

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20230925010

罗勒精油在珍珠龙胆石斑鱼保活过程中的 残留规律研究

黄宇豪, 吴炜俊, 梁喜丽, 陈伟澎, 范秀萍*, 秦小明*

[广东海洋大学食品科技学院/国家贝类加工技术研发分中心(湛江)/广东省水产品加工与安全重点实验室/广东省海洋生物制品工程实验室/广东省海洋食品工程技术研究中心/水产品深加工广东普通高等学校重点实验室, 湛江 524088]

摘要: **目的** 探讨罗勒(*Ocimum basilicum* L.)精油在珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)保活过程中的残留与消除规律。**方法** 采用气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析罗勒精油中挥发性物质的组成; 将鱼体浸泡在含有不同质量体积比(0、5、10、15、20、40、60 mg/L)罗勒精油的新鲜海水中进行暂养处理, 用10 mg/L罗勒精油诱导休眠处理, 并在新鲜海水中进行有水保活与消除实验。以肌肉中丁香酚含量为指标, 分析珍珠龙胆石斑鱼在暂养、诱导休眠、有水保活中罗勒精油主要成分的变化规律。**结果** 罗勒精油的主要成分为丁香酚(67.45%)和 β -石竹烯(31.44%); 罗勒精油质量浓度为10 mg/L时, 珍珠龙胆石斑鱼的半数致死时间最长, 达到79 h。罗勒精油主要成分 β -石竹烯在石斑鱼暂养、休眠与保活过程中均低于检出限。石斑鱼在10 mg/L罗勒精油暂养72 h过程中, 丁香酚含量在暂养48 h时达到峰值9.43 mg/kg, 之后显著下降($P<0.05$); 并在22°C新鲜海水中72 h内代谢消除至0.05 mg/kg。20 mg/L罗勒精油诱导石斑鱼休眠后, 在新鲜海水中复苏24 h后丁香酚残留水平降至0.06 mg/kg; 而在低温保活条件下72 h后显著下降至0.10 mg/kg, 表明珍珠龙胆石斑鱼经罗勒精油暂养与诱导休眠后, 低温保活72 h可通过代谢消除丁香酚的残留。**结论** 10~20 mg/kg罗勒精油在珍珠龙胆石斑鱼保活中可安全使用。

关键词: 珍珠龙胆石斑鱼; 罗勒精油; 残留; 保活; 安全性

Residual rule of *Ocimum basilicum* L. essential oil in the live transportation of Pearl Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)

HUANG Yu-Hao, WU Wei-Jun, LIANG Xi-Li, CHEN Wei-Peng, FAN Xiu-Ping*, QIN Xiao-Ming*

[College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University/National Research and Development Branch Center for Shellfish Processing (Zhanjiang)/Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety/Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Seafood/Guangdong Province Engineering Laboratory for Marine Biological Products/Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Product of Guangdong Higher Education Institution, Zhanjiang 524088, China]

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0901601)、广东省大学生创新创业训练计划项目(S202110566001)、广东海洋大学科研启动经费资助项目(060302042101)、广东海洋大学创新团队项目(CXTD2021006)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFD0901601), the Guangdong Provincial College Students Innovation and Entrepreneurship Training Program Project (S202110566001), the Program for Scientific Research Start-up Funds of Guangdong Ocean University (060302042101), and the Innovation Team Project of Guangdong Ocean University (CXTD2021006)

*通信作者: 范秀萍, 博士, 副教授, 主要研究方向为水产品保活流通与加工利用。E-mail: fanxp08@163.com

*Corresponding author: FAN Xiu-Ping, Ph.D, Associate Professor, Guangdong Ocean University, No.1 Haida Road, Zhanjiang 524088, China. E-mail: fanxp08@163.com

ABSTRACT: Objective To investigate the residual and elimination rules of *Ocimum basilicum* L. essential oil in the live transportation of Pearl Gentian Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂). **Methods** The composition of volatile substances in *Ocimum basilicum* L. essential oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Pearl Gentian Grouper were immersed in fresh seawater containing different mass to volume ratios (0, 5, 10, 15, 20, 40, 60 mg/L) of *Ocimum basilicum* L. essential oil in acclimation experiments, and fishes were induced dormancy with 10 mg/L of *Ocimum basilicum* L. essential oil. Then fishes were transport to fresh seawater for live preservation and elimination experiments. The metabolic change of the main components of *Ocimum basilicum* L. essential oil in acclimation, dormancy and living preservation were analyzed with the content of eugenol. **Results** The main components of *Ocimum basilicum* L. essential oil were eugenol (67.45%) and β -caryophyllene (31.44%). When the mass concentration of *Ocimum basilicum* L. essential oil was 10 mg/L, the median lethal time of Pearl Gentian Grouper was the longest, reaching 79 h. The main component of *Ocimum basilicum* L. essential oil, β -caryophyllene, was below the limit of detection during acclimation, dormancy and living preservation. During 72 h acclimation with 10 mg/L *Ocimum basilicum* L. essential oil, eugenol reached its maximum of 9.43 mg/kg at 48 h and then decreased significantly ($P<0.05$). It could be metabolically eliminated to 0.05 mg/kg within 72 h in fresh seawater at 22°C. After 20 mg/L *Ocimum basilicum* L. essential oil induced grouper dormancy, the eugenol residue level of grouper decreased to 0.06 mg/kg after 24 h of resuscitation in fresh seawater. Moreover, it decreased significantly to 0.10 mg/kg after 72 h under cold live transportation condition. This result showed that the residue of eugenol can be eliminated by metabolism during cold live preservation for 72 h after acclimation and dormancy with basil essential oil. **Conclusion** 10–20 mg/kg *Ocimum basilicum* L. essential oil can be safely used in the live transportation of Pearl Gentian Grouper.

KEY WORDS: Pearl Gentian Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂); *Ocimum basilicum* L. essential oil; residue; live transportation; security

0 引言

在鲜活水产品的保活流通中,水产品受到各种胁迫因素,如水质恶化、环境噪音、活动空间窄小、道路颠簸、溶氧量减少等的影响^[1],这些因素导致水产品体内的应激水平上升,从而引起能量物质消耗、存活时间与存活率降低、肌肉品质与风味下降等问题。为缓解水产品活体流通过程中的应激作用,人工休眠技术与麻醉剂得到广泛应用^[2-3]。与传统低温休眠相比,麻醉剂的使用能有效地降低应激、提高运输效率。但麻醉剂在水产品中的残留及代谢产物的安全性一直备受关注^[4-5]。植物的天然提取成分如丁香精油、百合精油、玉兰精油等被用于鱼类应激缓解作用的研究^[6-8]。其中应用较广泛的如丁香精油,其可有效地降低鲤鱼的代谢活性而诱导其休眠,药代动力学研究结果表明,鲤鱼组织中的丁香酚能在 48 h 消除^[9-11]。

罗勒(*Ocimum basilicum* L.)精油来自于罗勒植物的提取物,主要成分有丁香酚、百里香酚、香叶醇等,研究发现其具有抗炎、抗氧化、抑菌等多种活性^[12-13]。在鲈鱼(*Lophosilurus alexandri*)的运输中,罗勒精油具有镇静作用,可减少耗氧量、氨排泄和生化变化等,并可降低鲈鱼的氧化损伤^[14]。罗勒精油在细鳞肥脂鲤不同组织中消除速

率不同,在鳃中消除较慢^[15]。但罗勒精油的成分受产地、环境及季节等因素的影响差异较大,且不同的鱼类的耐受能力各不相同,罗勒精油在水产运输中作为镇静剂或麻醉剂,其在鱼体内的消除及作用机制还有待研究^[16-17]。

珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)是一种温水性海洋经济鱼类,前期的研究已经发现罗勒精油具有缓解运输应激作用^[18-19],但其在鱼体内的残留与消除过程并不清楚。本研究对罗勒精油在低温保活运输过程中珍珠龙胆石斑鱼体内的残留与消除进行分析,以期罗勒精油安全使用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验材料

珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)鲜活品购自湛江市霞山区水产批发市场,来自湛江东海岛石斑鱼养殖场,体质量在 500~700 g 范围内。挑选体质健康、无外伤的珍珠龙胆石斑鱼作为实验对象,将鱼放入袋子充氧加水后袋口扎紧打包,在 2 h 之内运输至实验室。

罗勒精油(食品级, 江西源上草香料有限公司)。

1.1.2 实验仪器

鱼类保活运输系统(定制)(广州铭创生物科技有限公司); Varioskan 全自动酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Agilent7890A/5975C 气相色谱-质谱联用仪、DB-1701 弹性石英毛细管柱(32 mm×30 m, 0.25 μm)(美国 Agilent 公司); YC-800 低温生化培养箱(北京亚星仪科科技有限公司); GC-2030 气相色谱仪(日本岛津公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 罗勒精油的成分分析

参考 IQBAL 等^[20]的方法, 采用 GC-MS 分析罗勒精油中挥发性物质的组成。HP-5MS 石英毛细管柱(30 mm×0.25 mm, 0.25 μm), 对照谱库 NIST14, 对挥发性物质进行定性分析, 并采用面积归一法计算出各成分的相对含量。

1.2.2 不同浓度罗勒精油对珍珠龙胆石斑鱼的存活能力影响分析

罗勒精油用无水乙醇配制成质量浓度分别为 0、5、10、15、20、40、60 mg/L 的罗勒精油溶液。将 70 条珍珠龙胆石斑鱼随机分成 7 组, 分别放入到含有不同质量浓度罗勒精油的暂养池中暂养, 采用制冷机保持水温(22±1)°C、鱼水质量比 1:10, 溶解氧 6.0~7.0 mg/L, 期间不进行喂食, 记录每条鱼的死亡时间, 得到在不同质量浓度罗勒精油下石斑鱼的存活时间与存活率, 并计算石斑鱼的半数致死时间^[18]。

1.2.3 罗勒精油在珍珠龙胆石斑鱼暂养过程中的残留和消除分析

珍珠龙胆石斑鱼在含有 10 mg/L 的罗勒精油海水中暂养 72 h 后转移到新鲜海水中进行消除实验, 分别于暂养 0、24、48、72 h, 复苏 24、48、72 h 取出 3 条珍珠龙胆石斑鱼, 取其背肌, 分析丁香酚与石竹烯的含量。

1.2.4 罗勒精油诱导石斑鱼休眠后肌肉中罗勒精油的消除分析

珍珠龙胆石斑鱼于新鲜海水中暂养 24 h 后, 转移到 18°C, 含有 20 mg/L 的罗勒精油的海水中, 保持 3 min, 诱导珍珠龙胆石斑鱼休眠。将休眠后的石斑鱼转移到(22±1)°C、鱼水质量比 1:10、溶解氧 6.0~7.0 mg/L 的新鲜海水中, 分别在复苏 0、24、48 h 取 3 条鱼的背肌, 分析丁香酚与石竹烯的含量。

1.2.5 有水保活过程中珍珠龙胆石斑鱼肌肉中罗勒精油的残留变化

首先, 将珍珠龙胆石斑鱼的暂养暂养于(22±1)°C、含有 10 mg/L 的罗勒精油、鱼水质量比 1:10、溶解氧 6.0~7.0 mg/L 的海水中, 并保持 24 h。然后, 转移到 18°C, 含有 20 mg/L 的罗勒精油的海水中, 保持 3 min, 诱导珍珠龙胆石斑鱼休眠。最后, 将珍珠龙胆石斑鱼放入罗勒精油质量浓度为 10 mg/L、鱼水质量比 1:2 的保活箱中, 置于 15°C 的低温生化箱中进行模拟静态运输。分别在保活 0、12、24、48、72 h 取珍

珠龙胆石斑鱼鱼肉背肌, 分析丁香酚与石竹烯的含量。

1.2.6 丁香酚和石竹烯含量测定方法

丁香酚含量参照 GB 31656.6—2021《食品安全国家标准 水产品中丁香酚残留量的测定 气相色谱-质谱法》进行测定, 丁香酚含量的标准曲线为: $Y=829.02X-12933$, $r^2=0.9953$, 其中, Y 为峰面积比, %; X 为丁香酚含量, μg/mL。

参考王勇等^[21]的方法, 采用气相色谱法分析。色谱柱为 DB-1701 弹性石英毛细管柱(32 mm×30 m, 0.25 μm)。

1.3 数据处理

实验数据采用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行统计和显著性分析, 结果以平均值±标准偏差来表示, 单因素分析结合 Tukey 检验进行多重比较, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 罗勒精油的成分分析

罗勒精油主要成分为丁香酚与 β-石竹烯, 其中二者的成分占比分别为 67.45% 和 31.44%, 占总成分的 98.89%(表 1)。丁香酚作为罗勒精油的主要成分已有报道, 具有抗炎、抗氧化、抗菌等多种活性, 是广泛应用于水产中的一类鱼类镇静麻醉剂^[4,18-19], 被美国食品药品监督管理局(Food and drug administration, FDA)认定为“一般认为安全”(generally recognized as safe, GRAS)的食品添加剂, 在我国丁香酚推荐的可接受日摄入量(acceptable daily intake, ADI)为 2.5 mg/kg BW^[22-23]。而研究显示, β-石竹烯也是 *Ocimum tenuiflorum* L. 的主要成分, 具有抗氧化、抗炎与中枢神经镇静催眠作用^[24], 为 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》批准使用的食品添加剂, 但目前在水产食品中还没有相关安全性的研究报道。本研究所用的罗勒精油为罗勒叶提取物经纯化后的产品, 主要作为香料用于食品中, 其主要成分丁香酚和 β-石竹烯均为具有镇静催眠作用、安全的食品添加剂。

表 1 罗勒精油的成分分析表
Table 1 Composition analysis table of basil essential oil

成分名称	CAS 号	相对含量/%
丁香酚	97-53-0	67.45
β-石竹烯	87-44-5	31.44
α-石竹烯	6753-98-6	0.80
氧化石竹烯	1139-30-6	0.18
α-蒎烯	3856-25-5	0.13

2.2 罗勒精油对珍珠龙胆石斑鱼存活能力的影响

不同浓度罗勒精油对珍珠龙胆石斑鱼存活能力的影响见图 1。在 0~10 mg/L 条件下, 石斑鱼均存活率随着时间

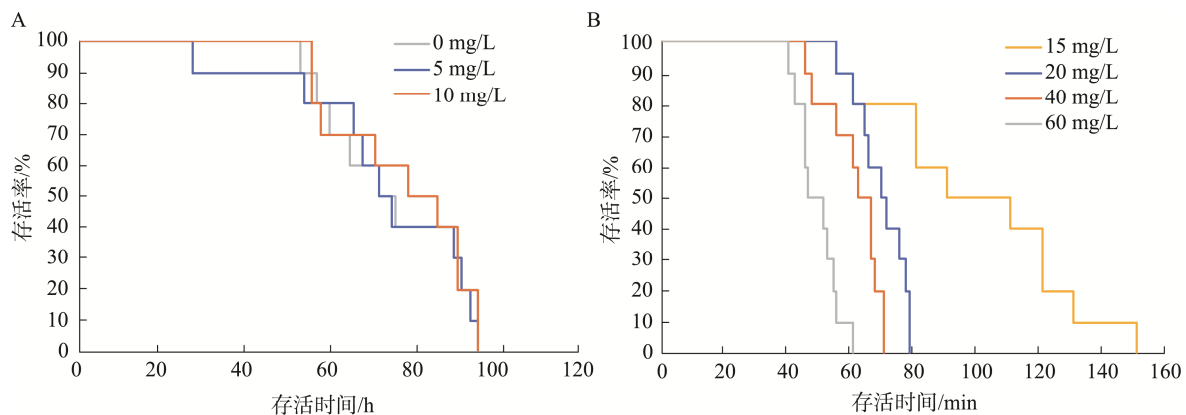
的延长而下降, 石斑鱼半数致死时间(median lethal times, MLTs)为 72~79 h(图 1A), 且 5、10 mg/L 罗勒精油组与 0 mg/L 精油组石斑鱼的存活时间无显著差异($P>0.05$), 表明 5~10 mg/L 的罗勒精油对石斑鱼起轻度镇静作用, 对其存活能力无显著影响; 当罗勒精油质量浓度在(15~60 mg/L)时, 石斑鱼的存活时间随精油质量浓度的上升而显著下降($P<0.05$), MLTs 为 46~90 min(图 1B)。在罗勒精油质量浓度为 60 mg/L 时, 40 min 后出现第一例死亡, MLT 为 46 min。10 mg/L 罗勒精油组在 56 h 后出现第一例死亡, MLT 为 79 h。结果表明石斑鱼能长时间耐受低浓度的罗勒精油, 当罗勒精油质量浓度达到 60 mg/L 时, 可能会直接引起鱼短时间内呼吸中枢麻痹而导致死亡。丁香酚类鱼类麻醉剂是通过抑制鱼脑皮层、小脑及延髓等神经中枢的活性, 使鱼体丧失对外界刺激的反射, 从而达到镇静麻醉的目的。在保活运输等操作中, 麻醉诱导休眠可有效地降低鱼类的应激响应; 但麻醉剂超过一定浓度后, 鱼类会进入深度麻醉, 导致呼吸困难, 活动停止, 甚至导致死亡^[16]。刘长琳等^[25]在丁香酚对半滑舌鲷成鱼诱导休眠研究中发现, 半滑舌鲷在丁香酚质量浓度超过 20 mg/L 的情况下, 休眠程度均能达到 6 期, 即鱼体死亡, 且在丁香酚质量浓度为 60 mg/L 的情况下, 8 min 内便出现鱼体死亡。李靖等^[26]探究丁香酚对大西洋鲑的麻醉效果研究中, 大西洋鲑在 55 mg/L 的丁香酚中浸泡 10 min 开始出现死亡, 且随着丁香酚质量浓度的增加, 大西洋鲑在 10 min 内的死亡率也大幅上升, 在 60 mg/L 的丁香酚质量浓度下 10 min 死亡率已到达 60%。与本研究表现相同的趋势。珍珠龙胆石斑鱼在罗勒精油质量浓度为 60 mg/L 的情况下, 40 min 后出现第一例死亡, 这可能是由于罗勒精油中丁香酚只占 67.45% 的质量百分比有关, 也表明不同的鱼类对丁香酚的耐受能力不同, 珍珠龙胆石斑鱼对丁香酚的耐受能力更强。

2.3 罗勒精油在珍珠龙胆石斑鱼暂养过程中的残留与消除

10 mg/L 罗勒精油在珍珠龙胆石斑鱼暂养过程中的残留与消除变化如表 2 所示。在暂养过程中鱼肉中丁香酚残留在 24~48 h 呈现上升的趋势, 在暂养 48 h 达到 9.43 mg/kg 的峰值, 表明低浓度罗勒精油在石斑鱼体内有一定的蓄积作用, 且达到峰值时间为 48 h。暂养 48~72 h 期间又出现显著下降($P<0.05$), 而且在暂养 72 h 时降到 0.29 mg/kg, 说明丁香酚在石斑鱼体内可以通过代谢消除, 这与丁香酚在大口黑鲈体内的残留规律相似^[21]。暂养 72 h 后在新鲜海水中复苏 72 h 后丁香酚残留量仅为 0.05 mg/kg, 达到了日本规定的残留限量标准(0.05 mg/kg)^[27], 表明丁香酚基本消除。而在暂养过程中石竹烯含量均为未被检出, 表明鱼肉中石竹烯的含量低于检出限。在侯明楮^[28]的研究中发现, β -石竹烯表现出较强的肝脏亲和力, 在大鼠体内 8 h 后能完全消除, 本研究中在鱼体肌肉中没有检出, 可能与 β -石竹烯在肌肉中蓄积较少的原因有关, 有待深入研究。因此, 10 mg/L 罗勒精油暂养珍珠龙胆石斑鱼后, 经过常温新鲜海水 72 h 可完全消除丁香酚的残留, 且不影响鱼体的存活能力。

2.4 诱导休眠后珍珠龙胆石斑鱼肌肉中罗勒精油的残留分析

低浓度长时间给药与高浓度短时给药是麻醉剂使用常见的两种给药方式。高浓度能快速诱导鱼体休眠, 罗勒精油经 20 mg/L 诱导珍珠龙胆石斑鱼休眠后肌肉中丁香酚与石竹烯的残留变化见表 3。珍珠龙胆石斑鱼经罗勒精油诱导休眠后肌肉中丁香酚的含量为 5.61 mg/kg, 休眠后在新鲜海水中复苏 24 h 内残留水平降至 0.06 mg/kg, 而石竹烯的含量均为未被检出。用 10 mg/L 的丁香精油麻醉草鱼后, 肌肉中丁香酚的峰值为 5.30 mg/kg, 且在 24 h 后低于 0.1 mg/kg^[11], 与本研究结果相似。



注: A: 0~10 mg/L; B: 15~60 mg/L。

图 1 不同浓度罗勒精油下珍珠龙胆石斑鱼的生存曲线($n=10$)

Fig.1 Survival curves of Pearl Gentian Grouper under different concentration of basil essential oil ($n=10$)

表2 暂养与复苏过程中珍珠龙胆石斑鱼肌肉中丁香酚与石竹烯含量变化($n=3$)

Table 2 Changes of eugenol and chrene in Pearl Grouper muscle during acclimation and recovery stages ($n=3$)

组别	丁香酚含量/(mg/kg)	石竹烯含量/(mg/kg)
对照组	ND	ND
暂养 24 h	7.71±0.07 ^b	ND
暂养 48 h	9.43±0.05 ^a	ND
暂养 72 h	0.29±0.00 ^c	ND
暂养后复苏 24 h	0.17±0.00 ^d	ND
暂养后复苏 48 h	0.07±0.00 ^c	ND
暂养后复苏 72 h	0.05±0.00 ^c	ND

注:同列不同小写字母表示组间显著差异($P<0.05$), ND 表示未检出,下同。

丁香酚的吸收与代谢会因鱼种与环境条件而不同。方晓磊^[29]在青石斑鱼中丁香酚的残留消除特征研究中,使用低浓度丁香酚对青石斑鱼进行长时间诱导休眠,结果表明在8 mg/L的丁香酚精油暂养10 h后,青石斑鱼肌肉中的丁香酚含量富集到了峰值,并在新鲜水中复苏48 h后达到 ≤ 0.1 mg/kg的动态平衡。本研究中10 mg/L的罗勒精油对珍珠龙胆石斑鱼进行长时间暂养,48 h时达到峰值,在新鲜海水中复苏72 h后达到0.05 mg/kg。在虹鳟鱼体内也表现出相同的趋势^[30]。

珍珠龙胆石斑鱼在20 mg/L的罗勒精油中3 min能进入休眠状态,鱼体内丁香酚含量迅速达到峰值(5.61 mg/kg),但显著低于低浓度长时间暂养的最大浓度(9.43 mg/kg),表明不同的给药方式,罗勒精油的浓度与接触时间同时影响鱼体内丁香酚的残留,这与青石斑鱼的研究结果一致^[29]。因此,20 mg/L罗勒精油能快速诱导珍珠龙胆石斑鱼休眠,且在新鲜海水中24 h完全消除。

表3 休眠后珍珠龙胆石斑鱼肌肉中丁香酚与石竹烯含量变化($n=3$)

Table 3 Changes of eugenol and chrene in Pearl Grouper muscle after dormancy ($n=3$)

组别	丁香酚含量/(mg/kg)	石竹烯含量/(mg/kg)
对照组	ND	ND
休眠组	5.61±0.04 ^a	ND
复苏 24 h	0.06±0.00 ^b	ND
复苏 48 h	0.05±0.00 ^b	ND

2.5 低温保活运输模式下珍珠龙胆石斑鱼肌肉中罗勒精油的消除分析

低温有水保活过程中珍珠龙胆石斑鱼肌肉中丁香酚与石竹烯的残留变化见表4。经罗勒精油暂养后诱导休眠

组丁香酚的含量[(5.12±0.11) mg/kg]与未经罗勒精油暂养诱导休眠组[(5.61±0.04) mg/kg]相比显著降低($P<0.05$),可能与罗勒精油降低了鱼体的呼吸代谢有关^[18-19]。在保活24 h时石斑鱼肌肉中丁香酚含量达到7.31 mg/kg的峰值,保活48 h后显著下降至0.72 mg/kg,在保活72 h时仅为0.10 mg/kg。石竹烯均未被检出。

珍珠龙胆石斑鱼经罗勒精油诱导休眠后,在(22±1)°C、鱼水质量比1:10、溶解氧6.0~7.0 mg/L的新鲜充气海水中,丁香酚的含量能快速消除,24 h降到0.06 mg/kg;而在有水保活运输过程中(15°C、鱼水质量比1:2、溶解氧6.0~7.0 mg/L的新鲜充气海水中),石斑鱼体内的罗勒精油浓度先是逐渐上升,并在保活24 h达到最大值,保活48 h时低于ADI值,保活72 h仅为0.10 mg/kg,表明影响鱼体代谢的环境因素(如水温、鱼水比等)也会直接影响罗勒精油在鱼体内的残留与消除作用。在斜带髯鲷(*Haplochromis nitens*)^[31]的研究中,温度越高,鱼体内丁香酚残留的最大峰值越高、达峰时间越短;而消除时水温越高,消除速度越快。与本研究中低温保活过程中,丁香酚的消除速度低于常温海水的结果一致。因此,珍珠龙胆石斑鱼经罗勒精油暂养、诱导休眠后低温有水保活72 h后,体内丁香酚达到0.1 mg/kg,认为可安全食用。

表4 低温保活过程中珍珠龙胆石斑鱼肌肉中丁香酚与石竹烯含量变化($n=3$)

Table 4 Changes of eugenol and chryophyl in Pearl Grouper muscle during low temperature preservation ($n=3$)

组别	丁香酚含量(mg/kg)	石竹烯含量(mg/kg)
对照组	ND	ND
暂养 24 h	7.71±0.07 ^a	ND
休眠组	5.12±0.11 ^c	ND
保活 12 h	4.69±0.08 ^d	ND
保活 24 h	7.31±0.08 ^b	ND
保活 48 h	0.72±0.01 ^e	ND
保活 72 h	0.10±0.00 ^f	ND

3 结论

本研究通过模拟珍珠龙胆石斑鱼的保活运输过程,分析罗勒精油(丁香酚67.45%和 β -石竹烯31.44%)在鱼体肌肉中的残留与消除规律。珍珠龙胆石斑鱼在10 mg/L罗勒精油暂养48 h时肌肉中丁香酚含量达到峰值(9.43 mg/kg),经过常温新鲜海水72 h可完全消除丁香酚的残留,且不影响鱼体的存活能力。珍珠龙胆石斑鱼在10 mg/L罗勒精油暂养24 h,在20 mg/L罗勒精油中保持3 min能诱导休眠,在低温有水条件(15°C、鱼水质量比1:2)下保活时间达到72 h,且肌肉中丁香酚含量仅为0.1 mg/kg,低于联合国粮农组织

和世界卫生组织下的食品添加剂联合专家委员会推荐的 ADI 值。10~20 mg/L 罗勒精油在珍珠龙胆石斑鱼保活运输可安全使用。

参考文献

- [1] 谢晶, 曹杰. 渔用麻醉剂在鱼类麻醉保活运输中应用的研究进展[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(1): 189–196.
XIE J, CAO J. Research progress on application of fishing anesthetic in fish anesthesia keep alive transportation [J]. J Shanghai Ocean Univ, 2021, 30(1): 189–196.
- [2] PRIBORSKY J, VELISEK J. A review of three commonly used fish anesthetics [J]. Rev Fish Sci Aquac, 2018, 26: 417–442.
- [3] 王彩霞, 熊光权, 白婵, 等. 高效液相色谱法检测鲫鱼体内丁香酚的残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(8): 2195–2200.
WANG CX, XIONG GQ, BAI C, et al. Determination of eugenol residues in channel catfish by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(8): 2195–2200.
- [4] KE C, LIU Q, LI L, et al. Residual levels and risk assessment of eugenol and its isomers in fish from China markets [J]. Aquaculture, 2018, 484, 338–342.
- [5] 陆亦宽, 徐迪, 刘文悦, 等. 多种渔用麻醉剂检测快速前处理方法的研究与建立[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(14): 244–250.
LU YK, XU D, LIU WY, et al. Research and establishment of rapid pretreatment method for the detection of various fishery anesthetics [J]. Food Ferment Ind, 2022, 48(14): 244–250.
- [6] TELES M, OLIVEIRA M, JEREZ-CEPA I, et al. Transport and recovery of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) sedated with clove oil and MS222: Effects on oxidative stress status [J]. Front Physiol, 2019, 10: 523–531.
- [7] FINAMOR IA, BRESSAN CA, ARIOTTI K, et al. The long-term transport of *Potamotrygon wallacei* increases lactate levels and triggers oxidative stress in its brain: The protective role of recovery and the essential oil of *Lippia alba* [J]. Aquaculture, 2023, 572: 739461–739472.
- [8] ZENG X, DONG H, YANG Y, et al. Effects of essential oil of *Magnolia denudata* on spotted seabass (*Lateolabrax maculatus*) during simulated live transportation [J]. Aquaculture, 2023, 567: 739258–739270.
- [9] 杨乐, 张晓林, 刘贤德. 丁香油、MS-222 和异丙酚对大黄鱼的麻醉效果分析[J]. 渔业现代化, 2021, 48(2): 91–96.
YANG L, ZHANG XL, LIU XD. Anesthetic effects of clove oil, MS-222 and propofol on *Larimichthys crocea* [J]. Fish Moderniz, 2021, 48(2): 91–96.
- [10] PATTANASIRI T, TAPARHUDEE W, SUPPAKUL P. Acute toxicity and anaesthetic effect of clove oil and eugenol on Siamese fighting fish, *Betta splendens* [J]. Aquacult Int, 2017, 25(1): 163–175.
- [11] ZHAO DH, KE CL, LIU Q, et al. Elimination kinetics of eugenol in grass carp in a simulated transportation setting [J]. BMC Vet Res, 2017, 13(1): 346.
- [12] SHITTU, ST, OYEYEMI W, LASISI T, et al. Aqueous leaf extract of *Ocimum gratissimum* improves hematological parameters in alloxan-induced diabetic rats via its antioxidant properties [J]. Int J Appl Basic Med Res, 2016, 6: 96.
- [13] HUSSAIN, AI, ANWAR F, HUSSAIN S, ST, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations [J]. Food Chem, 2008, 108 (3): 986–995.
- [14] BOAVENTURA TP, SOUZA CF, FERREIRA AL, et al. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: Water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress [J]. Aquaculture, 2021, 531: 735964–735975.
- [15] VENTURA AS, CORRÊA FRAC, CARDOSO CAL, et al. *Ocimum basilicum* essential oil in pacu *Piaractus mesopotamicus*: Anesthetic efficacy, distribution, and depletion in different tissues [J]. Vet Res Commun, 2023. DOI: 10.1007/s11259-023-10225-8
- [16] AYDIN B, BARBAS LAL. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review [J]. Aquaculture, 2020, 520: 734999.
- [17] SCHRODER CS, VENTURA AS, OLIVEIRA SN, et al. Potential of natural anesthetic *Ocimum basilicum* essential oil and eugenol in the preslaughter transport of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* and its effect on fillet quality [J]. J Aquat Food Prod T, 2022, 31(5): 399–409
- [18] 吴炜俊, 梁喜丽, 陈伟澎, 等. 罗勒精油对运前暂养珍珠龙胆石斑鱼应激缓解作用[J]. 广东海洋大学学报, 2023, 43(2): 43–50.
WU WJ, LIANG XL, CHEN WP, et al. Stress-relieving effect of Basil essential oil on temporarily cultured Pearl Gentian Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus*♂) before transportation [J]. J Guangdong Ocean Univ, 2023, 43(2): 43–50.
- [19] FANG D, ZHANG C, MEI J, et al. Effects of *Ocimum basilicum* essential oil and ginger extract on serum biochemistry, oxidative stress and gill tissue damage of Pearl Gentian Grouper during simulated live transport [J]. Vet Res Commun, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10197-9>
- [20] IQBAL Z, AKHTAR M, SABRI MU, et al. Chemical composition of *ocimum sanctum* essential oil by GC-MS analysis [J]. Nat Prod Chem Res, 2020, 8: 1–5.
- [21] 王勇, 廖园园, 张俊清, 等. 气相色谱法测定海南产黄皮叶挥发油中 β -石竹烯的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 121–123.
WANG Y, LIAO YY, ZHANG JQ, et al. Determination of β -caryophyllene inessential oil from *Clausenae folium* produced in Hainan by GC [J]. Chin J Exp Tradit Med Formul, 2013, 19(4): 121–123.
- [22] XU JH, LIU Y, ZHOU XW, et al. Anaesthetic effects of eugenol on preservation and transportation of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. Aquac Res, 2021, 52 (8), 3796–3803.
- [23] 张宁璐, 付正祎, 杨静茹, 等. 模拟运输条件下不同浓度丁香酚对高体鲈幼鱼应激、免疫的影响[J]. 中国渔业质量与标准, 2023, 13(3): 18–25.

- ZHANG NL, FU ZW, YANG JR, *et al.* Effects of different concentrations of eugenol on stress and immunity of juvenile *Seriola dumerili* under simulated transportation on conditions [J]. *J Food Qual*, 2023, 13(3): 18–25.
- [24] MAMDOUH HH, SHEIKH A, MEERAN MFNS, *et al.* β -Caryophyllene, a dietary phytocannabinoid, alleviates diabetic cardiomyopathy in mice by inhibiting oxidative stress and inflammation activating cannabinoid type-2 receptors [J]. *ACS Pharm Trans Sci*, 2023, 6(8): 1129–1142.
- [25] 刘长琳, 李继强, 陈四清, 等. 丁香酚麻醉半滑舌鳎成鱼的试验研究[J]. *海洋水产研究*, 2007, (3): 50–56.
- LIU CL, LI JD, CHEN SQ, *et al.* Study on the anesthetic effects of clove oil on adult *Cynoglossus millaevis Günther* [J]. *Mar Fish Res*, 2007, (3): 50–56.
- [26] 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, 33(1): 92–99.
- LI J, LIU BL, WANG SK, *et al.* The anesthesia effect of eugenol on *Salmo salar* [J]. *Adv Mari Sci*, 2015, 33(1): 92–99.
- [27] 李宁, 白婵, 熊光权, 等. 丁香酚和三卡因甲磺酸盐在大口黑鲈中代谢残留的比较[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(3): 56–64, 71.
- LI N, BAI C, XIONG GQ, *et al.* Comparison of metabolic residues of eugenol and tricaine methanesulfonate (MS-222) in large mouth bass [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2020, 36(3): 56–64, 71.
- [28] 侯明楮. 艾叶挥发油的抗炎作用机制及药代动力学研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- HOU MY. Anti-inflammatory mechanism and pharmacokinetics of essential oil [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2022.
- [29] 方晓磊. 青石斑鱼中丁香酚的残留消除特征研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2017.
- FANG XL. Depletion of Eugenol in the Fish Fillet of Yellow Grouper(*Epinephelus awoara*) [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2017.
- [30] MEINERTZ JR, SCHREIER TM, PORCHER ST, *et al.* Depletion of eugenol residues from the skin-on fillet tissue of rainbow trout exposed to 14 C-labeled eugenol [J]. *Aquaculture*, 2014, 430: 74–78.
- [31] 刘海新, 余颖, 罗方方, 等. 丁香酚在斜带髯鲷体内蓄积与消除规律及休药期[J]. *广东海洋大学学报*, 2020, 40(1): 19–28.
- LIU HX, YU Y, LUO FF, *et al.* Accumulation and elimination of regularity and withdrawal period of eugenol in *Haplooglyptus nitens* [J]. *J Guangdong Ocean Uni*, 2020, 40(1): 19–28.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介

黄宇豪, 主要研究方向为食品科学与工程。

E-mail: 965586143@qq.com

范秀萍, 博士, 副教授, 主要研究方向为水产品保活流通与加工利用。

E-mail: fanxp08@163.com