羟基有机网络材料用于牛奶中氟喹诺酮类抗生素的检测

赵哲^{1,2}, 张佳玉¹, 于振东¹, 梁淑轩^{1*}

1. 河北大学化学与环境科学学院, 保定 071002

2. 邢台学院化学化工学院, 邢台 054001

*通讯作者, E-mail: liangsx168@126.com

收稿日期: 2021-05-29; 接受日期: 2021-07-06; 网络版发表日期: 2021-09-01

河北省研究生创新资助项目(编号: CXZZBS2020017)

摘要 牛奶中氟喹诺酮类抗生素残留可增加居民膳食暴露风险, 发展其检测方法是食品安全的重要需求. 本文以1,3,5-三乙炔苯和2,4,6-三碘苯酚为单体, 在30℃的温和条件下通过Sonogashira耦合反应合成了羟基有机网络材料, 并对其形貌、结构和疏水性进行了表征. 由于 π - π 、氢键和疏水作用, 该材料能够高效保留牛奶基质中的氟喹诺酮类抗生素. 将其作为固相萃取(SPE)吸附剂, 结合高效液相色谱-荧光检测器对管尖SPE条件进行优化, 提出了牛奶中氧氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星样品前处理的新方法. 在0.4~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的浓度范围内, $R^2 \geq 0.9992$, 线性关系良好, 检出限为0.15~1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 加标回收率和相对标准偏差分别为89.6%~103.5%和1.3%~5.9%, 适用于牛奶样品中三种氟喹诺酮类抗生素的检测.

关键词 羟基有机网络, 管尖固相萃取, 氟喹诺酮类抗生素, 高效液相色谱-荧光检测器, 牛奶

1 引言

抗生素广泛应用于人畜疾病的预防和治疗^[1]. 其中, 氟喹诺酮类抗生素由于抗菌广谱、作用强度大、成本低等优点, 成为发展最为迅速、应用最为广泛的化学合成药物, 造成氟喹诺酮类抗生素在动物源性食品中频繁检出^[2]. 牛奶含有丰富的蛋白质, 是日常生活中必不可少的动物源性食品之一, 而牛奶中氟喹诺酮类抗生素的残留, 会引起过敏反应及细菌的耐药性, 对人体健康产生潜在的威胁^[3,4]. 很多机构规定了食品中兽药残留的最大限量以确保消费者的安全. 中国、

欧盟和日本分别规定了牛奶中恩诺沙星的最大残留限量不超过100、100和50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[5,6], 环丙沙星的最大残留限量为100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[7], 对于没有做出规定的抗生素, 通常按100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 作为最大残留限量^[8,9]. 因此, 开发高灵敏度的检测方法尤为重要.

样品前处理是检测技术的重要环节, 固相萃取(SPE)具有预浓缩效率高、重现性好、萃取过程易于自动化等优点, 在样品前处理中广泛应用^[10]. 但该方法也存在一定的局限性, 如商业化SPE小柱成本较高, 且溶剂和吸附剂的消耗量相对较高, 因此小型化的管尖SPE小柱便应运而生, 它只需要两个移液枪的枪

引用格式: Zhao Z, Zhang J, Yu Z, Liang S. Application of the novel organic network material for the detection of fluoroquinolone antibiotics in milk. *Sci Sin Chim*, 2021, 51: 1293–1302, doi: 10.1360/SSC-2021-0131

头、脱脂棉和一定量的吸附剂, 是一种有前途的萃取和预浓缩方法^[11]. 而高效吸附剂的选择和优化成为决定管尖SPE效率的核心环节^[12].

羟基有机网络材料的合成基于Sonogashira耦合反应, 以芳香卤化物和刚性炔烃作为单体^[13], 合成条件温和、节能、快速^[14]. 因其优异的物理化学性质, 在催化^[15]、药物输送^[16]、传感^[17]、锂离子电池^[18]等方面有着广泛的应用, 并且具有作为优良吸附剂的巨大潜力, 可以有效地吸附四溴双酚A^[19]、甲苯^[20]、阴离子染料^[21]等有机污染物. 目前, 磁性氨基功能化的有机网络材料已被应用于水、果汁中内分泌干扰物的磁性SPE样品前处理^[22]. 二氧化硅-氨基功能化微孔有机网络复合材料被成功应用于在线SPE水中的酚类物质^[23]. 这些研究成果表明有机网络材料在样品前处理领域具有良好的应用潜力. 但是, 目前的应用仅限于基质较为简单的样品中痕量污染物的检测, 对于在复杂基质中抗生素的样品前处理中的应用还未见报道.

本研究选择1,3,5-三乙炔苯和2,4,6-三碘苯酚作为单体, 在30℃的温和条件下合成了新型羟基有机网络材料, 对其进行表征和动态吸附性能评价, 推测吸附机理, 并应用于牛奶中氟喹诺酮类抗生素的管尖SPE样品前处理中, 与高效液相色谱-荧光检测器(HPLC-FLD)相结合, 建立了测定牛奶中氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星的新方法.

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

2,4,6-三碘苯酚(98%, Alfa Aesar)购自中国上海Thermo公司. 1,3,5-三乙炔苯(>98%)和双(三苯基膦)二氯化钯(II)(>98%, 15.2%Pd)购自中国上海Adamas试剂有限公司. 碘化亚铜(I) (99.999%)购自中国上海Sigma-aldrich贸易有限公司. 氧氟沙星(98%)、环丙沙星(≥98%)、恩诺沙星(98%)和乙腈(色谱纯)购自中国上海Aladdin化学有限公司. 超纯水(18.25 MΩ cm)由实验室超纯水机制备.

离心机(FC5718R, Ohaus, 德国), 旋转蒸发仪(RE100-Pro, 大龙, 北京), SPE装置(57044, Supelco, 美国), 氮吹仪(NDK200N, 米欧, 杭州), 超纯水机(Molelement 1810DF, 摩尔, 重庆), HPLC (Pump1525, Fluorescence Detector 2475, Waters, 美国). 傅里叶变换红外光

谱仪(Nicolet iS10, Thermo, 美国), 扫描电子显微镜(SEM, S4700, Hitachi, 日本), 接触角仪(SL200B, Kino, 美国).

2.2 实验方法

2.2.1 羟基有机网络材料的制备

将9.14 mg碘化亚铜(I)和33.69 mg双(三苯基膦)二氯化钯(II)加入盛有30 mL三乙胺和30 mL甲苯的单颈圆底烧瓶中, 超声使其溶解, 之后加入226.46 mg 2,4,6-三碘苯酚和72.09 mg 1,3,5-三乙炔苯, 在30℃的水浴磁力搅拌器中搅拌6 h. 得到的产物分别用甲苯、二氯甲烷和无水乙醇洗涤数次^[18,21]. 65℃下真空干燥过夜, 得到棕色粉末状的羟基有机网络材料.

2.2.2 样品的前处理及测定

于当地超市购买16种牛奶. 分别称取1 g牛奶于50 mL离心管中, 加入5 mL乙腈, 涡旋1 min, 离心, 取上清液. 向残渣中加入2.5 mL pH 3的磷酸缓冲溶液和5 mL乙腈, 涡旋1 min, 离心, 合并上清液. 50℃旋转蒸发至剩少量黄色液体, 加2 mL 0.2%的乙酸水溶液复溶.

将制备的羟基有机网络材料装入管尖SPE小柱, 经3 mL甲醇和3 mL水充分活化, 取1 mL 复溶液上样, 用1 mL 0.2%的乙酸水淋洗, 1 mL 10%乙酸乙腈溶液洗脱, 氮吹至近干, 用流动相复溶, 过0.45 μm有机滤膜. 用HPLC-FLD测定, 激发波长280 nm, 发射波长340~540 nm. 为了有效避免内源或外源性干扰, 氧氟沙星在发射波长为520 nm下进行分析, 环丙沙星和恩诺沙星在450 nm进行分析.

通过向牛奶中加标50 μg/kg 进行条件优化实验. 通过标准曲线、基质效应、检出限、定量限、加标回收率以及日内、日间、不同批次间的精密度进行方法学考察.

2.2.3 动态吸附性能的考察

将10 mg材料装入管尖固相萃取小柱, 与固相萃取装置相连, 取1 mL浓度为10 mg/L氧氟沙星溶液, 上样于小柱中, 收集流出液进行检测, 至流出液的浓度与上样溶液浓度相近为止. 对环丙沙星、恩诺沙星以及混合抗生素的动态吸附性能按同样方法进行操作和测定. 当流出液中刚刚检测出抗生素时, 为材料的固相萃

取最大吸附量. 当与上样溶液浓度相近时, 表明材料与抗生素之间达到吸附解析平衡, 此时为材料的最大动态吸附量.

3 结果与讨论

3.1 羟基有机网络材料的表征

利用SEM表征羟基有机网络材料的形貌, 如图1a所示, 羟基有机网络材料为球形, 直径约600 nm. 利用红外光谱和固体核磁共振确定材料的结构和官能团. 红外光谱如图1b所示, 羟基有机网络材料在 2200 cm^{-1}

出现吸收峰, 为三键二元取代的伸缩峰, 而在反应物2,4,6-三碘苯酚和1,3,5-三乙炔苯中并未出现, 表明反应物的成功偶联^[24]. 1574 和 1456 cm^{-1} 处的吸收峰是芳香环骨架振动产生的. 1440 、 1230 和 877 cm^{-1} 分别对应于苯环酚羟基中的O-H、C-O键和芳香环上C-H键的弯曲振动^[18]. 核磁共振碳谱如图1c所示, 其中 81.6 ppm 对应炔碳原子, 123.6 和 132.8 ppm 是由芳香环产生的, 155.7 ppm 为酚羟基碳原子. Brunauer-Emmett-Teller (BET)比表面积和最可几孔径(图1d)分别为 $15.9\text{ m}^2/\text{g}$ 和 4.7 nm . 接触角为 128° (图1e), 表明材料具有较强的疏水性.

图1 羟基有机网络材料的SEM图(a)、红外光谱(b)、固体核磁(c)、氮吸附热力学和孔径分布(d), 以及接触角(e) (网络版彩图)

Figure 1 SEM image (a), infrared spectroscopy (b), solid ^{13}C NMR spectra (c), N_2 adsorption-desorption isotherms and pore size distribution (d), and contact angle (e) of hydroxyl organic network material (color online).

3.2 色谱条件的优化

为了准确的对氧氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星进行定性定量分析, 首先对色谱条件进行了优化. 分别考察了体积比分别为90:10的水:乙腈, 0.1%乙酸水:乙腈, 0.2%乙酸水:乙腈为流动相时, 50 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液在C18柱上的分离效果, 结果如图2所示. 当流动相为纯水和乙腈时, 三种抗生素在16 min 内未出峰, 随着纯水中乙酸的加入, 三种抗生素出现响应, 表明酸的加入有利于改善峰形, 提高分离度, 当乙酸的加入量为0.2%时, 三种抗生素得到较好的分离.

3.3 样品前处理条件的优化

3.3.1 提取条件的优化

牛奶含有丰富的蛋白质, 因此提取液除了具备提取抗生素的能力之外, 还要最大程度地沉淀蛋白质, 减小基质干扰. 乙腈可以有效地沉淀蛋白, 酸性条件有利于氟喹诺酮类抗生素的溶解, 本研究考察了乙腈提取一次、乙腈提取两次、乙腈提取一次再用乙腈加pH为3磷酸缓冲溶液提取残渣的效果, 结果如图3所示.

结果表明, 前两种方法提取率在72.9%~84.8%之间, 而采用第三种方法提取, 三种抗生素的提取率均在98%以上. 这可能是由于乙腈沉淀蛋白的能力较强, 离心后得到的沉淀在第二次提取中不易充分分散, 而提取剂中加入pH 3的磷酸缓冲溶液, 可以使沉淀再一次均匀分散, 达到二次提取的效果, 增加提取率.

图2 流动相pH对三种抗生素的分离度及响应强度的影响. 1: 氧氟沙星; 2: 环丙沙星; 3: 恩诺沙星(网络版彩图)

Figure 2 Effect of pH value of mobile phase on separation and response of three antibiotics. 1: Ofloxacin; 2: ciprofloxacin; 3: enrofloxacin (color online).

图3 不同提取方法对三种抗生素提取率的影响(网络版彩图)

Figure 3 Effect of different extraction methods on the extraction rate of three antibiotics (color online).

3.3.2 SPE程序的优化

将提取液在50℃下进行旋转蒸发, 旋蒸后需要选择合适的溶液进行复溶, 复溶溶液的pH、盐以及有机溶剂的含量直接影响着抗生素在管尖SPE小柱上的保留效果. 图4a分别为三种抗生素在水、0.2%乙酸水、pH 3的磷酸缓冲溶液、5%甲醇-0.2%乙酸水溶液以及10%甲醇-0.2%乙酸水溶液的复溶率. 结果表明, 氧氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星在0.2%醋酸水中能够得到较好的溶解. 酸性条件下有利于抗生素的溶解以及未沉淀完全的蛋白质析出, 未添加有机溶剂的缓冲溶液由于离子强度较大, 产生盐析作用, 不利于抗生素的溶解, 而甲醇的加入虽然有利于提高溶解度, 但是有机溶剂具有作为洗脱剂的性质, 不利于抗生素在SPE小柱的保留. 因此, 选择了0.2%乙酸水作为复溶溶液进行上样.

吸附剂用量是管尖SPE过程中非常重要的因素, 过少的吸附剂不能完全保留样品中的抗生素导致回收率降低, 而过多的用量可导致材料的浪费、小柱背压升高和洗脱过程的困难. 如图4b所示, 20 mg的吸附剂就能够将上样溶液中的抗生素完全保留.

合适的淋洗液可以在不损失抗生素的情况下, 将样品中的部分杂质去除, 减少基质效应. 如图4c所示, 有机溶剂的加入会导致抗生素在淋洗过程中损失, 选择0.2%醋酸水淋洗时, 抗生素可以最大程度地保留在小柱上.

图 4 SPE条件优化. (a) 复溶溶液种类对溶解率的影响; (b) 吸附剂用量与漏出率之间的关系; (c) 淋洗液与漏出率的关系; (d) 洗脱剂种类和体积对回收率的影响(其中A, B, C, D, E分别为甲醇、乙腈、5%氨水-乙腈、5%乙酸-乙腈、10%乙酸-乙腈; A, B, C, D, E中的五根柱子分别代表1、2、3、4和5 mL洗脱液) (网络版彩图)

Figure 4 Optimization of SPE conditions. (a) It is the influence of the type of re solution on the dissolution rate. (b) It is the relationship between the amount of adsorbent and the leakage rate. (c) It is the relationship between eluent and leakage rate. (d) A, B, C, D and E are methanol, acetonitrile, 5% ammonia-acetonitrile, 5% acetic acid-acetonitrile, 10% acetic acid-acetonitrile, respectively. The five columns in A, B, C, D and E represent 1, 2, 3, 4 and 5 mL eluent, respectively (color online).

为了得到理想的回收率, 考察了洗脱剂的种类和体积. 如图4d所示, 相较于甲醇, 乙腈的洗脱能力更强. 乙腈中碱的加入有利于氧氟沙星回收率的提高, 但是环丙沙星和恩诺沙星的回收率较低. 而酸化的乙腈溶液大大提高了三种抗生素的回收率, 采用10%乙酸乙腈溶液1 mL便能得到满意的回收率, 分别为93.0%、99.2%、98.5%. 这可能是由于三种抗生素都易溶于乙酸, 因此用10%乙酸酸化的乙腈溶液具有较高的回收率.

3.4 方法学考察

3.4.1 基质效应

由于内源性或外源性干扰物的存在, 可能会对待测物质产生显著的基质效应(ME), 使待测物质的信号

增强或抑制, 进而使分析结果出现偏差. 基质效应的计算如式(1)所示^[2]:

$$ME\% = \frac{A - A_0}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中, A_0 为标准溶液的峰面积, A 为相应浓度的基质溶液的峰面积, 当 $-15\% \leq ME\% \leq 15\%$, ME不明显. 当 $ME\% \geq 15\%$, 或 $ME\% \leq -15\%$ 时, ME显著. 选择25 $\mu\text{g/kg}$ 的浓度计算ME, 氧氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星的ME%分别是1.1%、4.5%和2.3%, 表明ME不明显.

3.4.2 管尖SPE-HPLC-FLD方法学参数

如表1所示, 三种抗生素的线性关系良好, 检出限(LOD)和定量限(LOQ)均远远小于牛奶中的最大残留

限量, 日内、日间和批次间精密度分别用其相应的标准偏差(RSD)表示, 均小于6.8%, 可以应用于牛奶中氟喹诺酮类抗生素的安全监测中。

3.4.3 回收率和精密度

对四个浓度的加标回收率进行考察, 结果见表2。氧氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星的加标回收率分别为89.6%~96.4%、91.2%~103.5%、90.3%~97.9%, 精密密度为2.5%~5.9%、1.3%~5.3%、2.1%~4.6%。精密度、回收率良好, 证明该方法的可行性。

3.5 与其他吸附剂和检测方法的比较

3.5.1 与其他吸附剂的比较

选择商业化吸附材料C18、硅胶、PSA、石墨化碳、硅酸镁/弗罗里硅土、中性氧化铝、PLS各20 mg, 对加标50 µg/kg的牛奶样品进行管尖SPE样品前处理, 各材料回收率的结果如表3所示。

制备的羟基有机网络材料对三种抗生素的回收率均大于92.6%, 适合作为牛奶中抗生素样品前处理的吸附材料。C18、硅胶、PSA、石墨化碳、硅酸镁/弗罗里硅土、中性氧化铝、PLS的回收率均不理想, 通过对流出液和淋洗液的检测, 除了石墨化碳和PLS之外, 其他5种吸附剂的流出液均能检测到大量的抗生

素, 表明抗生素在这五种材料上未完全保留, 导致回收率低。石墨化碳的流出液和淋洗液均未检测到抗生素, 表明石墨化碳对抗生素的保留能力较强, 但是回收率依然较低, 是由于抗生素在石墨化碳上较难洗脱。PLS由于较好的亲水亲脂平衡特性, 对抗生素吸附性能较强, 不足之处是在吸附抗生素的同时也吸附了大量的基质, 导致对环丙沙星产生了较高的基质效应。

3.5.2 与其他检测方法的比较

通过与文献中报道的牛奶中氟喹诺酮类抗生素检测方法相比(表4), 本方法从线性范围、检出限、定量限以及回收率等方面均比较理想, 可用于牛奶中氟喹诺酮类抗生素的测定。

3.6 实际样品测定

该方法对牛奶基质具有较好的净化作用, 净化前后的色谱图如图5所示, 表明有利于准确定量, 同时可以延长色谱柱的寿命。从超市购买16种不同的牛奶, 利用建立的方法进行测定, 检测结果见表5。其中, 5个样本检测出氧氟沙星, 含量为4.80~7.31 µg/kg, 10个样本检测出恩诺沙星, 含量为2.16~4.43 µg/kg, 环丙沙星均未检出。残留浓度均远远小于最大残留限量(100 µg/kg)。根据GB31650-2019, 恩诺沙星の日允许

表 1 三种氟喹诺酮类抗生素的管尖SPE-HPLC-FLD方法学参数

Table 1 Parameters of pipette-tip SPE-HPLC method of three fluoroquinolone antibiotics

化合物名称	线性范围(µg/kg)	相关系数	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	RSD (%)		
					日内(n=5)	日间(n=5)	批次间(n=5)
氧氟沙星	2~100	0.9993	1.20	4.00	3.3	4.9	6.8
环丙沙星	0.4~100	0.9993	0.15	0.50	2.9	3.1	4.2
恩诺沙星	0.4~100	0.9992	0.15	0.50	2.4	2.7	5.5

表 2 三种氟喹诺酮类抗生素在牛奶样品的加标回收率(n=5)

Table 2 Spiked recoveries of three fluoroquinolone antibiotics in milk samples (n=5)

加标量(µg/kg)	氧氟沙星		环丙沙星		恩诺沙星	
	回收率(%)	RSD (%)	回收率(%)	RSD (%)	回收率(%)	RSD (%)
5	89.6	5.9	103.5	5.3	90.3	4.6
20	90.5	4.3	91.2	3.8	92.4	2.5
50	96.4	3.3	92.6	2.7	95.1	2.4
80	92.8	2.5	96.6	1.3	97.9	2.1

表 3 与其他吸附剂的回收率比较

Table 3 Comparison of recovery rate with other adsorbents

材料名称	回收率(%)		
	氧氟沙星	环丙沙星	恩诺沙星
羟基有机网络	96.4	92.6	95.1
C18	3.2	3.9	4.9
硅胶	10.4	8.2	21.4
PSA	3.2	3.6	4.2
石墨化炭	21.4	6.0	6.1
硅酸镁/弗罗里硅土	8.8	13.8	12.7
中性氧化铝	4.6	4.6	5.8
PLS	101.7	117.8	100.9

摄入量(ADI)为6.2 $\mu\text{g/kg bw}$, 对氧氟沙星和环丙沙星未做规定^[31]. 以60 kg的成年人为例, 恩诺沙星的日允许摄入量为372 μg , 表明所检测的牛奶中恩诺沙星的摄入量远小于ADI, 兽药残留量在安全限制之内, 牛奶中兽药残留的慢性膳食暴露风险小, 但兽药仍有一定残留, 应进一步规范和加强兽药的使用和管理.

3.7 动态吸附能力及机理分析

配制10 mg/L氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星以及三种抗生素的混合溶液, 依次取1 mL溶液上样于装有10 mg材料的小柱中, 用HPLC-FLD检测收集到的流出液, 至浓度接近10 mg/L为止. 结果如图6所示.

图6a表明小柱对氧氟沙星和恩诺沙星的完全保留

量为2 mL, 对环丙沙星的完全保留量为1 mL. 对混合抗生素标准溶液的完全保留量为0.5 mL(图6b). 氧氟沙星达到平衡时的穿透体积为16 mL, 环丙沙星为14 mL, 恩诺沙星为22 mL. 混合标样中氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星达到平衡分别需要9、7和12 mL. 表明材料对三种抗生素的吸附能力从大到小依次为: 恩诺沙星>氧氟沙星>环丙沙星.

羟基网络材料中存在着共轭 π 键以及羟基, 可以与抗生素中的苯环和氟原子发生 π - π 共轭以及氢键作用. 另外, 材料的疏水作用也对吸附发挥着重要的影响. 恩

图 5 加标牛奶净化前、净化后以及标准样品的色谱图. 1: 氧氟沙星; 2: 环丙沙星; 3: 恩诺沙星(网络版彩图)

Figure 5 Chromatograms of the spiked milk sample before and after the SPE-HPLC process and standard sample analysis. 1: Ofloxacin; 2: ciprofloxacin; 3: enrofloxacin (color online).

表 4 与其他检测方法的比较

Table 4 Comparison of analytical performance with other detection methods

材料	前处理方法	吸附剂用量(mg)	检测方法	线性范围	LOD	LOQ	回收率(%)	RSD (%)	参考文献
HLB	固相萃取	60	LC-MS/MS	1.0~100.0 $\mu\text{g/L}$	2.5~10 $\mu\text{g/kg}$	/	63.8~139.7	1.37~39.7	[25]
新型限进介质印迹纳米材料	分散固相萃取	20	HPLC-UV	5.0~200 $\mu\text{g/L}$	1.02~3.15 $\mu\text{g/L}$	3.46~10.52 $\mu\text{g/L}$	80.7~103.5	<5.3	[26]
超交联阴离子交换树脂	固相萃取	60	HPLC-UV	10~2000 ng/g	2.8~5.1 ng/g	9.8~17 ng/g	85.8~117.9	≤ 7.7	[27]
蒙脱石磁性分子印迹聚合物	磁性固相萃取	20	CE-UV	30~1000 $\mu\text{g/L}$	12.9~18.8 $\mu\text{g/L}$	42.8~61.9 $\mu\text{g/L}$	92.7~108.6	1.8~8.6	[28]
无	QuEChERS-分散液液微萃取	/	HPLC-FLD	25~400 $\mu\text{g/kg}$	0.8~5 $\mu\text{g/kg}$	2.5~15 $\mu\text{g/kg}$	69.2~104.8	1.6~6.5	[29]
硝基修饰磁性共价有机框架	磁性固相萃取	6	HPLC-UV	0.5~200 $\mu\text{g/L}$	0.25~0.54 $\mu\text{g/L}$	0.86~1.7 $\mu\text{g/L}$	81.5~90.3	2.4~4.5	[30]
羟基有机网络材料	管尖固相萃取	20	HPLC-FLD	0.4~100 $\mu\text{g/kg}$	0.15~1.2 $\mu\text{g/kg}$	0.5~4 $\mu\text{g/kg}$	89.6~103.5	1.3~5.9	本方法

表 5 牛奶样品中三种抗生素的测定结果

Table 5 Determination results of three antibiotics in milk samples

牛奶样品	氧氟沙星 ($\mu\text{g/kg}$)	环丙沙星 ($\mu\text{g/kg}$)	恩诺沙星 ($\mu\text{g/kg}$)
1	<LOQ	n.d. ^{a)}	2.20
2	4.80	n.d.	4.43
3	6.02	n.d.	n.d.
4	7.31	n.d.	<LOQ
5	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	2.34
7	n.d.	n.d.	3.12
8	n.d.	n.d.	n.d.
9	n.d.	n.d.	n.d.
10	n.d.	n.d.	n.d.
11	n.d.	n.d.	2.38
12	n.d.	n.d.	2.16
13	n.d.	n.d.	2.31
14	n.d.	n.d.	<LOQ
15	<LOQ	n.d.	n.d.
16	n.d.	n.d.	<LOQ

a) n.d.表示未检出

诺沙星又名乙基环丙沙星, 乙基的引入增加了疏水官能团。同时, 实验也证实了材料对恩诺沙星的吸附大于环丙沙星, 证明了疏水性也是羟基网络材料对氟喹诺酮类抗生素吸附的重要机理。

4 结论

本文通过室温合成新型羟基有机网络材料, 并将该材料应用于牛奶中氟喹诺酮类抗生素的管尖SPE样品前处理中。由于 π - π 作用、氢键作用和疏水作用, 该材料能够有效吸附牛奶基质中的痕量氟喹诺酮类抗生素。结合HPLC-FLD对管尖SPE条件进行优化, 实现基质的

图 6 羟基有机网络材料的动态吸附性能的测定. (a) 单种抗生素上样的漏出率; (b) 混合抗生素上样的漏出率(网络版彩图)

Figure 6 Determination of dynamic adsorption properties of hydroxyl organic network material. (a) The leakage rate per milliliter for single antibiotic; (b) the leakage rate per milliliter for mixed antibiotic (color online).

净化和抗生素的高效洗脱, 建立了基于羟基有机网络材料的牛奶中氟喹诺酮类抗生素的管尖SPE新方法。该方法具有较低的检出限和定量限、较高的回收率和精密度等优点, 可以应用于牛奶中氟喹诺酮类抗生素的检测, 为牛奶中兽药残留的检测提供了新方法, 扩展了有机网络材料在复杂基质中的应用。

参考文献

- 1 Heidari S, Haghighi M, Shabani M. *J Clean Prod*, 2020, 259: 120679
- 2 Jian N, Zhao M, Liang S, Cao J, Wang C, Xu Q, Li J. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 6892–6901
- 3 Tian H, Liu T, Mu G, Chen F, He M, You S, Yang M, Li Y, Zhang F. *Talanta*, 2020, 219: 121282
- 4 Zhang H, Kou W, Bibi A, Jia Q, Su R, Chen H, Huang K. *Sci Rep*, 2017, 7: 14714–14724
- 5 Ministry of Agriculture of China. Regulation No. 235 of Ministry of Agriculture, People's Republic of China (in Chinese). 2002 [中国农业部. 中

华人民共和国农业部公告第235号. 2002]

- 6 Pang GF. *Analytical Technology for Multi-Classes of Veterinary Drug Residues* (in Chinese). Beijing: The Science Publishing Company, 2016 [庞国芳. 兽药多组分残留分析技术. 北京: 科学出版社, 2016]
- 7 Wang GN, Yang K, Liu HZ, Feng MX, Wang JP. *Anal Methods*, 2016, 8: 5511–5518
- 8 He X, Wang GN, Yang K, Liu HZ, Wu XJ, Wang JP. *Food Chem*, 2017, 221: 1226–1231
- 9 Saxena SK, Rangasamy R, Krishnan AA, Singh DP, Uke SP, Malekadi PK, Sengar AS, Mohamed DP, Gupta A. *Food Chem*, 2018, 260: 336–343
- 10 Chen J, Ying GG, Deng WJ. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 7569–7586
- 11 Yuan Y, Wang M, Jia N, Zhai C, Han Y, Yan H. *J Chromatogr A*, 2019, 1600: 73–79
- 12 Aqda TG, Behkami S, Raoofi M, Bagheri H. *J Chromatogr A*, 2019, 1591: 7–14
- 13 Kang N, Park JH, Jin M, Park N, Lee SM, Kim HJ, Kim JM, Son SU. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 19115–19118
- 14 Cui YY, Ren HB, Yang CX, Yan XP. *Chem Eng J*, 2019, 373: 606–615
- 15 Yoo J, Park N, Park JH, Park JH, Kang S, Lee SM, Kim HJ, Jo H, Park JG, Son SU. *ACS Catal*, 2015, 5: 350–355
- 16 Jang JY, Duong HTT, Lee SM, Kim HJ, Ko YJ, Jeong JH, Lee DS, Thambi T, Son SU. *Chem Commun*, 2018, 54: 3652–3655
- 17 Lim B, Jin J, Yoo J, Han SY, Kim K, Kang S, Park N, Lee SM, Kim HJ, Son SU. *Chem Commun*, 2014, 50: 7723–7726
- 18 Kang CW, Choi J, Ko YJ, Lee SM, Kim HJ, Kim JP, Son SU. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 36936–36943
- 19 Cui YY, Ren HB, Yang CX, Yan XP. *Chem Eng J*, 2019, 368: 589–597
- 20 Chun J, Kang S, Park N, Park EJ, Jin X, Kim KD, Seo HO, Lee SM, Kim HJ, Kwon WH, Park YK, Kim JM, Kim YD, Son SU. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 6786–6789
- 21 Liu Y, Cui Y, Zhang C, Du J, Wang S, Bai Y, Liang Z, Song X. *Chem Eur J*, 2018, 24: 7480–7488
- 22 Du ZD, Cui YY, Yang CX, Yan XP. *Talanta*, 2020, 206: 120179
- 23 Du ZD, Cui YY, Yang CX. *J Chromatogr A*, 2020, 1616: 460791
- 24 Cui YY, Yang CX, Yan XP. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 4954–4961
- 25 Wang CP, Qin Y, Hou BB, Lei T, Yu CH, Ge Y. *Food Mach*, 2019, 35: 74–83 (in Chinese) [王承平, 秦宇, 侯蓓蓓, 雷涛, 虞成华, 葛宇. 食品与机械, 2019, 35: 74–83]
- 26 Li J, Zhou Y, Sun Z, Cai T, Wang X, Zhao S, Liu H, Gong B. *J Chromatogr A*, 2020, 1626: 461364
- 27 Liang X, Hu P, Zhang H, Tan W. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2019, 166: 379–386
- 28 Wang H, Liu Y, Wei S, Yao S, Zhang J, Huang H. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408: 589–598
- 29 Karami-Osboo R, Shojaei MH, Miri R, Kobarfard F, Javidnia K. *Anal Methods*, 2014, 6: 5632–5638
- 30 Wu H, Guan SP, Yang L, Li DR. *Chinese J Anal Lab*, 2021, doi: 10.1395/j.cnki.issn1000-0720.2021.012301 (in Chinese) [吴昊, 关舒萍, 杨柳, 李德蓉. 分析实验室, 2021, doi: 10.1395/j.cnki.issn1000-0720.2021.012301]
- 31 Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard—Maximum residue limits for veterinary drugs in foods (in Chinese). China National Standard, GB31650-2019. 2019-09-06 [中华人民共和国农业农村部, 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量. 中华人民共和国国家标准, GB31650-2019. 2019-09-06]

Application of the novel organic network material for the detection of fluoroquinolone antibiotics in milk

Zhe Zhao^{1,2}, Jiayu Zhang¹, Zhendong Yu¹, Shuxuan Liang^{1*}

¹ College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China

² College of Chemistry and Chemical Engineering, Xingtai University, Xingtai 054001, China

*Corresponding author (email: liangsx168@126.com)

Abstract: The residues of fluoroquinolone antibiotics in milk increase the risk of dietary exposure. The development of detection technology is an important guarantee of food safety. In this work, 1,3,5-triacetylbenzene and 2,4,6-triiodophenol were selected as monomers to synthesize new organic network materials based on Sonogashira coupling reaction under moderate condition of 30 °C. Morphology, structure and hydrophobicity of the prepared material were characterized. Due to the π - π , hydrogen bonding and hydrophobic interaction, fluoroquinolone antibiotics in milk can be absorbed efficiently on the material. As an adsorbent of solid phase extraction (SPE), the pipette-tip SPE conditions were optimized combined with high performance liquid chromatography coupled with fluorescence detector, and the novel method for the detection of fluoroquinolone antibiotics in milk was established. The linear range was 0.4–100 $\mu\text{g/kg}$, and $R^2 \geq 0.9992$ showed the good linear relationship. The detection limit was 0.15–1.2 $\mu\text{g/kg}$. The recoveries and relative standard deviations were 89.6%–103.5% and 1.3%–5.9%, respectively. It was suitable for the determination of fluoroquinolone antibiotics in milk samples.

Keywords: hydroxyl organic network, pipette-tip solid phase extraction, quinolone antibiotics, high performance liquid chromatography with fluorescence detector, milk

doi: [10.1360/SSC-2021-0131](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0131)