

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241125002

引用格式: 蔡慧敏. 气相色谱-质谱法检测婴幼儿配方乳粉中 6 种丁香酚类物质含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 284-290.

CAI HM. Determination of 6 kinds of eugenols in infant formula milk powder by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 284-290. (in Chinese with English abstract).

气相色谱-质谱法检测婴幼儿配方乳粉中 6 种丁香酚类物质含量

蔡慧敏*

(中国质量认证中心有限公司, 北京 100070)

摘要: 目的 建立简便高效的气相色谱-质谱法测定婴幼儿配方乳粉中 6 种丁香酚类物质。**方法** 样品经乙腈超声提取后, 使用乙腈饱和的正己烷净化除脂, 弃去正己烷, 提取乙腈浓缩定容至 1 mL。采用 DB-1701 色谱柱分离, 不分流进样, 进样量 1 μ L。采用选择离子监测模式进行气相色谱-质谱法测定, 外标法定量。

结果 6 种丁香酚类物质在 20~500 ng/mL 内呈良好的线性关系, 本方法中 6 种丁香酚类化合物检出限均为 0.007 mg/kg, 定量限均为 0.02 mg/kg。在牛乳粉和羊乳粉两种基质样品中, 6 种丁香酚类物质的 3 个不同浓度水平的加标平均回收率在 97.3%~105.0%之间, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 0.3%~3.7%之间。**结论** 该方法前处理操作简便、快捷, 检测方法灵敏度高、稳定性好, 满足国家标准要求。为建立婴幼儿配方乳粉中 6 种丁香酚类物质检测的国家标准或方法提供参考依据。

关键词: 气相色谱-质谱法; 配方乳粉; 丁香酚

Determination of 6 kinds of eugenols in infant formula milk powder by gas chromatography-mass spectrometry

CAI Hui-Min*

(China Quality Certification Centre, Beijing 100070, China)

ABSTRACT: Objective To establish a simple and efficient method for the determination of 6 kinds of eugenols in infant formula milk powder by gas chromatography-mass spectrometry. **Methods** After ultrasonic extraction with acetonitrile, the sample was purified and degreased using acetonitrile saturated n-hexane. The n-hexane was discarded, and acetonitrile was extracted and concentrated to a volume of 1 mL. DB-1701 chromatographic column was used to separate without splitting the sample, with an injection volume of 1 μ L. Ion monitoring mode for gas chromatography-mass spectrometry determination and external standard method for quantification was used. **Results** The 6 kinds of eugenols showed a good linear relationship within the range of 20–500 ng/mL, the limit of detection of the 6 kinds of eugenol compounds in this method was 0.007 mg/kg, and the limit of quantitation was 0.02 mg/kg. In 2 matrix samples of milk powder and sheep milk powder, the average recoveries of 6 kinds of eugenols at 3 different concentration levels were between 97.3% and 105.0%, the relative standard deviation (RSD) was between 0.3% and

收稿日期: 2024-11-25

第一作者/*通信作者: 蔡慧敏(1991—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全与分析。E-mail: 874584994@qq.com

3.7%. **Conclusion** The pretreatment operation of this method is simple and fast, and the detection method has high sensitivity and good stability, meeting the requirements of national standards, in order to provide reference basis for establishing national standards or methods for the detection of 6 kinds of eugenols in infant formula milk powder.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; formula milk powder; eugenol

0 引言

丁香酚又名4-烯丙基-2-甲氧基苯酚,是一种植物香料,广泛存在于丁香油、樟脑油和肉桂叶油等芳香油中^[1-5]。丁香酚是一种广泛应用于医药、食品、香料、动物饲料等行业的原料^[6-10]。GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》明确丁香酚、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。但GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》和GB 2762—2012《食品安全国家标准 食品中污染物限量》均未明确规定食品中丁香酚的最大残留限量。根据美国国家毒理学计划(national toxicology program, NTP)报道,丁香酚、甲基丁香酚对啮齿动物是可疑致癌物^[11-12]。有研究证明,丁香酚对肝脏具有毒副作用^[13-14],甲基丁香酚对哺乳动物具有致癌作用^[15-17]。

有研究表明丁香酚作为饲料添加剂使用具有多种作用,张桂枝等^[18]研究比较了几种植物精油与常见饲料防霉剂的防霉效果,研究表明0.3%的肉桂醛与丁香酚复合物在发酵饲料中添加8d内可起到很好的防霉效果。WALL等^[19]报道,日粮添加200 mg/d丁香酚和肉桂醛复合物可极显著提高初产牛的乳脂率。丁香作为中草药饲料添加剂,可以通过改善畜禽产品的色泽、风味等影响肉类品质^[20-22]。PATRA等^[23]研究表明丁香油都能显著抑制甲烷生成,对提高饲料能量利用率和改善环境均具有重要的意义。由于丁香酚类物质已作为饲料添加剂被广泛应用^[18-21],但是目前只有少量丁香酚在水生动物体内的代谢机制研究^[24-26],并没有查阅到丁香酚在畜禽动物体内的代谢机制研究,产乳动物极有可能通过饲料摄入丁香酚类物质,在无法完全代谢的情况下导致原料乳中丁香酚类物质残留,因此有必要开发婴幼儿配方乳粉中的丁香酚类物质残留检测方法,为婴幼儿配方乳粉的安全评估提供基础。

另外,有研究表明丁香酚、异丁香酚可作为主要底物在微生物转化法中生产香兰素,其在价格以及品质方面都比化学合成的香兰素占有优势^[27-28]。而GB 2760—2014中严格规定了较大婴儿和幼儿配方食品中香兰素的使用限量,并明确指出0至6个月婴幼儿配方食品中不得添加香兰素。因此检测婴幼儿配方乳粉中的丁香酚类物质为监测香兰素的使用增加了一种重要手段。

目前,较少检索到婴幼儿配方乳粉中6种丁香酚类物质的检测。由于丁香酚、甲基丁香酚、异丁香酚、顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香酚酯、乙酰基异丁香酚的化合物结构极为相似,碎片离子信息基本相似,6种丁香酚类物质使用色谱法分离难度较大^[29-31],本研究采用二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)辅助浓缩气相色谱-质谱联用仪测定6种丁香酚类化合物的检验方法测定婴幼儿配方牛乳粉和羊乳粉,以期为婴幼儿配方乳粉质量安全监管提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 仪器、材料和试剂

Agilent 7890B-5977B 气相色谱-质谱联用仪、DB-1701 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)(美国安捷伦科技公司); MS105DU 十万分之一电子天平、ME802/02 百分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; 5810R 冷冻离心机(eppendorf 中国有限公司); MS3 涡旋混合器(德国 IKA 公司); GT SONIC-R13 超声波(广东固特超声股份有限公司); BUCHI R300 旋转蒸发器(瑞士步琦有限公司)。

婴幼儿配方牛乳粉和羊乳粉购自超市及电商平台。

乙腈、正己烷、乙腈饱和正己烷溶液(色谱纯,美国 Fisher Chemical 公司); DMSO(分析纯,国药集团化学试剂有限公司); 丁香酚、甲基丁香酚、异丁香酚、顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香酚酯、乙酰基异丁香酚标准品(纯度≥99%)[曼哈格(上海)生物科技有限公司]; 0.22 μm 有机滤膜(博纳艾杰尔科技有限公司)。

1.2 仪器分析条件

1.2.1 色谱条件

色谱柱: DB-1701 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 初始温度 100 °C, 保持 1 min, 以 6 °C/min 升温至 200 °C, 再以 25 °C/min 升温至 260 °C, 保持 5 min; 进样口温度: 230 °C; 载气: 氦气, 纯度≥99.999%, 流速 1.0 mL/min; 进样方式为不分流进样; 进样量: 1 μL。

1.2.2 质谱条件

电离方式: 电子轰击电离源; 电离能量: 70 eV; 传输线温度: 280 °C; 离子源温度: 230 °C; 溶剂延迟时间: 6.00 min; 测定方式: 选择离子监控。6种丁香酚类物质的化学文摘服务社(chemical abstracts service, CAS)号、分子式、保留时间、定量及定性离子见表1。

表 1 丁香酚类物质的 CAS 号、分子式、保留时间、定量及定性离子
Table 1 CAS number, molecular formula, retention time, quantitative and qualitative ions of eugenol compounds

名称	CAS 登录号	分子式	保留时间 /min	定量离子 (<i>m/z</i>)	定性离子 1 (<i>m/z</i>)	定性离子 2 (<i>m/z</i>)	定性离子 3 (<i>m/z</i>)
丁香酚	97-53-0	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	10.60	164	149	131	103
甲基丁香酚	93-15-2	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	10.99	178	163	147	103
异丁香酚	97-54-1	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	12.64	164	149	131	103
顺式-甲基异丁香酚	93-16-3	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	13.02	178	163	107	91
乙酸丁香酚酯	93-28-7	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	14.04	164	149	206	131
乙酰基异丁香酚	93-29-8	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	15.87	164	149	206	131

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液配制

分别准确称取 6 种丁香酚类化合物标准品 100.0 mg(精确至 0.0001 g), 用乙腈溶解并定容至 100 mL, 此溶液质量浓度均为 1 mg/mL。将 6 种丁香酚类化合物标准储备液用乙腈稀释成 10 μg/mL 和 1 μg/mL 的混合标准中间溶液, 分别准确吸取适量 6 种丁香酚类化合物混合标准中间溶液, 用乙腈稀释成最终质量浓度为 20、40、100、200、500 ng/mL 的标准系列工作溶液, 临用时配制。

1.3.2 样品处理

称取 1.0 g 试样(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈, 涡旋混匀 1 min, 超声提取 15 min, 8000 r/min 离心 5 min, 上清液转至另一 50 mL 离心管中; 残渣中再加入 10 mL 乙腈重复提取一次, 合并所有上清液; 再加入 5 mL 乙腈饱和正己烷, 涡旋振荡 1 min, 8000 r/min 离心 5 min, 弃去正己烷层; 乙腈层加入 50 μL 的 DMSO 辅助浓缩, 40 °C 旋转蒸发浓缩至近干, 用乙腈定容至 1 mL, 混匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 供气相色谱-质谱联用仪分析。

1.4 数据处理

本研究中引用的实验图谱和数据由 Mass hunter 5977 提供, 实验重复 6 次测定, 表格由 Microsoft Excel 2021 软件完成。

2 结果与分析

2.1 丁香酚类物质的色谱图、定量及定性离子相对丰度比值以及质谱图

6 种丁香酚类物质的色谱图、相对丰度比值以及质谱图见图 1~6。本研究采用的实验方法对 6 种丁香酚类物质具有良好的分离效果。图 1~6 中色谱图的保留时间及峰面积, 质谱图以及定量及定性离子相对丰度比值提供了 6 种丁香酚类物质中各离子相对含量的信息, 是定量及定性分析的重要参数。可以深入了解丁香酚类物质的种类、数量、结构和性质, 为科学研究和技术开发提供有力的支持。

2.2 色谱柱的选择

丁香酚类物质为具有含氧基团的小分子弱极性化合

物, 因此适合使用中等极性或极性色谱柱对其进行分离。在现有研究基础上, 选择了不同的极性色谱柱对 6 种丁香酚类物质进行分离测定, 分别是 HP-Innowax (30 m×0.25 mm, 0.25 μm)、DB-5 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm)、DB-1701 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 3 种色谱柱。根据相邻两色谱峰间的分离度、保留时间以及色谱峰形等参数的比较, 对比发现使用 DB-1701 毛细管色谱柱的分离效果最佳, 峰形对称无拖尾, 适合以上 6 种丁香酚类物质的分离测定。

2.3 提取和净化

根据丁香酚类物质的极性, 使用乙腈做提取溶剂, 使用乙腈饱和的正己烷净化, 可有效去除样品中的油脂, 同时可将乙腈相中的低极性成分分离, 起到净化的作用。该方法操作简便、快捷, 回收率高, 稳定性好, 适用于实验室常规分析检测。

2.4 基质效应的考察

本研究以空白婴幼儿配方乳粉制备空白基质溶液, 空白基质的色谱图见图 7。并向空白基质溶液加入 6 种丁香酚类物质的标准溶液, 配制成浓度分别为 0.02、0.04、0.10 mg/kg 的基质标准溶液, 同时配制相同浓度的试剂标准溶液, 通过气相色谱-质谱仪测定, 按下列公式计算基质效应(matrix effects, ME)。ME=B/A×100%。其中, B 为基质匹配标准溶液中目标物的峰面积; A 为试剂标准溶液中目标物的峰面积。若 ME>100%, 则表示基质对分析物的响应产生增强效应; 若 ME<100%则表示基质对分析物的响应产生抑制效应; 若 ME=100%, 则表示不存在基质效应。当 ME 介于 80%~120% 时, 基质干扰程度较低; 当 50%<ME<80%或 120%<ME<150%时, 表现为中等程度的基质干扰效应; 当 ME<50%或 ME>150%, 表示基质效应的干扰强烈^[32]。由结果(见图 8)可见, 气相色谱-质谱测定时, 3 个不同添加浓度下的 6 种丁香酚类物质的 ME 值在 100.2%~103.0%, 说明存在离子化增强效应, 但基质干扰程度较弱, 基质效应不明显, 因此在测定过程中采用溶剂标准曲线来定量。

2.5 线性范围、检出限和定量限

分别吸取质量浓度为 1 μg/mL 的 6 种丁香酚类物质标准工作液适量, 用乙腈稀释并定容, 配制成 6 种丁香酚类

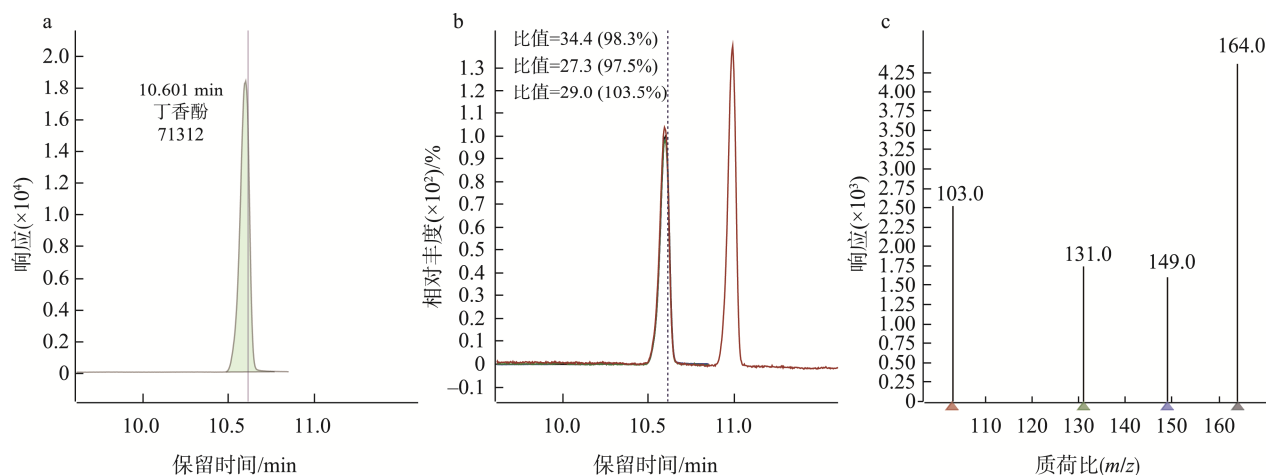


图 1 丁香酚的色谱图(a)、定量及定性离子相对丰度比值(b)以及质谱图(c)

Fig.1 Chromatogram (a), quantitative and qualitative ion relative abundance ratio (b) and mass spectrum (c) of eugenol

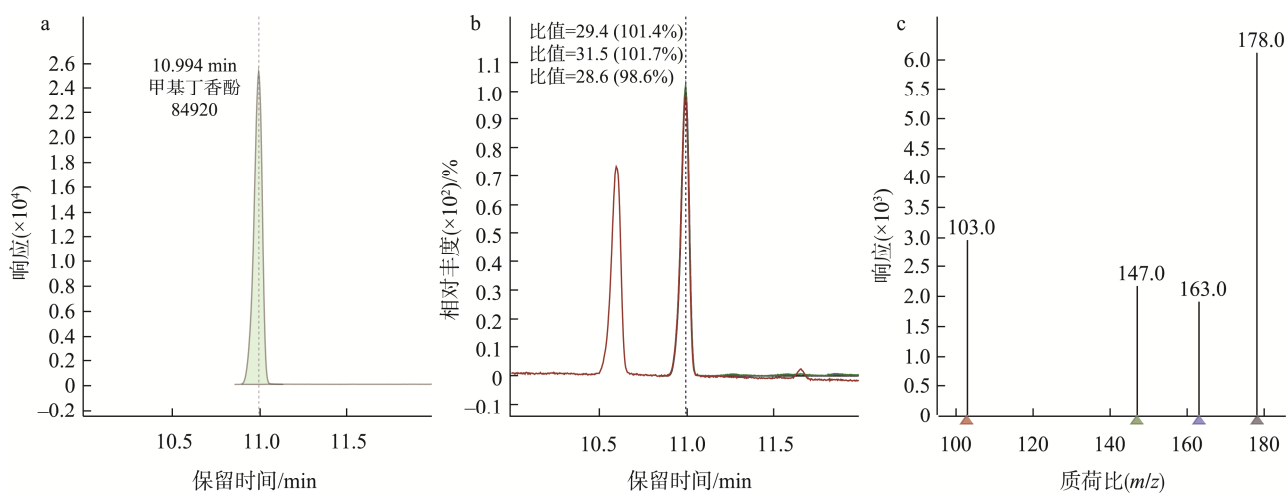


图 2 甲基丁香酚的色谱图(a)、定量及定性离子相对丰度比值(b)以及质谱图(c)

Fig.2 Chromatogram (a), quantitative and qualitative ion relative abundance ratio (b) and mass spectrum (c) of methyleugenol

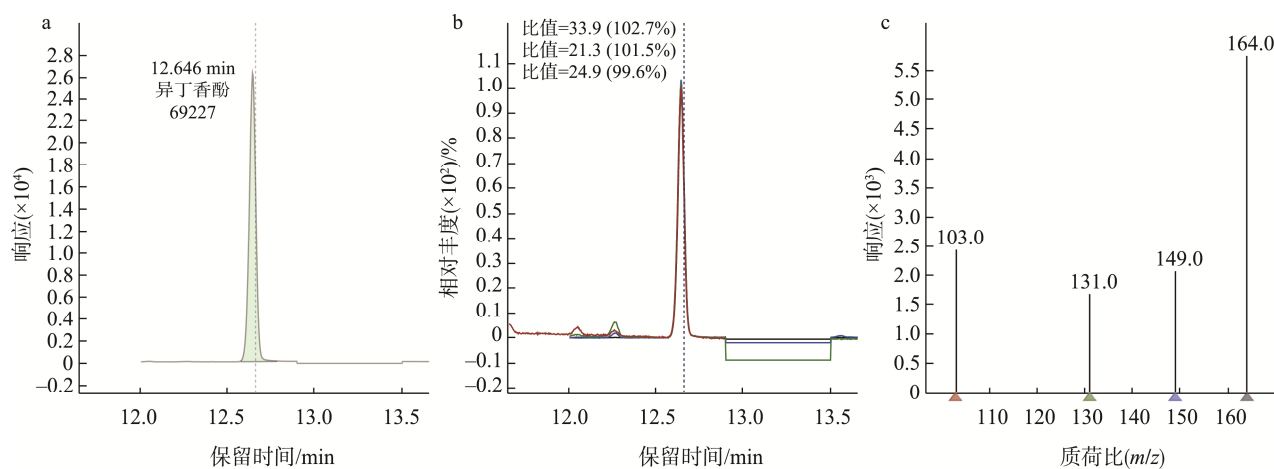


图 3 异丁香酚的色谱图(a)、定量及定性离子相对丰度比值(b)以及质谱图(c)

Fig.3 Chromatogram (a), quantitative and qualitative ion relative abundance ratio (b) and mass spectrum (c) of isoeugenol

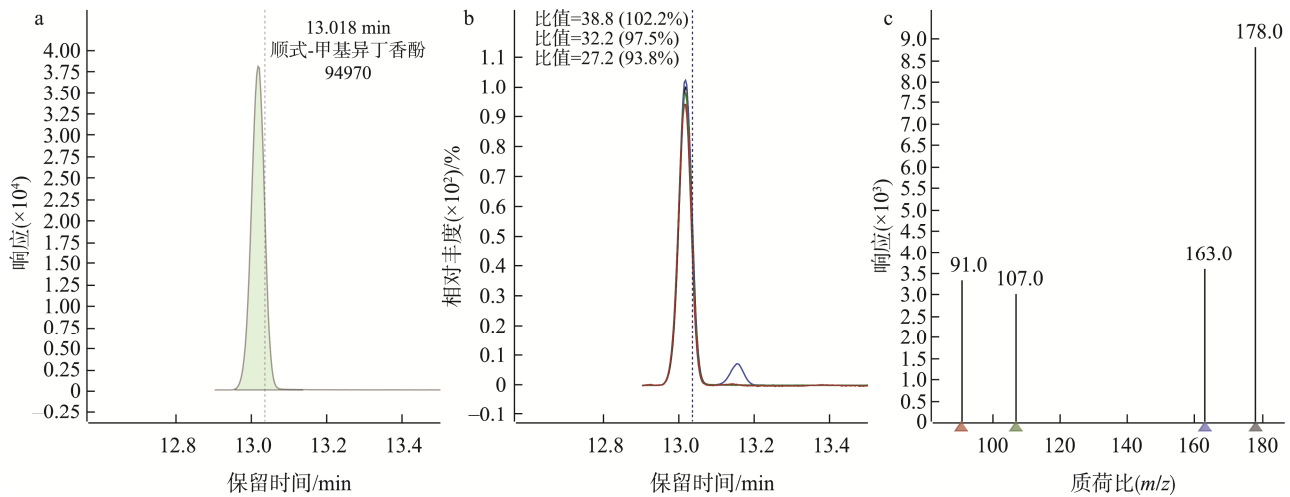


图4 顺式-甲基异丁香酚的色谱图(a)、定量及定性离子相对丰度比值(b)以及质谱图(c)

Fig.4 Chromatogram (a), quantitative and qualitative ion relative abundance ratio (b) and mass spectrum (c) of cis-methylisoeugenol

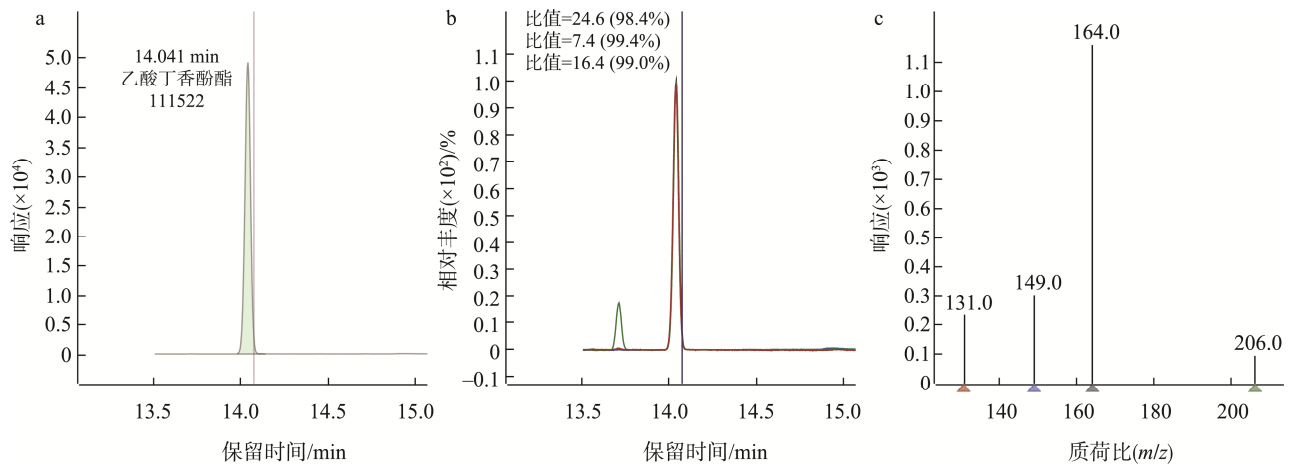


图5 乙酸丁香酚酯的色谱图(a)、定量及定性离子相对丰度比值(b)以及质谱图(c)

Fig.5 Chromatogram (a), quantitative and qualitative ion relative abundance ratio (b) and mass spectrum (c) of eugenol acetate

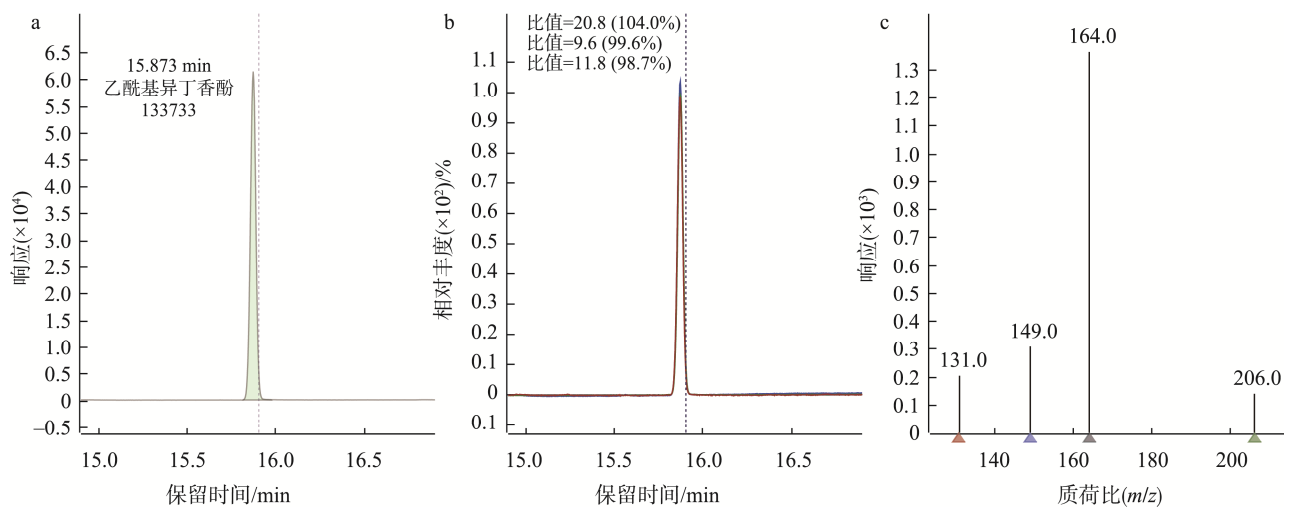


图6 乙酰基异丁香酚的色谱图(a)、定量及定性离子相对丰度比值(b)以及质谱图(c)

Fig.6 Chromatogram (a), quantitative and qualitative ion relative abundance ratio (b) and mass spectrum (c) of acetylisoeugenol

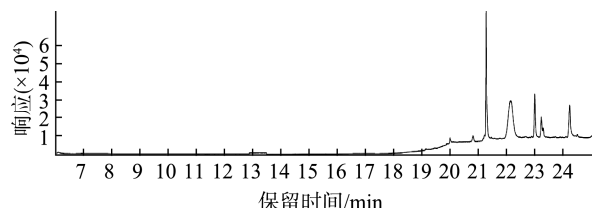


图 7 空白基质的色谱图

Fig.7 Chromatogram of blank matrix

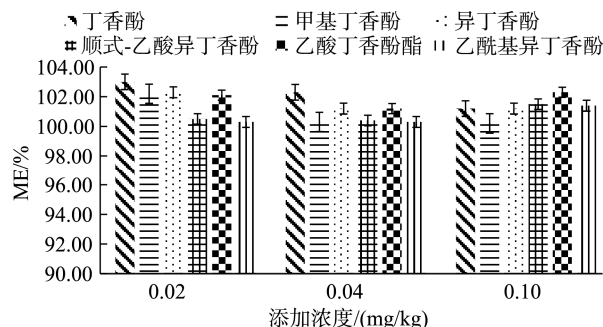


图 8 6 种丁香酚类物质在不同浓度下的 ME

Fig.8 ME of 6 kinds of eugenols at different concentrations

表 2 线性回归方程、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear regression equation, correlation coefficient, limit of detection and limit of quantitation

化合物	线性回归方程	相关系数(r^2)	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
丁香酚	$Y=69.7740X+429.3295$	0.9998	0.007	0.02
甲基丁香酚	$Y=83.6445X+98.0114$	0.9999	0.007	0.02
异丁香酚	$Y=67.7731X+19.4817$	0.9999	0.007	0.02
顺式-甲基异丁香酚	$Y=93.7311X+53.2495$	0.9999	0.007	0.02
乙酸丁香酚酯	$Y=110.0381X+81.2187$	0.9999	0.007	0.02
乙酰基异丁香酚	$Y=131.6277X+112.6490$	0.9999	0.007	0.02

表 3 精密度和回收实验结果($n=6$)

Table 3 Test results of precision and recovery ($n=6$)

化合物	添加水平 (mg/kg)	牛乳粉		羊乳粉	
		平均 回收率/%	RSDs /%	平均 回收率/%	RSDs /%
丁香酚	0.02	100.6	1.5	104.4	2.3
	0.04	103.1	3.7	100.4	3.2
	0.10	99.7	0.7	100.1	1.4
甲基丁香酚	0.02	102.3	1.2	103.5	3.2
	0.04	98.3	1.2	101.4	2.6
	0.10	101.4	1.3	100.1	2.5
异丁香酚	0.02	104.1	2.3	101.2	1.3
	0.04	98.3	1.4	100.1	2.5
	0.10	101.2	1.1	102.7	1.4
顺式-甲基 异丁香酚	0.02	105.0	3.2	104.1	3.2
	0.04	103.2	2.3	101.3	2.6
	0.10	99.5	0.7	100.6	1.7
乙酸丁香 酚酯	0.02	104.1	1.2	103.5	2.1
	0.04	97.3	2.4	100.4	2.6
	0.10	101.4	0.3	101.4	2.3
乙酰基异 丁香酚	0.02	102.6	2.6	103.3	2.5
	0.04	99.1	3.4	100.4	1.8
	0.10	102.3	1.2	101.7	1.4

结果表明, 在牛乳粉和羊乳粉两种基质样品中, 6 种丁香酚类物质的 3 个不同浓度水平的加标平均回收率在

物质质量浓度分别为 20、40、100、200、500 ng/mL 的标准系列工作液。以各目标物组分的质量浓度(X , ng/mL)为横坐标, 以色谱峰峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 建立线性回归方程, 外标法定量。6 种丁香酚类物质线性回归方程、相关系数、检出限和定量限见表 2。结果表明, 6 种丁香酚类物质在 20~500 ng/mL 内呈良好的线性关系, 相关系数(r^2)均大于等于 0.9998。取样量为 1.0 g, 定容体积为 1 mL 时, 以信噪比($S/N=3$)所对应的含量作为检出限, 以信噪比($S/N=10$)所对应的含量作为定量限, 本方法中 6 种丁香酚类化合物检出限均为 0.007 mg/kg, 定量限均为 0.02 mg/kg, 满足国家标准要求。

2.6 精密度与回收实验

取牛乳粉和羊乳粉两种空白样品进行 0.02、0.04、0.10 mg/kg 3 个不同浓度水平的加标水平, 分别按照 1.3 的前处理方法和 1.2 的气相色谱-质谱分析条件进行检测, 平行测定 6 次, 计算平均回收率以及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 结果见表 3。

97.3%~105.0%之间, RSDs 在 0.3%~3.7%之间, 说明该测定实验方法准确度高, 精密度好, 满足国家标准要求。

2.7 实际样品的检测

使用本研究建立的前处理及检测方法测定婴幼儿配方牛乳粉和羊乳粉各 20 批次, 结果显示, 所有样品均未检测出以上 6 种丁香酚类物质。

3 结论

本研究建立了一种同时测定婴幼儿配方乳粉中丁香酚、甲基丁香酚、异丁香酚、顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香酚酯和乙酰基异丁香酚的气相色谱-质谱检测方法。样品经乙腈提取, 乙腈饱和正己烷净化除脂。该方法前处理操作简便、快捷, 检测方法灵敏度高、稳定性好, 6 种丁香类物质在考察的线性范围内呈良好的线性关系, 平均回收率在 97.3%~105.0%之间, RSDs 在 0.3%~3.7%之间, 且定量限较低(均为 0.02 mg/kg)。本研究提出的婴幼儿配方乳粉中 6 种丁香酚类物质的检测方法, 适用于婴幼儿配方乳粉中丁香酚类物质的快速定性和定量分析, 以为婴幼儿配方乳粉的市场监管和食品安全检测提供技术支撑, 也为后续相关研究提供可参考的内容。

参考文献

- [1] TALEUZZAMAN M, JAIN P, VERMA R, *et al.* Eugenol as a potential drug candidate: A review [J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2021, 21(20): 1804–1815.
- [2] HUANG Y, LI Q, ZHANG Y, *et al.* Determination of six eugenol residues in aquatic products by gas chromatography-orbitrap mass spectrometry [J]. *Journal of Food Quality*, 2021, 202: 9438853.
- [3] KALITA DJ, TARNAVCHYK I, SELVAKUMAR S, *et al.* Poly(vinylethers) based on the biomass-derived compound, eugenol, and their one-component, ambient-cured surface coatings [J]. *Progress in Organic Coatings*, 2022, 170(7): 10751–10755.
- [4] 刘鹏. 丁香酚防治牙周炎的药理作用研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(11): 2669–2672.
- LIU P. Advances in pharmacological effects of eugenol in prevention and treatment of periodontitis [J]. *Drugs & Clinic*, 2022, 37(11): 2669–2672.
- [5] 易灏森, 余润宇, 杨芷朋, 等. 丁香酚的药理作用研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(6): 1625–1630.
- YI HS, YU RY, YANG ZY, *et al.* Research progress on pharmacological effect of eugenol [J]. *Drugs & Clinic*, 2024, 39(6): 1625–1630.
- [6] 邵曼, 姚欢, 余晓琴. 水产品养殖水中丁香酚类化合物风险研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(8): 3352–3357.
- SHAO M, YAO H, YU XQ. Research on the risk of eugenol drug residues in aquatic products and aquaculture water [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(8): 3352–3357.
- [7] 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): 92–96.
- YANG L, ZHANG XL, LIU XD. Anesthetic effects of clove oil, MS-222 and propofol on *Larimichthys crocea* [J]. *Fishery Modernization*, 2021, 48(2): 92–96.
- [8] 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]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(1): 189–196.
- [9] 柏品清, 任亚萍, 胡卉, 等. 2021—2022 年上海市浦东新区市售淡水鱼中麻醉剂的残留状况及膳食暴露[J]. *职业与健康*, 2023, 39(20): 2778–2780.
- BAI PQ, REN YP, HU H, *et al.* Status and dietary exposure risk assessment of anesthetic residues in commercially available freshwater fish in Pudong New Area of Shanghai from 2021–2022 [J]. *Occup and Health*, 2023, 39(20): 2778–2780.
- [10] MATHE A. Essential oils-biochemistry, production and utilization [M]. Nottingham: Nottingham University Press, 2009.
- [11] Center for Veterinary Medicine. Guidance for industry: Concerns related to the use of clove oil as an anesthetic for fish [EB/OL]. (2002-06-11) [2024-11-24]. <http://www.fda.gov/downloads/animalveterinary/guidancecompliancencforcement/guidanceforindustry/ucm052520>
- [12] KUANG XX, SU HT, LI WX, *et al.* Effects of microbial community structure and its cooccurrence on the dynamic changes of physicochemical properties and free amino acids in the Cantonese soy sauce fermentation process [J]. *Food Research International*, 2022(156): 111347.
- [13] THOMPSON DC, BARHOUMI R, BURGHARDT RC. Comparative toxicity of eugenol and its quinone methide metabolite in cultured liver cells using kinetic fluorescence bioassays [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1998, 149(1): 55–63.
- [14] 谢希尧, 区又君, 徐淑玉, 等. MS-222 和丁香酚胁迫对四指马鲛幼鱼鳃及肝脏组织微观结构的影响[J]. *广东农业科学*, 2024, 51(5): 144–154.
- XIE XY, OU YJ, XU SY, *et al.* Effects of MS-222 and eugenol stress on microstructure of gill and liver tissue in juvenile *Eleutheronema tetradactylum* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2024, 51(5): 144–154.
- [15] European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance eugenol [R]. Parma: EFSAJ, 2010.
- [16] GEORGE JD, PRICE CJ, MARR MC, *et al.* Evaluation of the developmental toxicity of isoeugenol in Sprague-Dawley (CD) rats [J]. *Toxicological Sciences*, 2001, 60(1): 112–120.
- [17] WANG K, TANG Y, WU X, *et al.* Eugenol attenuates transmissible gastroenteritis virus-induced oxidative stress and apoptosis via ROS-NRF2-ARE Signaling [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(9): 1838.
- [18] 张桂枝, 刘俊杰, 潘梦洋, 等. 复合植物精油和有机酸盐对发酵饲料的防霉效果及发酵品质的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2023(14): 91–95, 101.
- ZHANG GZ, LIU JJ, PAN MY, *et al.* Effects of compound plant essential oil and organic acid salt on the anti-mildew effect and fermentation quality of fermented feed [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2023(14): 91–95, 101.
- [19] WALL EH, DOANE PH, DONKIN SS, *et al.* The effects of supplementation with a blend of cinnamaldehyde and eugenol on feed intake and milk production of dairy cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(9): 5709–5717.
- [20] 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 Industry*, 2020, 41(14): 54–59.
- [21] 张玮, 李会荣, 宫玲玲. 高效液相色谱法测定混合型饲料添加剂中肉桂醛、丁香酚、香芹酚和百里香酚含量[J]. *饲料研究*, 2020(2): 64–69.
- ZHANG W, LI HR, GONG LL. Study on the determination of cinnamaldehyde, eugenol, carvacrol and thymol in mixed feed additives by liquid chromatography [J]. *Feed Research*, 2020(2): 64–69.
- [22] 盛文胜, 谢作桦, 周彦如, 等. 丁香酚的抑菌、抗菌作用及机制研究[J]. *食品安全导刊*, 2024(3): 180–186.
- SHENG WS, XIE ZH, ZHOU YR, *et al.* Study on antibacterial and antimicrobial effects and mechanism of eugenol [J]. *China Food Safety*, 2024(3): 180–186.
- [23] PATRA AK, YU ZT. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of rumen microbial populations [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(12): 4271–4280.
- [24] 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 *Hapalogenys nitens* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2020, 40(1): 19–28.
- [25] GUÉNETTE SA, UHLAND FC, HÉLIE P, *et al.* Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 2007, 266: 262–265.
- [26] KILDEA MA, ALLAN GL, KEARNEY RE. Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-STM from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 232: 265–277.
- [27] GALLAGE NJ, MØLLER BL. Vanillin-bioconversion and bioengineering of the most popular plant flavor and its De Novo biosynthesis in the vanilla orchid [J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(1): 40–57.
- [28] 周曼, 陈鲁易, 王子怡, 等. 利用农业-食品生物废弃物生物转化制备香兰素的研究进展[J/OL]. *食品科学*, 1-14. [2024-8-23]. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20240605-022
- ZHOU M, CHEN LY, WANG ZY, *et al.* Research progress on the production of vanillin through biotransformation of agri-food lignocellulosic biomass waste [J/OL]. *Food Science*, 1-14. [2024-8-23]. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20240605-022
- [29] 殷雪琰, 王洁琼, 刘笑, 等. 超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法测定水产品中地西洋及丁香酚类化合物残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(16): 195–202.
- YIN XY, WANG JQ, LIU X, *et al.* Determination of diazepam and eugenol residues in aquatic products based on ultra performance liquid chromatography-electrostatic field orbital high resolution mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(16): 195–202.
- [30] 欧阳卫民, 胡中海, 董小华, 等. 气相色谱-串联质谱法测定淡水鱼中 5 种丁香酚残留[J]. *农产品质量与安全*, 2024(3): 69–73, 78.
- OUYANG WM, HU ZH, DONG XH, *et al.* Residues of 5 eugenols in freshwater fish were determined by GC-MS/MS [J]. *Quality and Safety of Agro-products*, 2024(3): 69–73, 78.
- [31] 陈源. UPLC-MS/MS 同时测定水产品中 7 种丁香酚类麻醉剂残留量[J]. *食品工业*, 2024, 45(1): 280–283.
- CHEN Y. Determination of 7 eugenol residues in aquatic products by UPLC-MS/MS [J]. *The Food Industry*, 2024, 45(1): 280–283.
- [32] BULAICN M, KOVAC TM. Matrix effect evaluation in GC/MS-MS analysis of multiple pesticide residues in selected food matrices [J]. *Foods*, 2023, 12(21): 3991.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)