealand Ltd [EB/OL]. <http://www.aqui-s.com/index.php/aqui-s-anaesthetic>.
- [39] James D, Bowker DC, Molly P. The efficacy of AQUI-S® as an anesthetic for use on juvenile and adult largemouth bass *micropterus salmoides* drug research report [R]. Drug Research Report DRR-R6001-2006, 2006.
- [40] Susan J, Abdolmajid HM. AQUI-S, a new anesthetic for use in fish propagation [J]. *Global Vet*, 2012, 9(2): 205–210.
- [41] Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. European public MRL assessment report (EPMAR)-Isoeugenol (fin fish) [Z].
- [42] U.S. Food and Drug Administration. Animal & veterinary [EB/OL]. [2016-9-19] <http://www.fda.gov/animalveterinary/developmentapprovalprocess/minoruse/minorspecies/ucm125445.htm>
- [43] Available chemotherapy in Mediterranean fish farming: use and needs. The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture, 2009 [Z].
- [44] SAEC (Schools Animal Ethics Committee) [EB/OL]. [2016-11-1] <https://www.wa.gov.au/search-results.html?cx=013143409236470047600%3Aw3rslsolyat&q=AQUI-S&sa=Search&cof=FORID%3A11>.
- [45] Australian Aquatic Veterinary Emergency Plan. Operational procedures manual destruction [R]. 2009, <http://www.agriculture.gov.au/SiteCollectionDocuments/animal-plant/aquatic/aquavetplan/destruct-manual.pdf>
- [46] A Scientific Opinion on the safety and efficacy of propenylhydroxybenzenes (chemical group 17) when used as flavorings for all animal species. EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed [J]. *EFSA J*, 2012, 10(1): 2532
- [47] Stehly GR, Gingerich WH. Evaluation of AQUI-S (efficacy and minimum toxic concentration) as a fish anaesthetic/sedative for public aquaculture in the United States [J]. *Aquacult Res*, 1999, 30: 365–372.

- [48] AQUI-S Enthusiasm. New Zealand Ltd [EB/OL]. <http://www.aqui-s.com/index.php/applications/euthanasia>
- [49] Committee on herbal medicinal products, public statement on the use of herbal medicinal products containing methyleugenol [Z].
- [50] United States Environmental Protection Agency.Methyl Eugenol. (ME) (203900) fact sheet [EB/OL]. [http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet\\_203900.htm](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet_203900.htm).
- [51] US National Toxicology Program. Final report on carcinogens background document for methyleugenol [EB/OL]. [http://ntp-server.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT\\_rpts/tr491.pdf](http://ntp-server.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr491.pdf).
- [52] PAN pesticides database-chemicals, methyleugenol [EB/OL]. [http://www.pesticideinfo.org/Detail\\_Chemical.jsp?Rec\\_Id=PC37623#Working](http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC37623#Working)
- [53] IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans [EB/OL]. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/>
- [54] U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies on methyleugenol in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage Studies) [R]. 2000.<http://ntp.niehs.nih.gov/go/roc13>.

(责任编辑: 姚 菲)

### 作者简介



金 元, 硕士, 主要研究方向为食品安全与毒理学。

E-mail: amberjy05@126.com



李 乐, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品质量标准与风险评估。

E-mail: lil@cafs.ac.cn