

分散固相萃取-气相色谱-四极杆-飞行时间质谱法 快速测定鲜鱼中的5种酚类麻醉剂

邓颖^{1*}, 林青兰¹, 杜伟锋¹, 张瑞瑞¹, 何敏恒¹, 李秀英¹, 区硕俊^{1,2}

[1. 广州检验检测认证集团有限公司, 国家加工食品质量检验中心(广东), 广州 511447;

2. 广州海关技术中心, 广东省动植物与食品进出口技术措施研究重点实验室, 广州 510623]

摘要: **目的** 建立分散固相萃取-气相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(gas chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, GC-Q-TOF/MS)测定鲜鱼中5种酚类麻醉剂的快速分析方法。**方法** 样品经乙酸乙酯提取后, 氮气浓缩, 复溶后使用C₁₈和乙二胺-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)混合粉末净化, 采用电子轰击离子源进行电离, 选择离子对模式对目标母离子和子离子进行测定。**结果** 5种酚类麻醉剂的空白基质标准曲线在5~500 μg/L范围内呈良好线性关系, 相关系数 r 均大于0.999, 日内不同水平的加标回收率在83.5%~104.0%之间, 相对标准偏差为2.56%~5.28%。方法检出限为3.58~8.96 μg/kg, 定量限为8.46~19.85 μg/kg。

结论 该方法操作简单、回收率好、灵敏度高、重复性好, 可满足鲜鱼中酚类麻醉剂快速测定的要求。

关键词: 气相色谱-四极杆-飞行时间质谱法; 分散固相萃取; 鲜鱼; 酚类麻醉剂

Rapid determination of 5 kinds of phenolic anesthetics in fresh fishes by dispersive solid phase extraction-gas chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry

DENG Ying^{1*}, LIN Qing-Lan¹, DU Wei-Feng¹, ZHANG Rui-Rui¹, HE Min-Heng¹,
LI Xiu-Ying¹, OU Shuo-Jun^{1,2}

[1. Guangzhou Inspection and Testing Certification Group Co., National Quality Testing Center for Processed Food (Guangdong), Guangzhou 511447, China; 2. Guangzhou Customs Technology Center, Guangzhou Key Laboratory of Import and Export Technical Measures of Animal, Plant and Food, Guangzhou 510623, China]

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for rapid determination of 5 kinds of phenolic anesthetics in fresh fishes by dispersive solid phase extraction-gas chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (GC-Q-TOF/MS). **Method** The samples were extracted with ethyl acetate, concentrated with nitrogen, redissolved and purified with C₁₈ and primary secondary amine (PSA) mixed powder, ionized by electron impact ion source, the target parent ion and daughter ion were determined by ion pair mode. **Result** The standard curves of blank matrix of 5 kinds of phenolic anesthetics exhibited good linear relationships in the range of 5–500 μg/L with correlation coefficients r were both greater than 0.999. The recovery rates of different levels within the day were between 83.5% and 104.0%, and the relative standard deviations were between 2.56% and 5.28%. The limits of detection and limits of quantitation were in the range of 3.58–8.96 μg/kg and 8.46–19.85 μg/kg respectively.

Conclusion The method concluded simple operation, good recovery rate, high sensitivity and good repeatability

*通信作者: 邓颖, 中级工程师, 主要研究方向为气液相食品检测技术。E-mail: 273764431@qq.com

*Corresponding author: DENG Ying, Engineering, Guangzhou Inspection and Testing Certification Group Co., National Quality Testing Center for Processed Food (Guangdong), No.1-2, Zhujiang Road, Panyu District, Guangzhou 511447, China. E-mail: 273764431@qq.com

that satisfied the requirements of rapid determination of phenolic anesthetics in fresh fish.

KEY WORDS: gas chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry; dispersive solid phase extraction; fresh fish; phenolic anesthetics

0 引言

丁香酚类化合物在丁香挥发油含量中占 78%~95%^[1]。由于丁香酚具有很好的抗癌、抗氧化、抗衰老效果^[2-4], 因此被广泛应用于制药、农业、香料、化妆品等领域^[5]。丁香酚类化合物对很多致病菌均有较好的抑菌效果^[6-9], 尤其对于腐败希瓦氏菌具有很好的抑制作用^[10-13]。水产品腐败往往与腐败希瓦氏菌密切相关^[14], 因此, 丁香酚类化合物作为麻醉剂在大口黑鲈^[15-17]和凡纳滨对虾^[18]等水产品的运输过程中也有较广泛的应用, 但目前我国尚没有相关的标准及法律法规对限量作出明确的要求。虽然 VELISEK 等^[19]的研究认为在低浓度的使用条件下, 对虹鳟鱼不会造成不可逆损伤, 但 THOMPSON 等^[20]研究表明, 丁香酚对动物的肝脏具有一定的毒性。因此对水产品中丁香酚类化合物建立准确快速的检测方法意义重大。

近年来, 有关丁香酚类化合物的检测方法主要有气相色谱法^[21-22]、气相色谱-质谱法^[23-24]、高效液相色谱法^[25]和高效液相色谱-串联质谱法^[26]。由于丁香酚类化合物挥发性较强, 因此气相色谱法较为通用。高效液相色谱法仪器条件设置虽然简单, 但在多组分成分的测定过程中, 存在分离难度较大、易受杂质影响等问题。质谱法则具有定性准确、灵敏度低等优点。目前, 关于高分辨质谱测定水产品中分类麻醉剂的相关研究未见报道。而已报到的气相质谱法和高效液相色谱-串联质谱法主要以溶剂直接重复提取^[24]或使用单一固相净化材料^[26]进行处理, 分析结果受杂质影响较大^[27], 而且因为质谱分辨率较低, 因此可能存在假阳性的情况。本研究以鲜鱼中的丁香酚类麻醉剂为研究对象, 通过优化前处理手段和仪器参数, 建立测定鲜鱼中 5 种丁香酚类麻醉剂(丁香酚、甲基丁香酚、顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香酚酯、乙酰基异丁香酚, 结构式见图 1)的分散固相萃取-气相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(gas chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, GC-Q-TOF/MS)。为水产品中残留药物的分析测定提供了参考依据。

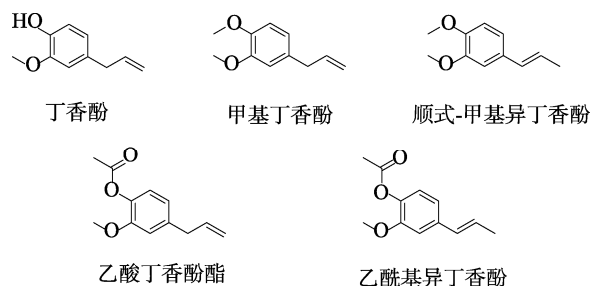


图 1 5 种酚类麻醉剂的化学结构式

Fig.1 Chemical structural formulas of 5 kinds of phenolic anesthetics

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

安捷伦 7200B 气相色谱-四极杆-飞行时间质谱[配有电子轰击离子源(electron impact ion source, EI)、Qualitative Analysis B.07.00 数据处理系统](美国安捷伦公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水系统(法国 Merck Millipore 公司); TGL-16M 高速离心机(中国湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); Heidolph Multi Reax 涡旋振荡器(德国 Heidolph 公司)。

试剂耗材: 乙腈、乙酸乙酯(色谱纯, 赛默飞世尔公司); 无水硫酸镁、氯化钠(分析纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 乙二胺-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)、石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)、硅胶键合(ostade-cylsilane, C₁₈)、中性氧化铝(Alumina N, Al-N)、氨丙基粉(aminopropyl silica gel, NH₂)(德祥科技有限公司); 安捷伦 DB-5ms、HB-5ms、HP-5ms 石英毛细柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)[安捷伦科技(上海)有限公司]

丁香酚、甲基丁香酚、顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香酚酯、乙酰基异丁香酚(固体标样, 纯度大于 98.5%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

样品: 草鱼、老虎斑、多宝鱼为实验室日常检测样品。

1.2 标准溶液的配制

标准储备溶液: 分别称取适量的 5 种标准物质, 使用适量乙酸乙酯溶解后, 乙酸乙酯定容至 10 mL 容量瓶, 分别配制成 1000 mg/L 的标准储备溶液。

混合标准中间液: 分别准确移取 100 μL 1000 mg/L 的标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 配制成质量浓度为 10 mg/L 的混合标准中间液。

混合标准工作曲线: 分别取上述混合标准中间溶液 5、10、20、50、100、200、500 μL 于 10 mL 容量瓶中, 用空白基质液稀释至刻度, 所得混合标准工作曲线质量浓度分别为 5、10、20、50、100、200、500 μg/L。

1.3 样品前处理

提取: 称取 10.00 g(精确至 0.01 g)经绞肉机打匀的样品于 50 mL 离心管中, 向离心管中加入 10 mL 超纯水, 再加入 20 mL 乙酸乙酯, 充分混匀后加入 1.5 g 氯化钠、5.0 g 无水硫酸镁, 迅速盖上离心管盖并振荡摇匀, 然后涡旋振荡 15 min, 最后以 10000 r/min 离心 5 min。移取 4 mL 上层清液于 40 °C 下氮吹浓缩至近干, 加入 1 mL 乙酸乙酯, 涡

旋 1 min 复溶。

净化: 将复溶液转移到装有 60 mg C₁₈ 粉末和 120 mg PSA 粉末的 2 mL 离心管中, 涡旋 2 min 后以 10000 r/min 离心 5 min, 过 0.22 μm 有机相滤膜, 供 GC-Q-TOF/MS 测定。

1.4 色谱及质谱条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱: 安捷伦 DB-5ms、HB-5ms、HP-5ms 石英毛细柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 60 °C 保持 1 min, 以 10 °C/min 升至 160 °C, 保持 3 min, 以 20 °C/min 升至 280 °C 保持 5 min; 载气(He)流速 1.5 mL/min, 接口温度为 285 °C, 进样量 1 μL; 不分流。

1.4.2 质谱条件

电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 四极杆温度 150 °C; 离子源温度 280 °C; 溶剂延迟为 9 min; 质量扫描范围 m/z 60~350 u, 扫描速率: 5 spectra/s, 高分辨模式, 其他条件见表 1。

1.5 数据处理

化合物的全扫描质谱信息使用安捷伦 Mass Hunter 数据采集软件采集, 并采用 Mass Hunter Qualitative Analysis 软件进行定性分析。该分析基于化合物保留时间、主要碎片精确质量数以及丰度比进行准确性。对于检出物质, 采用 Hunter Quantitative Analysis 软件进行定量分析。所有统计学数据均由 Excel 2010 计算, 最终由 Origin 8.5 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 色谱柱及仪器条件的确定

本研究先通过全扫描确定 5 种目标物的保留时间, 再根据目标物碎片离子的丰度确定定量离子和定性离子。根据其标准物质和待测样品的提取离子流图中的峰面积, 最后通过外标法定量分析。同时, 本研究比较了 DB-5ms、HB-5ms 以及 HP-5ms 色谱柱, 最后发现 DB-5ms 色谱柱分离效果最好, 甲基丁香酚和顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香

酚酯和乙酰基异丁香酚两对同分异构体能达到基线完全分离, 且峰型良好, 通过调整升温程序, 使用 2 个不同的升温梯度, 最终 5 种目标物分离度高, 峰型良好, 且分析时间短, 5 种酚类麻醉剂提取色谱图见图 2。

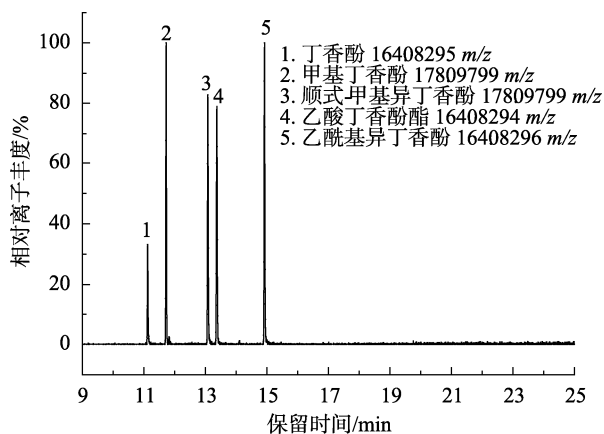


图 2 5 种酚类麻醉剂的提取离子流色谱图

Fig.2 Extractive ion chromatograms of 5 kinds of phenolic anesthetics

2.2 GC-Q-TOF/MS 分析方法的建立

通过全扫描模式, 对 5 种酚类麻醉剂的碎片离子信息进行采集, 建立精确质量数的分析数据库。同时以 5 种酚类麻醉剂的出峰时间作为辅佐定性依据, 与碎片的精确分子量结合, 准确定性分析。选取 5 种酚类麻醉剂各自的最高丰度碎片离子为定量离子。丁香酚、甲基丁香酚和顺式-甲基异丁香酚由于结构相对稳固, 在失去一个电子后, 仍然能保留母离子形态, 且响应较高, 因此分别产生 m/z 164 和 m/z 178。而乙酸丁香酚酯和乙酰基异丁香酚则在酯基处发生断裂, 失去[C₂H₃O]后同样得到 m/z 164。最后选择响应较高的特征离子组合进行单离子检测扫描(single ion monitoring, SIM), 并根据 SIM 离子流图中的峰面积进行外标法定量分析。

表 1 5 种酚类麻醉剂的出峰时间及碎片质谱参数

Table 1 Retention times and fragment mass spectrometric parameters of 5 kinds of phenolic anesthetics

化合物	保留时间/min	主要碎片(m/z)
丁香酚	11.15	164.08295*, 149.05880, 131.04910
甲基丁香酚	11.75	178.09799*, 147.08032, 163.07505
顺式-甲基异丁香酚	13.11	178.09799*, 163.07505, 107.04905
乙酸丁香酚酯	13.40	164.08294*, 131.04911, 149.05877
乙酰基异丁香酚	14.91	164.08296*, 149.05879, 131.04911

注: *为定量离子

2.3 萃取剂的选择

本研究前期发现使用 10 mL 水和 20 mL 有机溶剂萃取 1 次即可达到较高回收率, 因此为了节省成本, 本研究只进行 1 次萃取。另外, 除了丁香酚, 其他 4 种酚类麻醉剂在结构上均不含有极性基团, 极性较低, 所以本研究分别使用乙腈、丙酮和乙酸乙酯 3 种不同极性的溶剂对样品进行提取, 结果发现, 乙腈萃取回收率只有 55%~75%, 这可能是因为乙腈极性较大, 难以将目标物从组织中完全提取出来, 而丙酮要略高于乙腈, 但回收率最高的是乙酸乙酯, 经日内 6 次平行测定, 乙酸乙酯的回收率可稳定在 84%~105% 之间。这可能是由于 5 种化合物均含有醚基和酯基, 因此极性与乙酸乙酯最为接近。综合考虑, 选取 20 mL 的乙酸乙酯作为萃取的有机相。详细结果见图 3。

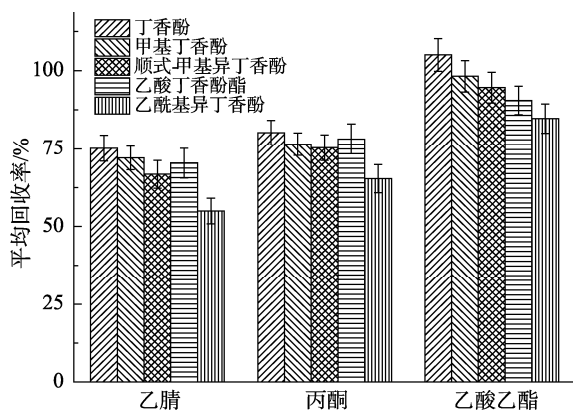


图 3 萃取剂种类对 5 种酚类麻醉剂回收率的影响($n=6$)

Fig.3 Effects of extractant types on the recoveries of 5 kinds of phenolic anesthetics ($n=6$)

2.4 固相萃取剂的选择

活鱼肌肉中含有大量的蛋白质、氨基酸、脂肪酸以及

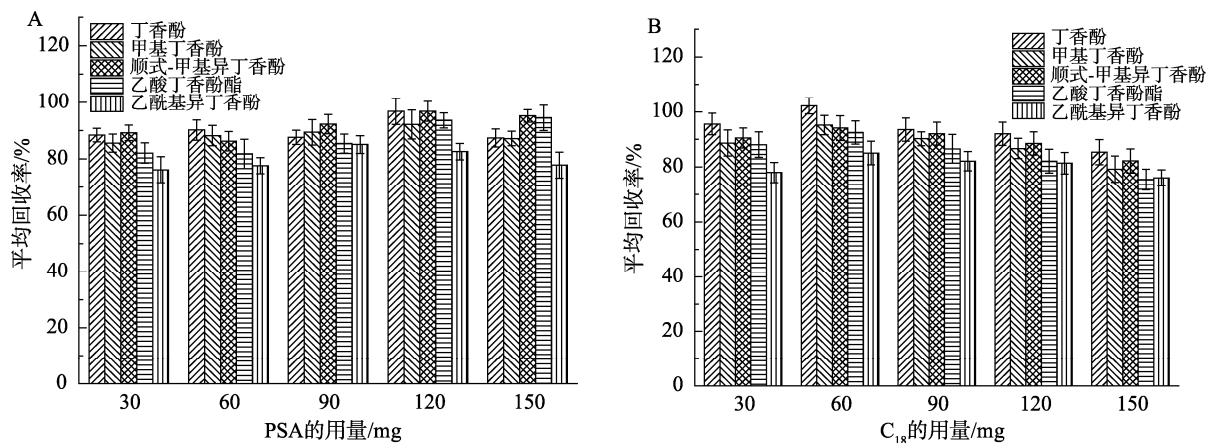


图 4 PSA (A) 及 C_{18} (B) 用量对回收率的影响($n=6$)

Fig.4 Effects of PSA and C_{18} dosage on recovery ($n=6$)

一些维生素、生物胺及信息素等内源性物质, 故而对萃取液进行净化。由于不同的固相萃取剂所吸附的杂质类型不一样, 因此在保证目标物回收率的前提下, 使用复数种固相萃取剂, 净化效果更佳。本研究对比了 PSA、GCB、 C_{18} 、Al-N 和 NH_2 5 种固相萃取剂对 5 种酚类麻醉剂回收率的影响。结果发现, GCB、Al-N 和 NH_2 对目标物的回收率影响较大, 回收率只有 30% 左右, 可能是由于 5 种酚类麻醉剂的化学结构中, 均含有平面结构, 同时也属于芳香烃, 因此净化过程中, 容易被 GCB 和 Al-N 吸附, 而 NH_2 同样能吸附氨基酸等极性较大的物质, 但从基团结构上看, NH_2 更容易与其他分子的 O 或者 N 原子形成氢键^[28-29], 综上所述, 这 3 种固相萃取剂对目标物有一定的吸附作用, 而 PSA 和 C_{18} 则对回收率影响不大, PSA 中的胺基对氨基酸等极性物质有较好的吸附作用, 而 C_{18} 对油脂等脂溶性或者极性较低的杂质也有较好的吸附作用。因此, 在不影响回收率的情况下, 选择 PSA 和 C_{18} 进一步进行用量的优化。结果显示, 当 PSA 和 C_{18} 用量过少时, 质谱离子化抑制情况严重, 而用量过多时, 对目标物也有一定的吸附, 导致回收率降低, 综合考虑, 最终使用 PSA 和 C_{18} 作为固相萃取剂净化, 最佳用量分别为 120 mg 和 60 mg。详细结果见图 4。

2.5 基质效应

使用乙酸乙酯作为萃取溶剂时, 样品中的脂溶性杂质会被大量萃取至乙酸乙酯层, 如脂肪酸, 若在前处理过程中无法除去, 或者在色谱分离时与目标物没有完全分离, 在目标物进入离子源时可能会产生严重的基质效应。本研究使用 5 种酚类麻醉剂的空白基质标准溶液(200 $\mu\text{g/L}$), 经纯溶剂曲线计算后, 以测得值和原浓度之比 K 为判断依据 ($K = \text{空白基质标准浓度} / 200 \mu\text{g/L} \times 100\%$)^[30], 当 K 值在 90%~110% 之间时, 可认为基质效应不明显^[31], 可忽略, 而当 K 值小于或大于此范围时, 则说明基质效应明显。

在新鲜草鱼样品中,丁香酚的基质效应是 112.2%, 甲基丁香酚的基质效应是 83.8%, 顺式-甲基异丁香酚的基质效应是 90.12%, 乙酸丁香酚酯的基质效应是 105.7%, 乙酰基异丁香酚的基质效应是 139.6%。说明丁香酚、乙酰基异丁香酚的基质增强效应比较明显, 甲基丁香酚的基质抑制效应也比较明显, 故采用基质匹配标准曲线进行定量计算。

2.6 5 种酚类麻醉剂的线性参数及检出限

使用 5 种酚类麻醉剂呈阴性的新鲜草鱼按 1.3 进行处理, 得到空白基质溶液, 用此基质溶液按照 1.2 的配制基质匹配标准溶液, 在 1.4 的仪器条件下进行数据采集。以质量浓度为横坐标(X , $\mu\text{g/L}$), 定量离子对的峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线, 5 种酚类麻醉剂在 5~500 $\mu\text{g/L}$ 范围内的相关系数 r 均大于 0.999, 线性关系良好, 见表 2。通过低浓度的加标实验, 以仪器的 3 倍信噪比($S/N=3$)测定方法检测限(limits of detection, LODs)为 3.58~8.96 $\mu\text{g/kg}$, 10 倍信噪比($S/N=10$)测定方法定量限(limits of quantitation, LOQs)为 8.46~19.85 $\mu\text{g/kg}$ 。结果表明, 5 种酚类麻醉剂基质曲线线性良好, 可准确定量, 而且检出限和定量限可满足一般的分析要求。

表 2 5 种酚类麻醉剂的线性参数

Table 2 Linearity parameters of the 5 phenolic anesthetics

化合物	标准曲线
丁香酚	$Y=144.3X+1732$
甲基丁香酚	$Y=195.6X+996.3$
顺式-甲基异丁香酚	$Y=199.6X+1008$
乙酸丁香酚酯	$Y=256.3X+1213$
乙酰基异丁香酚	$Y=388.1X+499.3$

2.7 回收率及精密度分析

因 5 种酚类麻醉剂的检出限均低于 10 $\mu\text{g/kg}$, 为确保加标实验的准确性, 选用空白的新鲜草鱼样品, 以检出限为参考, 选择 10、20、50 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平进行日内加标回收实验, 每个水平平行测定 6 次。新鲜草鱼样品在 3 个水平的平均回收率均在 83.5%~104.0%之间, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)在 2.56%~5.28%之间。结果说明, 5 种酚类麻醉剂回收率好, 日内重复性好, 检出限低, 能满足分析测定要求。

2.8 方法的实际应用

为了验证方法在实际样品测定过程中的适用性, 实验选取了日常实验室来样的 50 个样品, 其中包括 30 条草鱼、10 条老虎斑、10 条多宝鱼。测定结果显示, 1 条老虎斑甲基异丁香酚检出值为 1.12 mg/kg , 1 条多宝鱼甲基丁香酚检出值为 0.661 mg/kg , 草鱼均没有检出。

3 结论与讨论

本研究基于分散固相萃取技术, 使用 GC-Q-TOF/MS 建

立了 5 种酚类麻醉剂质谱数据库; 在 2 个升温梯度的气相色谱条件下, 5 种酚类麻醉剂在 15 min 内全部出峰, 且甲基丁香酚和顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香酚酯和乙酰基异丁香酚两对同分异构体完全基线分离, 峰型良好, 结合 GC-Q-TOF/MS, 准确测定了 5 种目标物碎片离子的精确分子量, 可排除假阳性的误判情况; 对不同的有机萃取溶剂进行筛选, 结合固相萃取剂 PSA 和 C_{18} 进行萃取液净化, 不同添加水平下, 5 种酚类麻醉剂的回收率稳定在 83.5%以上, 使用基质曲线对测定结果进行校正, 方法学实验中回收率和相对标准偏差均令人满意。对比于 BJS 201908 《水产品及水中丁香酚类化合物的测定》, 本方法快捷简单、回收率好、灵敏度和精密度高, 为后续水产品中麻醉剂测定的相关研究及鲜鱼中麻醉剂的筛查及测定提供了参考依据。同时, 为相关的分析化学科研工作者提供一定的高分辨质谱应用研究方向。

参考文献

- [1] 王明, 张家涛, 周斌, 等. 丁香酚复合保鲜剂对腐败希瓦氏菌的抗菌作用机制[J]. 食品科学, 2021, 42(13): 12–16.
WANG M, ZHANG JT, ZHOU B, et al. Antibacterial mechanism of eugenol compound preservatives against *Shewanella putrefaciens* [J]. Food Sci, 2021, 42(13): 12–16.
- [2] HU Q, ZHOU M, WEI S. Progress on the antimicrobial activity research of clove oil and eugenol in the food antiseptics field [J]. J Food Sci, 2018, 83(6): 1476–1483.
- [3] CHUA LK, LIM CL, LING APK, et al. Anticancer potential of syzygium species: A review [J]. Plant Foods Hum Nutr, 2019, 74(1): 18–27.
- [4] REQUENA R, VARGAS M, CHIRALT A. Eugenol and carvacrol migration from PHBV films and antibacterial action in different food matrices [J]. Food Chem, 2019, 277(7): 38–45.
- [5] KAMATOU GP, VERMAAK I, VILJOEN AM. Eugenol-from the remote Maluku islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule [J]. Molecules, 2012, 17(6): 6953–6981.
- [6] VÁCI P, ČONKOVÁ E, MARCINČÁKOVÁ D, et al. Antifungal effect of selected essential oils on *Malassezia pachydermatis* growth [J]. Folia Vet, 2018, 62(2): 67–72.
- [7] SHAHI SK, SHAHI MP, PRAKASH D. *Syzygium aromaticum*: Potent antidandruff agent with thermo-tolerance, quick killing action and long shelf life [J]. Indo Am J Pharm Res, 2015, 5(2): 795–802.
- [8] ZHANG Y, WANG Y, ZHU XJ, et al. Antibacterial and antibiofilm activities of eugenol from essential oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry (clove) leaf against periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* [J]. Microb Pathog, 2017, 113(12): 396–402.
- [9] JAFRI H, KHAN MSA, AHMAD I. *In vitro* efficacy of eugenol in inhibiting single and mixed-biofilms of drug-resistant strains of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* [J]. Phytomedicine, 2019, 54(2): 206–213.
- [10] LYU F, HONG YL, CAI JH, et al. Antimicrobial effect and mechanism of cinnamon oil and gamma radiation on *Shewanella putrefaciens* [J]. J Food Sci Technol, 2018, 55(9): 3353–3361.
- [11] ZHANG NN, LAN WQ, WANG Q, et al. Antibacterial mechanism of ginkgo biloba leaf extract when applied to *Shewanella putrefaciens* and saprophytic *Staphylococcus* [J]. Aquacul Fish, 2018, 3(4): 163–169.

- [12] WRIGHT MH, SHALOM J, MATTHEWS B, *et al.* *Terminalia ferdinandiana* exell: Extracts inhibit *Shewanella* spp. growth and prevent fish spoilage [J]. *Food Microbiol*, 2019(4), 78: 114–122.
- [13] 周倩倩, 方士元, 梅俊, 等. 丁香酚对腐败希瓦氏菌和荧光假单胞菌的抑制机理[J]. *食品科学*, 2020, 41(9): 1–6.
ZHOU QQ, FANG SY, MEI J, *et al.* Inhibitory mechanism of eugenol on *Shewanella putrefaciens* and *Pseudomonas fluorescens* [J]. *Food Sci*, 2020, 41(9): 1–6.
- [14] YANG SP, XIE J, CHENG Y, *et al.* Response of *Shewanella putrefaciens* to low temperature regulated by membrane fluidity and fatty acid metabolism [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2020, 117(6): 108–128.
- [15] COOKE SJ, SUSKI CD, OSTRAND KG, *et al.* Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 239(1/2/3/4): 509–529.
- [16] 王彩霞, 白婵, 熊光权, 等. 丁香酚麻醉辅助加州鲈无水活运的效果[J]. *食品科学*, 2021, 42(5): 228–236.
WANG CX, BAI C, XIONG GQ, *et al.* Effect of eugenol anesthesia on waterless live transportation of *Micropterus salmoides* [J]. *Food Sci*, 2021, 42(5): 228–236.
- [17] 李宁, 白婵, 熊光权, 等. 丁香酚麻醉大口黑鲈的保活温度优化[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(10): 173–181, 246.
LI N, BAI C, XIONG GQ, *et al.* Optimization of keep-alive temperature of eugenol anesthetized largemouth bass [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2020, 36(10): 173–181, 246.
- [18] 徐德峰, 吴嘉鑫, 孙力军, 等. 丁香酚和 MS-222 对凡纳滨对虾麻醉效果比较[J]. *广东海洋大学学报*, 2021, 41(5): 1–9.
XU DF, WU JX, SUN LJ, *et al.* Comparison on anesthetic efficacy of eugenol and MS-222 on shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *J Zhanjiang Ocean Univ*, 2021, 41(5): 1–9.
- [19] VELISEK J, SVOBODOVA Z, PIACKOVA V, *et al.* Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Acta Vete Brno*, 2005, 74(1): 139–146.
- [20] THOMPSON DC, BARHOUMI R, BURGHARDT RC. Comparative toxicity of eugenol and its quinone methide metabolite in cultured liver cells using kinetic fluorescence bioassays [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1998, 149(1): 55–63.
- [21] 杨莹, 郭琪, 苗爱东, 等. 气相色谱法同时测定不同厂家大活络丸中异龙脑、龙脑和丁香酚的含量[J]. *山西医药杂志*, 2021, 50(2): 190–192.
YANG Y, GUO Q, MIAO AID, *et al.* Simultaneous determination of isoborneol, borneol and eugenol in Da Huoluo pills by gas chromatography [J]. *Shanxi Med J*, 2021, 50(2): 190–192.
- [22] 王石, 王钦钦, 胡深, 等. 气相色谱法同步测定饲料中的 4 种香味物质[J]. *饲料工业*, 2020, 41(14): 54–59.
WANG S, WANG QQ, HU S, *et al.* Simultaneous determination of four flavor compounds in feed by gas chromatography [J]. *Feed Ind*, 2020, 41(14): 54–59.
- [23] 廖惠云, 吴洋, 孙海平, 等. 固相萃取净化-双填料反萃取-GC/MS 法分析卷烟烟气中甲基丁香酚[J]. *烟草科技*, 2021, 54(4): 66–73.
LIAO HY, WU Y, SUN HP, *et al.* Analysis of methyleugenol in mainstream cigarette smoke by solid phase extraction-double packing reverse extraction coupled with GC/MS [J]. *Tobacco Sci Technol*, 2021, 54(4): 66–73.
- [24] 柯常亮, 刘奇, 陈洁文, 等. 气相色谱-串联质谱联用法测定水中丁香酚残留[J]. *中国渔业质量与标准*, 2014, 4(4): 49–55.
KE CL, LIU Q, CHEN JW, *et al.* Determination of eugenol in water using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2014, 4(4): 49–55.
- [25] 黄艳婷, 庄玥, 邱蕴琦. 高效液相色谱法快速测定外用成人用品中 16 种局麻成分[J]. *分析测试学报*, 2020, 39(12): 1533–1537.
HUANG YT, ZHUANG Y, QIU YQ. Rapid determination of 16 local anesthetic components in adult products by high performance liquid chromatography [J]. *J Instrum Anal*, 2020, 39(12): 1533–1537.
- [26] 吴少明, 蔡小明, 周鹏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 6 种丁香酚类物质的残留量[J]. *食品科学*, 2020, 41(16): 320–326.
WU SM, CAI XM, ZHOU P, *et al.* Determination of 6 eugenol residues in aquatic products by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2020, 41(16): 320–326.
- [27] 黄武, 李红权, 刘建芳, 等. QuEChERS-气相色谱-质谱联用法同时测定水产品中 6 种丁香酚类麻醉剂的残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(2): 422–428.
HUANG W, LI HQ, LIU JF, *et al.* Determination of 6 kinds of eugenol derivatives residues in aquatic products by QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(2): 422–428.
- [28] CHEN M, SHEN Y, XU L, *et al.* Highly efficient and rapid adsorption of methylene blue dye onto vinyl hybrid silica nano-cross-linked nanocomposite hydrogel [J]. *Colloid Surface A*, 2021, 613: 126050.
- [29] SEERA SDK, KUNDU D, GAMI P, *et al.* Synthesis and characterization of xylan-gelatin cross-linked reusable hydrogel for the adsorption of methylene blue [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 256(6): 117520.
- [30] 陈佩佩, 陈琳珊, 何雯倩, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱测定樱桃中的苯丁锡和三苯锡的方法研究[J]. *现代食品*, 2021, (8): 214–218.
CHEN PP, CHEN LS, HE WQ, *et al.* Study on determination of phenbutyltin and triphenyltin in cherries by dispersive solid phase extraction combined with ultra performance liquid chromatography- triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Modern Food*, 2021, (8): 214–218.
- [31] 梁志森, 岑建斌, 区硕俊. 同位素稀释超高效液相色谱-串联质谱法同时测定液态乳中的高氯酸盐和氯酸盐[J]. *当代化工*, 2019, 48(7): 1619–1622.
LIANG ZS, CEN JB, OU SJ. Simultaneous determination of perchlorate and chlorate in liquid milk by isotope dilution coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Contemporary Chemical Industry*, 2019, 48(7): 1619–1622.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



邓颖, 中级工程师, 主要研究方向为气液相食品检测技术。

E-mail: 273764431@qq.com