

氟化共价有机聚合物固相微萃取-高效液相色谱 测定水产品中丁香酚类麻醉剂

王兴益^{1,2}, 陈彦龙^{1*}, 李攻科^{1*}

(1. 中山大学化学学院, 广东 广州 510275; 2. 兴义民族师范学院生物与化学学院, 贵州 兴义 562400)

摘要: 氟化共价有机聚合物(F-COP)具有较大的比表面积和吸附容量,对丁香酚类化合物具有特异性吸附。该文以2,3,5,6-四氟对二苯甲醛(TFA)和1,3,5-三(4-氨基苯基)苯(TAPB)为单体,三氟甲磺酸铈($\text{Sc}(\text{OTf})_3$)为催化剂在室温下快速合成F-COP,并将其作为固相微萃取(SPME)吸附剂,结合高效液相色谱-紫外检测法(HPLC-UV),建立了测定水产品中丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚麻醉剂的分析方法。通过傅里叶红外光谱、X射线衍射、 N_2 吸附-解吸等温线和扫描电子显微镜等手段对F-COP材料进行表征。考察了萃取时间、搅拌速度、解吸溶剂及解吸时间对丁香酚类麻醉剂萃取量的影响,在萃取时间为30 min、搅拌速度为700 r/min、解吸溶剂为乙腈、解吸时间为10 min时,丁香酚类麻醉剂获得了最佳的萃取效果。在Diamonsil Plus C_{18} -B色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)上,以甲醇-水(60:40, v/v)为流动相,流速0.800 mL/min,进样量20.0 μL ,紫外检测波长280 nm,柱温30 $^\circ\text{C}$ 条件下,丁香酚和乙酸丁香酚酯在10~1 000 $\mu\text{g/L}$,甲基丁香酚在10~1 500 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈现出良好的线性关系,相关系数(r^2)大于0.996 1,方法检出限为2.9~4.5 $\mu\text{g/kg}$ ($S/N=3$),精密度小于8.7%($n=5$)。最后,将该分析方法用于罗非鱼和基围虾样品的3种麻醉剂残留分析中,得到了满意的回收率(76.7%~104%)。结果表明,F-COP-SPME-HPLC-UV可满足水产品中丁香酚类麻醉剂的分析检测。

关键词: 高效液相色谱;固相微萃取;丁香酚;水产品;氟化共价有机聚合物

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2021)09-1012-09

Solid phase microextraction-high performance liquid chromatography of fluorinated covalent organic polymer to determine eugenol anesthetics in aquatic products

WANG Xingyi^{1,2}, CHEN Yanlong^{1*}, LI Gongke^{1*}

(1. School of Chemistry, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. School of Biology and Chemistry, Xingyi Normal University for Nationalities, Xingyi 562400, China)

Abstract: Fluorinated covalent organic polymers (F-COPs) constitute a new class of porous materials with a topological structure, large surface area, and potential superiority over other types of polymers in sample preparation. In this study, a F-COP was rapidly synthesized by a simple Schiff-based reaction using 2,3,5,6-tetrafluoroterephthalaldehyde (TFA) and 1,3,5-tris(4-aminophenyl)benzene (TAPB) as monomers, and by adding scandium (III) triflate ($\text{Sc}(\text{OTf})_3$) as the metal catalyst at room temperature. The prepared F-COP was applied as a coating adsorbent for solid phase microextraction (SPME) to enrich three kinds of eugenol anesthetics in aquatic products. The extraction performance of an enrichment medium is an

收稿日期:2021-06-15

* 通讯联系人.E-mail:cesgkl@mail.sysu.edu.cn(李攻科);E-mail:chenyl8909@163.com(陈彦龙).

基金项目:广东省重点领域研发计划食品重点专项(2019B020211001);国家重点研发计划课题(2019YFC1606101);国家自然科学基金项目(21976213);贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合KY字[2020]216).

Foundation item: Research and Development Plan for Key Areas of Food Safety in Guangdong Province of China (No. 2019B020211001); National Key Research and Development Program of China (No. 2019YFC1606101); National Natural Science Foundation of China (No. 21976213); the Science and Technology for Youth Talent Growth Project of the Guizhou Provincial Education Department (No. KY[2020]216).

important factor for practical application in real analytical projects. This F-COP adsorbent with rich π -stacking electrons contained abundant phenyl rings and imine ($-C=N$) groups throughout the molecular framework. The adsorption mechanism was explored and discussed based on the π - π affinity and hydrogen bonding interaction, which contributed to its strong recognition affinity to targets. The F-COP was characterized by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), nitrogen adsorption-desorption isotherms, and scanning electron microscopy (SEM). The results indicated that the novel F-COP-SPME bar exhibited a rough and porous surface structure, good preparation reproducibility, and high stability. High performance liquid chromatography (HPLC) was performed with an ultraviolet-visible (UV-vis) wavelength detector. A Diamonsil plus C18 column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) was used as the analytical column. The mobile phase comprised 60% methanol and 40% ultrapure water, and was flowed at 0.800 mL/min. The injected volume of the sample was 20.0 μ L. The column temperature was maintained at 30 $^{\circ}$ C and the detection wavelength was set to 280 nm. Further, the SPME conditions (including extraction time, stirring rate, desorption solvent, and desorption time) that influenced the extraction efficiencies of the eugenol anesthetics were investigated in detail. Thus, the optimized F-COP-SPME bar conditions were established as follows: extraction time: 30 min; stirring rate: 700 r/min; desorption solvent: acetonitrile; desorption time: 10 min. By combining F-COP-based SPME with HPLC-UV analysis, an effective method was developed for the extraction and determination of eugenol, eugenyl acetate, and methyl eugenol residues in aquatic products. The method demonstrated good linearity in the range of 10–1 000 μ g/L for eugenol and eugenyl acetate, and 10–1 500 μ g/L for methyl eugenol, with correlation coefficients (r^2) greater than 0.996 1, low limits of detection (2.9–4.5 μ g/kg, $S/N=3$), and excellent precision (relative standard deviations lower than 8.7%, $n=5$). Finally, the method was applied for the effective extraction of three kinds of eugenol anesthetics from tilapia and shrimp samples. The obtained recoveries were in the range of 76.7%–98.7% and 80.3%–104% with relative standard deviations of 8.5%–11.8% and 8.6%–12.4% ($n=5$), respectively. These results demonstrated that the F-COP is promising for use as an adsorbent in SPME for the determination of eugenol anesthetics in aquatic products. The developed method was suitable for the qualitative and quantitative determination of three kinds of eugenol anesthetics in aquatic products, yielding a satisfactory purification effect and sensitivity.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); solid phase microextraction (SPME); eugenol; aquatic products; fluorinated covalent organic polymer (F-COP)

丁香酚作为一种渔用麻醉剂,在水产品长途运输中,可降低呼吸和代谢强度,减少碰撞,降低其死亡率而被广泛使用^[1]。但有研究表明,高剂量的丁香酚会引起心律失常、肾脏损伤、消化系统等问题,对人类健康造成潜在危害^[2],因此日本食品安全法

规定丁香酚在水产品体内的最大残留量为 50 μ g/kg^[3],但我国还未对其使用和残留量制定相关法规,针对其在水产品中的痕量残留检测的文献报道较少。目前,丁香酚类麻醉剂常用的检测方法有气相色谱-质谱(GC-MS)^[4-7]、高效液相色谱-质谱

引用本文:王兴益,陈彦龙,李攻科. 氟化共价有机聚合物固相微萃取-高效液相色谱测定水产品中丁香酚类麻醉剂. 色谱, 2021, 39(9):1012–1020.

WANG Xingyi, CHEN Yanlong, LI Gongke. Solid phase microextraction-high performance liquid chromatography of fluorinated covalent organic polymer to determine eugenol anesthetics in aquatic products. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(9): 1012–1020.

(HPLC-MS)^[8]、高效液相色谱-紫外(HPLC-UV)^[9,10]和电化学(EC)^[11]等,但水产品中丁香酚类麻醉剂含量少,基质复杂,对其进行准确检测存在一定困难。高效的样品前处理方法是获得准确结果的有效方法,现有液液萃取(LLE)^[9]、固相萃取(SPE)^[4]、分散固相萃取(DSPE)^[8]和固相微萃取(SPME)^[7,12]等方法应用在水产品前处理中,其中LLE方法操作简单,但很难消除水产品中色素、脂肪和蛋白质等杂质对测定的干扰,DSPE方法在处理过程中容易造成目标物损失导致回收率偏低,所以SPE和SPME技术在水产品前处理中更为常用,特别是针对水产品中一些挥发性和痕量物质检测时,SPME技术因其高效低耗、绿色环保显示出更大的优势而被广泛使用^[13]。

SPME涂层是决定方法选择性、灵敏度、寿命、重现性和应用价值的关键。SPME涂层的种类有限,其萃取容量或选择性难以满足不同性质复杂样品的痕量分析要求,亟待发展新型SPME涂层^[14]。氟化共价有机聚合物(fluorinated covalent organic polymer, F-COP)是一类具有拓扑结构的新型多孔聚合材料,主要由轻质原子通过较强的共价键相互连接而成,具有物理化学性质稳定、吸附容量高、孔结构和尺寸可控等特点,而且F-COP结构中含有氟官能团,可以与酚羟基之间形成氢键相互作用,从而实现目标物的特异性识别与吸附,因此F-COP吸附剂在丁香酚类化合物的富集与分析中有很大的应用潜力^[15-17]。

本文以三氟甲磺酸铈为催化剂,在室温下合成一种F-COP材料,并采用黏合法在石英棒表面制备SPME涂层,结合HPLC-UV建立了测定丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚的分析方法,并将该方法成功应用到罗非鱼和基围虾的分析中,为水产品中丁香酚类麻醉剂的残留检测提供技术支持。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

LC-2010 岛津液相色谱仪(日本岛津); H1850 台式高速离心机(湖南湘仪); DZF-6020 真空干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司); GZX-9146 鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); DF-101S 恒温加热搅拌器(巩义予华仪器有限责任公司); KQ-300DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Nicolet Magna 750 傅里叶变换红外

光谱仪(美国 Nicolet); Gemini SEM 500 场发射扫描电子显微镜(德国 Zeiss); D8 Advance X 射线衍射仪(德国 Bruker); ASAP 2020 全自动气体吸附仪(美国 Micromeritics)。

2,3,5,6-四氟对二苯甲醛(TFA, 纯度 98%)、1,3,5-三(4-氨基苯基)苯(TAPB, 纯度 97%)、三氟甲磺酸铈(Sc(OTf)₃, 纯度 99%)(毕得医药); 丁香酚(纯度 98%)、乙酸丁香酚酯(纯度 98%)、甲基丁香酚(纯度 98%)的标准品、1,4-二氧六环(无水级, 纯度 99.5%)(北京百灵网科技有限公司); 1,3,5-三甲苯(无水级, 纯度 97%)(阿拉丁试剂(上海)有限公司); 聚丙烯腈(PAN, 平均相对分子质量 150 000)(分析纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司); *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、氢氧化钠、盐酸、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 甲醇、乙醇、乙腈和丙酮(色谱纯, Dikma 公司); 石英棒(外径 920 μm, 纯度 99.99%)(富友石英制品厂); 实验中所用超纯水均为 Milli-Q 制备。

1.2 色谱条件

色谱柱: Diamonsil Plus C₁₈-B(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 紫外检测波长: 280 nm; 流动相: 甲醇-水(60:40, v/v); 流速: 0.800 mL/min; 进样量: 20.0 μL; 柱温: 30 ℃。

1.3 标准溶液的配制

准确称取 10.0 mg(精确至 0.2 mg)丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚标准品,用色谱纯甲醇配制成 400 mg/L 的混合标准储备液,于 4 ℃下冷藏保存备用。实验所需不同浓度溶液均用超纯水进行稀释。

1.4 F-COP-SPME 石英棒的制备

1.4.1 F-COP 材料的制备

根据文献^[18,19]报道的合成方法并进行适当修改,制备 F-COP 材料。具体合成方法如下:称取 TAPB(36 mg)和 TFA(31 mg),加入 4 mL 的 1,4-二氧六环-1,3,5-三甲苯(4:1, v/v)混合溶液,超声至完全溶解。在超声条件下缓慢加入 2 mg Sc(OTf)₃催化剂,室温下密封静置反应 10 min,得到黄色固体物质,分别用 1,4-二氧六环和甲醇超声洗涤 3 次(3×10 mL),然后离心分离,获得的材料在 60 ℃真空条件下干燥 12 h 备用。

1.4.2 F-COP-SPME 石英棒的制备

截取 5 cm 石英棒,依次用 1 mol/L 氢氧化钠和

1 mol/L 盐酸溶液各浸泡 5 h,再用超纯水超声清洗后于 100 °C 下烘干备用。采用黏合法制备 F-COP-SPME 石英棒,具体过程如下^[12]: (a) 分别称取 90 mg F-COP 粉末和 90 mg PAN 粉末于 3 mL 玻璃小瓶中,加入 1.5 mL DMF,放入小磁子搅拌,超声分散形成均匀浆液;(b) 将石英棒插入浆液中,再从浆液中缓慢拉出,置于空气中晾干 1 min,再放入 80 °C 烘箱中加热 30 min,重复此操作 2 次;(c) 将涂覆后的石英棒放入 150 °C 烘箱中老化 2 h;(d) 老化后的石英棒涂层分别用 10 mL 丙酮、甲醇和超纯水各超声清洗 10 min;(e) 用刀片小心刮去多余涂层,保留涂层的长度为 2.0 cm,最终得到 SPME 石英棒。F-COP-SPME 石英棒每次使用前用 10 mL 甲醇和 10 mL 超纯水各清洗 10 min 后再进行萃取。

1.5 样品前处理

鲜活罗非鱼和基围虾购于广州当地水产品市场,将其洗净去除鱼鳞、虾皮和内脏,然后用组织匀浆机绞碎样品,放入 -20 °C 下保存待分析。称取 2.00 g 样品放入 50 mL 离心管中,加入 5 mL 乙腈和 5.00 g 硫酸钠后,依次涡旋振荡和超声各 10 min,再以 5 000 r/min 速度离心 10 min,移取上层清液至另一支离心管中,残渣按上述步骤重复提取一次,合并两次上清液,加入 5 mL 正己烷脱脂,涡旋振荡 10 min,静置 10 min,去除上层正己烷相,将剩余溶液在室温下氮气吹干,加 3.00 mL 超纯水重溶,得到样品溶液。

1.6 F-COP-SPME 萃取过程

将 3.00 mL 样品溶液置于 4 mL 带密封垫的样品瓶中,插入制备的 F-COP-SPME 石英棒,涂层需全部浸入样品溶液中,室温下搅拌萃取(700 r/min) 30 min。然后将石英棒立即放入加有 500 μ L 乙腈解吸液的小瓶中,超声解吸 10 min,解吸液经 0.45 μ m 滤膜过滤后待 HPLC-UV 分析。F-COP-SPME 石英棒每次使用后,用 10 mL 甲醇和 10 mL 超纯水各清洗 3 次后待下次使用。

1.7 模拟计算

通过 Gaussian 09 和 Discovery Studio 软件,在密度泛函理论方法优化结构的基础上,计算丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚与所制备 F-COP 材料间的吸附能和电子云分布情况^[20]。

2 结果与讨论

2.1 F-COP-SPME 石英棒的设计与制备

SPME 涂层的制备方法主要有:物理沉积法^[17]、溶胶-凝胶法^[21]、化学键合法^[22]、电化学法^[23]、原位生长^[24]和黏合法^[12,25]等。其中,黏合法具有更好的通用性,适用于制备不同类型材料的 SPME 涂层。PAN 作为一种黏合剂,除具有较好的生物相容性外,还有较高的化学和机械稳定性,适用于生物样品中活性物质的 SPME^[12,25]。F-COP 结构中的 F 可以与丁香酚中的 -OH 基团形成氢键相互作用,所以 F-COP 对丁香酚类化合物具有特异性吸附作用。因此,本文以 F-COP 为吸附材料,以 PAN 为黏合剂制备了性能良好的 F-COP-SPME 石英棒,并将该石英棒用于水产品中丁香酚类麻醉剂的分析检测。制备及其应用过程见图 1。

2.2 F-COP-SPME 石英棒结构性能表征

通过傅里叶红外光谱(见图 2a)来确定 F-COP 的特征官能团。从 F-COP 曲线可以看出,在 1 601 cm^{-1} 处存在较强吸收峰,为席夫碱反应生成的 F-COP 骨架中 C=N 的特征伸缩振动峰^[26],从 TAPB 曲线中能找到 N-H (3 433、3 351、3 209 cm^{-1}) 和 C-N (1 279 cm^{-1}) 的伸缩振动峰;从 TFA 曲线中很明显地看到 1 704 cm^{-1} 的 C=O 的特征吸收峰,1 485 cm^{-1} 的 C-C 和 1 297 cm^{-1} 的 C-F 伸展振动峰。这些结果表明通过 TAPB 与 TFA 的缩合反应成功合成了 F-COP 材料。

通过 X 射线衍射方法探究了 F-COP 的晶型结构。从图 2b 可以看出,F-COP 的 X 射线衍射图中有一个宽反射峰,说明合成的 F-COP 是非晶态聚合物。

F-COP 材料的 N_2 吸附-解吸等温线如图 2c 所示,根据 IUPAC 的分类标准,属于典型的 IV 型,表明 F-COP 具有介孔特性,在低压段 N_2 吸附量很快上升至较高值,说明材料中还存在微孔结构,这与孔径分布曲线(如图 2c 的内插图)显示的 F-COP 材料的平均孔径为 3.69 nm 的结果相一致。采用非局部密度泛函理论计算得到 F-COP 材料的比表面积和孔体积分别为 35 m^2/g 和 0.12 cm^3/g 。

通过扫描电镜对 F-COP-SPME 石英棒表面形貌进行表征。如图 2d 可见,石英棒表面粗糙、多孔,这种结构能增加涂层与样品之间的接触面积,提高样品的萃取容量。此外,从 F-COP-SPME 石英棒的横截面(图 2e 和 f)看出,涂层紧密地涂覆在石英表面上,厚度约为 50 μm ,说明制备的石英棒牢固,可以多次重复使用。

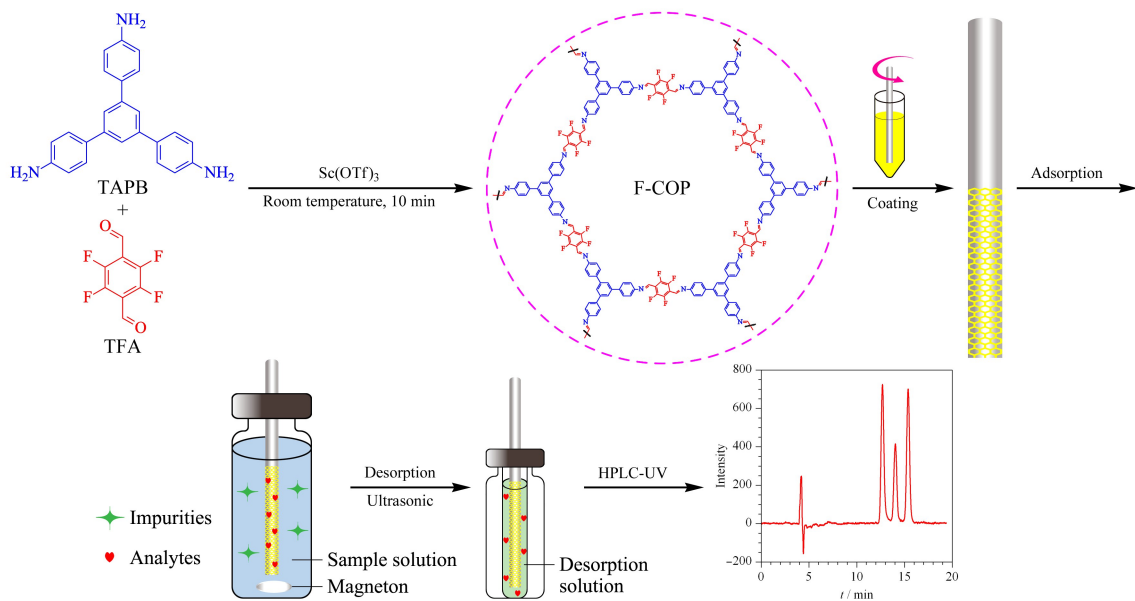


图 1 氟化共价有机聚合物固相微石英棒的制备及其应用

Fig. 1 Preparation and application of the F-COP-SPME bar

TAPB: 1,3,5-tris(4-aminophenyl) benzene; TFA: 2,3,5,6-tetrafluoroterephthalaldehyde; $\text{Sc}(\text{OTf})_3$: scandium (III) triflate; F-COP: fluorinated covalent organic polymer.

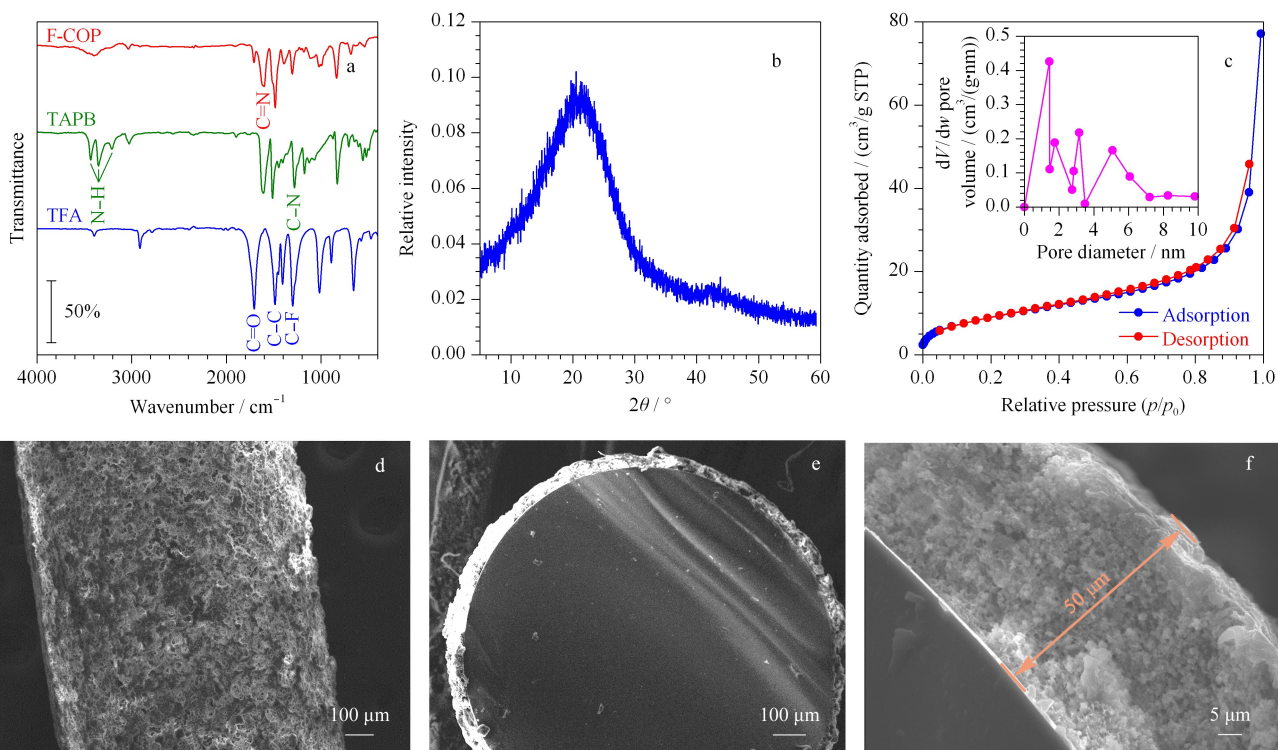
图 2 (a) F-COP、TAPB 和 TFA 的傅里叶红外光谱图, (b) F-COP 的 X 射线衍射图, (c) F-COP 的 N_2 吸附-解吸等温线和孔径分布图, (d-f) F-COP-SPME 石英棒的扫描电镜图

Fig. 2 (a) Fourier transform infrared spectra of the F-COP, TAPB, and TFA, (b) X-ray diffraction pattern of the F-COP, (c) N_2 adsorption-desorption isotherms and pore size distribution of the F-COP, and (d-f) scanning electron micrographs of the F-COP-SPME bar

Magnifications: d. 90 \times ; e. 110 \times ; f. 1500 \times .

2.3 F-COP-SPME 石英棒的重现性和稳定性

分别取同一批次和不同批次制备的 F-COP-SPME 石英棒,对 50 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液(丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚)重复萃取 5 次,考察石英棒萃取性能的重现性。实验结果显示,同一批次和不同批次制备的 F-COP-SPME 石英棒之间,丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚峰面积的相对标准偏差(RSD)分别小于 6.3% 和 8.7%,表明自制 F-COP-SPME 石英棒具有较好的制备重现性。

将 F-COP-SPME 石英棒分别浸泡于水、甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯和四氢呋喃中超过 24 h,均未发现涂层有溶胀和开裂的现象,表明涂层的溶剂耐受性良好。

用同一根 F-COP-SPME 石英棒对 50 $\mu\text{g/L}$ 丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚的混合标准溶液重复萃取 10 次,萃取峰面积的 RSD 小于 4.8%,且涂层也没有明显的溶胀和脱落现象,表明自制 F-COP-SPME 石英棒的稳定性较好。

2.4 萃取条件优化

将制备的 F-COP-SPME 石英棒用于丁香酚类麻醉剂的萃取,考察石英棒的萃取性能。为获得最

佳的萃取量,对影响萃取量的几个重要条件(萃取时间、搅拌速度、解吸溶剂及解吸时间)进行了优化。实验过程中,以萃取体积为 3.00 mL,质量浓度为 500 $\mu\text{g/L}$ 的目标物混合标准溶液考察优化条件,结果见图 3。

2.4.1 萃取时间

SPME 是一个平衡吸附过程,萃取量与萃取时间有着密切关系。实验考察了萃取时间(5 ~ 60 min)对 SPME 萃取量的影响。从图 3a 中可以看出,随着萃取时间的延长,3 种麻醉剂的萃取量在 30 min 时基本达到了吸附平衡。随着萃取时间的进一步增加,萃取量没有明显增加。因此,为了提高样品前处理效率,选择 30 min 作为萃取时间。

2.4.2 搅拌速度

搅拌可以加速分析物从样品溶液向 F-COP-SPME 石英棒的扩散,缩短吸附平衡时间。实验中考察了不同搅拌速度下 3 种麻醉剂的萃取量(图 3b)。实验发现,当搅拌速度达到 700 r/min 时,萃取率最大。继续增加搅拌速度,萃取率变化不明显,逐渐趋于平缓。所以,SPME 萃取中选择搅拌速度为 700 r/min。

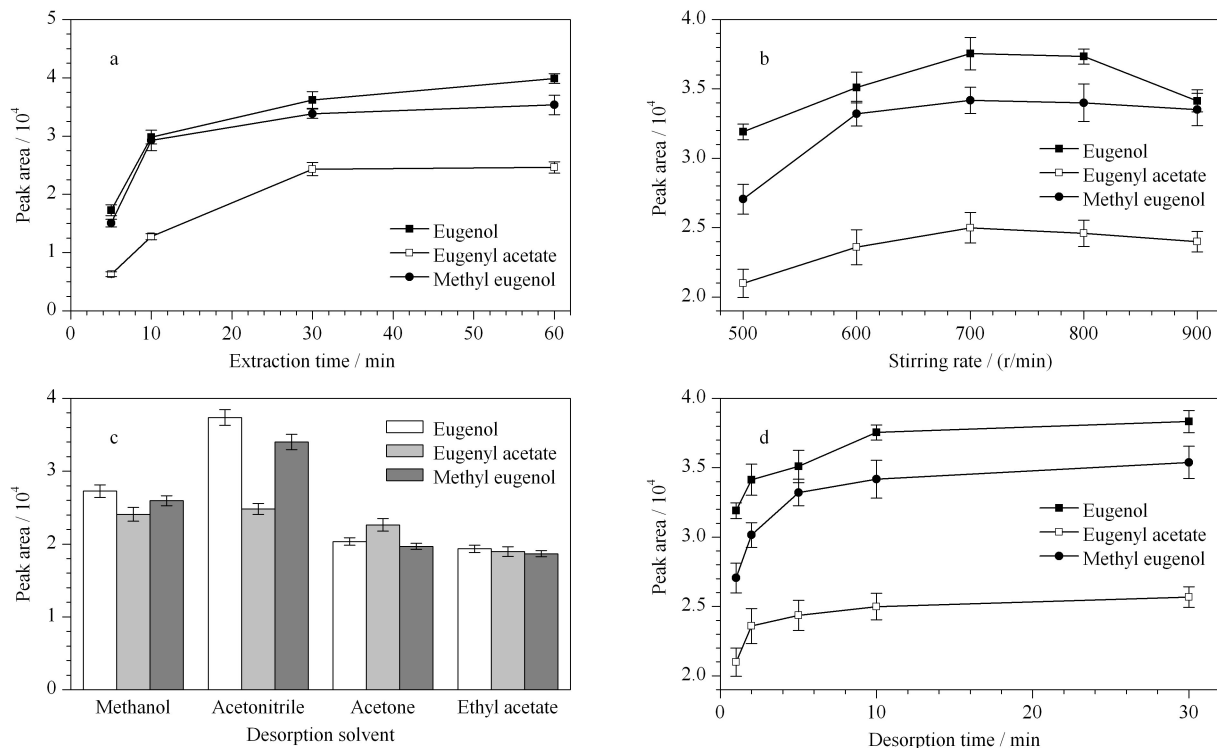


图 3 F-COP-SPME 石英棒萃取条件优化 (n=3)

Fig. 3 Optimization of the F-COP-SPME bar extraction conditions (n=3)

Other conditions; a. stirring rate, 500 r/min; desorption solvent, acetonitrile; desorption time, 10 min. b. extraction time, 30 min; desorption solvent, acetonitrile; desorption time, 10 min. c. extraction time, 30 min; stirring rate, 700 r/min; desorption time, 10 min. d. extraction time, 30 min; stirring rate, 700 r/min; desorption solvent, acetonitrile.

2.4.3 解吸溶剂

解吸溶剂的选择对解吸量有很大影响,良好的解吸溶剂可以最大限度地目标物从石英棒上洗脱下来。实验中,选择了常见的甲醇、乙腈、丙酮和乙酸乙酯溶剂作为解吸溶剂进行研究。结果如图 3c 所示,在相同的萃取和洗脱条件下,乙腈的解吸效果最好。因此,选择乙腈为最佳解吸溶剂。

2.4.4 解吸时间

为了实现 3 种麻醉剂最大程度的洗脱,实验考察了不同时间段中解吸量的变化,结果如图 3d 所示,3 种麻醉剂的洗脱量在 10 min 基本达到最大值。因此,选择 10 min 为解吸时间。

2.5 吸附机理

F-COP 具有富苯环和共轭双键的高交联结构,可以与丁香酚类化合物分子形成 π - π 堆叠作用。此外,采用分子模拟计算(Gaussian 09),探究了 F-COP 与丁香酚类化合物分子之间的吸附机理^[17,27]。F-COP 结构中的-F 可以与丁香酚类化合物之间形成 F...O-H 氢键,提高目标分子的吸附能力,F-COP 的这些特性使其成为优良的 SPME 介质。分子模拟发现,丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚均

稳定地存在于 F-COP 空腔结构中(见图 4)。从图 4a 可知,丁香酚可以与 F-COP 骨架结构中的 N 和 F 形成氢键,氢键键长分别为 0.191 和 0.232 nm,两种氢键的共同作用,使得 F-COP 与丁香酚之间有较弱的吸附,其吸附能为 49.9 kJ/mol。相比于丁香酚,F-COP 与乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚之间不存在氢键相互作用,因此吸附较弱,其吸附能分别为 17.9 和 19.4 kJ/mol。在此基础上,利用 Discovery Studio 软件模拟计算了 F-COP 与丁香酚类化合物分子之间的电子云分布。从图 4d 和 f 可知,F-COP 与丁香酚和甲基丁香酚之间存在电荷转移,因此主客体分子间吸附较强。从图 4e 可知,F-COP 与乙酸丁香酚酯之间几乎不存在电荷转移,因此主客体分子间吸附较弱。上述的模拟计算结果与实验结果吻合,即 F-COP 与丁香酚之间识别能力最高,甲基丁香酚次之,乙酸丁香酚酯最弱。

2.6 方法的验证

在优化的萃取条件下,探究了 3 种丁香酚类麻醉剂的线性关系、线性范围、相关系数(r^2)及检出限(LOD)等性能参数。结果如表 1 所示,丁香酚和乙酸丁香酚酯在 10~1 000 $\mu\text{g/L}$,甲基丁香酚在 10~

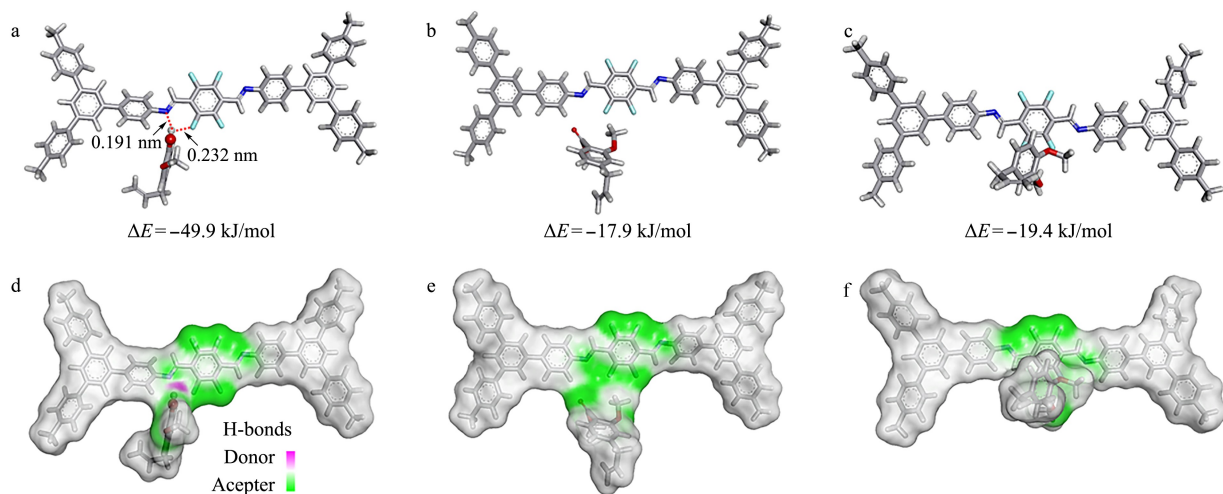


图 4 F-COP 与目标分子间吸附能力及电子云分布理论模拟图

Fig. 4 Theoretical simulation of the adsorption ability and electron cloud distribution of the F-COP toward objects a, d. eugenol; b, e. eugenyl acetate; c, f. methyl eugenol.

表 1 F-COP-SPME-HPLC-UV 检测 3 种丁香酚类麻醉剂的方法性能参数

Table 1 Analytical parameters for the detection of three kinds of eugenol anesthetics based on the F-COP-SPME-HPLC-UV

Analyte	Linear equation	Linear range/ ($\mu\text{g/L}$)	Correlation coefficient (r^2)	LOD/ ($\mu\text{g/kg}$)	RSDs/(% ^a)	
					Intra-batch	Inter-batch
Eugenol	$Y = 6.48 \times 10^4 X + 7.6 \times 10^2$	10-1000	0.9974	2.9	4.4	6.7
Eugenyl acetate	$Y = 4.17 \times 10^4 X + 7.7 \times 10^2$	10-1000	0.9961	4.5	6.3	8.7
Methyl eugenol	$Y = 5.77 \times 10^4 X + 9.8 \times 10^2$	10-1500	0.9963	3.3	5.8	7.3

Y: peak area; X: mass concentration, $\mu\text{g/L}$. a). Calculated at the mass concentration level of 50 $\mu\text{g/L}$ ($n=5$).

1 500 $\mu\text{g/L}$ 范围内具有良好的线性关系, r^2 大于 0.996 1。3 种丁香酚类麻醉剂的 LOD ($S/N=3$) 在 2.9~4.5 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 该法的检出限可以满足日本和欧盟等国家对于丁香酚类麻醉剂在水产品体内残留最高限量为 50 $\mu\text{g/kg}$ 的检测要求。

表 2 本方法与文献报道的水产品中丁香酚类麻醉剂检测方法比较
Table 2 Comparison of the developed method with other reported methods for the determination of eugenol anesthetics in aquatic products

Method	Samples	Linear range/ ($\mu\text{g/L}$)	LODs/($\mu\text{g/kg}$)			Ref.
			Eugenol	Eugenyl acetate	Methyl eugenol	
SPE-GC-MS	fish	5-500	0.4	-	0.2	[4]
DSPE-HPLC-MS	shrimp, crab, carp	5-500	1.47	-	-	[8]
LLE-HPLC-UV	tilapia	100-10000	30	-	-	[9]
MISPE-HPLC-UV	grouper, prawn	50-10000	15	-	15	[10]
F-COP-SPME-HPLC-UV	tilapia, shrimp	10-1000	2.9	4.5	3.3	this work

DSPE: dispersive SPE; LLE: liquid-liquid extraction; MISPE: molecularly imprinted solid phase extraction. -: not detected.

2.7 实际样品分析及加标回收率试验

采用所建立的 F-COP-SPME-HPLC-UV 方法对罗非鱼和基围虾样品进行分析检测, 在罗非鱼样品中检测出丁香酚含量为 101 $\mu\text{g/kg}$, 超出了日本和欧盟等国家对于丁香酚类麻醉剂在水产品体内残留限量为 50 $\mu\text{g/kg}$ 的标准。实际样品的相关谱图见图 5。

与文献报道的水产品中丁香酚类麻醉剂的检测方法相比, 本研究建立的方法的检出限较低, 可以满足水产品中丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚 3 种麻醉剂残留的同时检测。几种方法的线性范围和检出限见表 2。

采用在实际样品中加标验证方法的可靠性, 加标水平分别为 50 和 100 $\mu\text{g/kg}$ 。3 种麻醉剂在两种样品中的加标回收率分别为 76.7%~98.7% 和 80.3%~104%, RSD 分别为 8.5%~11.8% 和 8.6%~12.4% (见表 3), 表明所建立方法具有良好的精密度和准确度, 可以满足实际水产品中丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚类麻醉剂残留的分析要求。

表 3 3 种丁香酚类麻醉剂在水产品中的加标回收率及 RSD ($n=5$)
Table 3 Recoveries and RSDs of three kinds of eugenol anesthetics spiked in aquatic products ($n=5$)

Sample	Analyte	Found/ ($\mu\text{g/kg}$)	Spiked levels			
			50 $\mu\text{g/kg}$		100 $\mu\text{g/kg}$	
			Rec./ %	RSD/ %	Rec./ %	RSD/ %
Tilapia	eugenol	101	76.7	10.6	80.1	8.5
	eugenyl acetate	ND	81.2	11.8	98.7	11.2
	methyl eugenol	ND	87.9	11.5	92.4	10.2
Shrimp	eugenol	ND	80.3	9.4	86.6	8.6
	eugenyl acetate	ND	97.7	11.5	104	11.3
	methyl eugenol	ND	98.9	12.4	94.7	10.9

Rec.: recovery. ND: not detected or lower than the LOD.

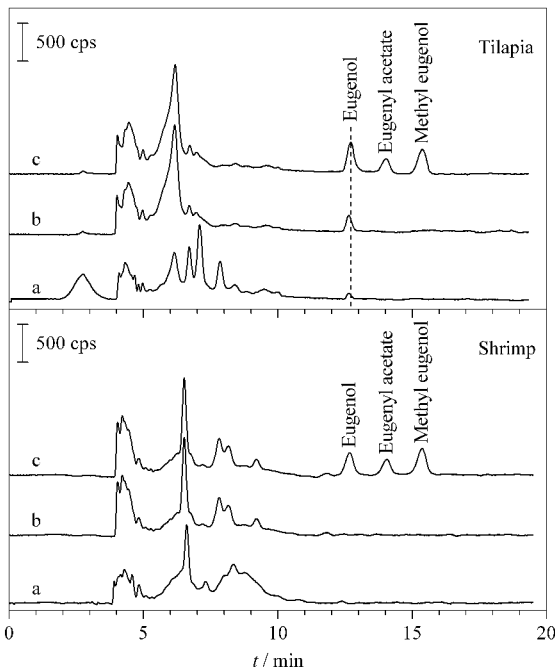


图 5 罗非鱼和基围虾样品的 HPLC-UV 图
Fig. 5 HPLC-UV chromatograms of tilapia and shrimp samples

a. direct injection of sample solution; b. sample solution extracted by the F-COP-SPME bar; c. spiked sample solution (100 $\mu\text{g/kg}$) extracted by the F-COP-SPME bar.

3 结论

本研究制备了新型氟化共价有机聚合物, 将其作为 SPME 石英棒涂层吸附剂, 制备了 F-COP-SPME 石英棒, 结合 HPLC-UV 建立了测定丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚的分析方法, 并将该方法成功地应用到水产品中丁香酚类麻醉剂的残留检测中, 方法操作简单, 线性范围宽, 检出限低, 适用于水产品中丁香酚、乙酸丁香酚酯和甲基丁香酚 3 种麻醉剂残留的同时分析。

参考文献:

- [1] Wang W H, Dong H B, Sun Y X, et al. *J Appl Ichthyol*, 2019, 35(2): 551
- [2] Gündel S D S, Dos Reis T R, Copetti P M, et al. *Ecotox Environ Safe*, 2019, 169(3): 207
- [3] The Japanese Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods (2014) MRLs updated on January. (2020-11-16). <http://www.ffcr.or.jp/zaidan/ffcHOME.Nsf/pages/MRLs-p>
- [4] Ke C L, Liu Q, Li L D, et al. *J Chromatogr B*, 2016, 1031(17): 189
- [5] Li J C, Liu H, Wang C Y, et al. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(24): 6537
- [6] Liang X, Feng T T, Wu J H, et al. *Food Anal Method*, 2018, 11(3): 790
- [7] Huang S Y, Xu J Q, Wu J Y, et al. *Talanta*, 2017, 168(6): 263
- [8] Sun P, Gao Y L, Lian Y F. *Food Anal Method*, 2017, 10(10): 3217
- [9] Huang W, Xu J L, Liu J F, et al. *Journal of Food Safety and Quality*, 2018, 9(1): 103
黄武, 徐金龙, 刘建芳, 等. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 103
- [10] He H J, Huang H, Gao P, et al. *Food and Machinery*, 2016, 32(11): 39
何洪健, 黄和, 高平, 等. 食品与机械, 2016, 32(11): 39
- [11] Fadillah G, Wicaksono W P, Fatimah I, et al. *Microchem J*, 2020, 159(4): 105353
- [12] Tang Y T, Xu J Q, Ouyang G F, et al. *Talanta*, 2017, 175(12): 550
- [13] Wang X Y, Chen Y L, Li G K, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2021, 39(1): 34
王兴益, 陈彦龙, 李攻科, 等. 色谱, 2021, 39(1): 34
- [14] Piri-Moghadam H, Alam M N, Pawliszyn J. *Anal Chim Acta*, 2017, 984(23): 42
- [15] Zhang C J, Li G K, Zhang Z M. *J Chromatogr A*, 2015, 1419(41): 1
- [16] Wei T F, Li G K, Zhang Z M. *J Sep Sci*, 2019, 42(4): 888
- [17] Liang R Y, Hu Y L, Li G K. *J Chromatogr A*, 2020, 1618(2): 460867
- [18] Matsumoto M, Valentino L, Stiehl G M, et al. *Chem*, 2018, 4(2): 308
- [19] Matsumoto M, Dasari R R, Ji W, et al. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(14): 4999
- [20] Chen Y L, Yang L, Zhang W F, et al. *J Chromatogr Sci*, 2017, 55(3): 358
- [21] Hu J X, Qian C, Zhang Y C X, et al. *Anal Methods-UK*, 2020, 12(31): 3954
- [22] Feng Z M, Huang C H, Guo Y H, et al. *Anal Chim Acta*, 2019, 1084(44): 43
- [23] Ghaemmaghami M, Yamini Y, Amanzadeh H, et al. *Chem Commun*, 2018, 54(5): 507
- [24] Li Y A, Yang F, Liu Z C, et al. *J Mater Chem A*, 2014, 2(34): 13868
- [25] Mirnaghi F S, Chen Y, Sidisky L M, et al. *Anal Chem*, 2011, 83(15): 6018
- [26] Gao M J, Fu Q F, Wang M, et al. *Anal Chim Acta*, 2019, 1084(44): 21
- [27] Chen Y L, Lu Z C, Li G K, et al. *J Chromatogr A*, 2020, 1626(32): 461341