

基于溶胶-凝胶技术的乐果分子印迹固相微萃取涂层的评价及应用

李 嫔^{1,2}, 张雪娜³, 李秀娟^{1*}

(1. 环境食品学教育部重点实验室 华中农业大学食品科学技术学院, 武汉 430070; 2. 武汉市蔡甸区农产品质量安全检验检测站, 武汉 430100; 3. 青岛京诚检测科技有限公司, 青岛 266500)

摘要: **目的** 对溶胶-凝胶法制备的乐果分子印迹固相微萃取头进行评价, 并建立分子印迹固相微萃取与气相色谱联用(molecularly imprinted polymer-solid phase microextraction/gas chromatography, MIP-SPME/GC)检测环境中乐果残留量的方法。 **方法** 以非印迹(nonimprinted polymer, NIP)SPME 萃取头为参照, 考查乐果分子印迹(MIP)萃取头的使用性能; 优化 SPME 萃取条件后, 对 MIP-SPME/GC 方法的分析性能进行评价, 最后检测实际样品。 **结果** 该 MIP 萃取头的热稳定性和化学稳定性高, 在水相中萃取选择性好。在优化条件下, 方法在蒸馏水中线性范围为 12.5~2500 $\mu\text{g/L}$, 线性相关系数为 0.9997, 检出限为 97.0 ng/L , 5 次重复实验所得 RSD 为 6.45%。应用本方法测定湖水和自来水中乐果含量, 均未有乐果检出。自来水中方法的加标回收率在 92.0%~114.2%之间, 湖水中加标回收率为 88.9%~102.1%。 **结论** 溶胶-凝胶分子印迹 SPME 萃取头具有很高的操作稳定性, 能够用于水相识别。本方法简便、精密度高、准确度高, 在富水样品的乐果检测中具有明显优势。 **关键词:** 溶胶-凝胶; 分子印迹; 固相微萃取; 乐果

Evaluation and application of molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber for detection of dimethoate based on sol-gel technique

LI Zhao^{1,2}, ZHANG Xue-Na³, LI Xiu-Juan^{1*}

(1. Key Laboratory of Environment Correlative Dietology (Ministry of Education), Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Wuhan Caidian District Quality and Safety Monitoring and Controlling Station for Agricultural Products, Wuhan 430100, China; 3. Best Justicial Testing Technology (Qing Dao) Co., Ltd., Qingdao 266500, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate a sol-gel coated molecularly imprinted polymer (MIP) fiber for solid-phase microextraction (SPME) and to establish a method for determination of dimethoate in environmental water by molecularly imprinted polymer-solid phase microextraction coupled with gas chromatography. **Methods** The characteristics of the MIP fiber was evaluated in comparison with the nonimprinted polymer (NIP) fiber. After optimization of extraction parameters, the method was evaluated through determination of dimethoate in tap water and lake water. **Results** At the optimum conditions, the new fiber exhibited desirable thermal stability and chemical durability, and had a good selective extraction ability

基金项目: 国家自然科学基金项目(30901007)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (30901007)

*通讯作者: 李秀娟, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品质量与安全、特色农产品深加工及综合利用。E-mail: lixiujuan@mail.hzau.edu.cn

*Corresponding author: LI Xiu-Juan, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China. E-mail: lixiujuan@mail.hzau.edu.cn

for dimethoate in water sample. The proposed method was linear in the range of 12.5~2500 $\mu\text{g/L}$ with a coefficient of 0.9997. The limit of detection was 97.0 ng/L. The relative standard deviation of 5 replicates was 6.45%. Satisfactory recoveries of 92.0%~114.2% were obtained in tap water and 88.9%~102.1% in lake water.

Conclusion The MIP-SPME fiber obtained has a good stability and performs well in aqueous recognition. This method is simple, reliable, and accurate, and is suitable for determination of dimethoate in water samples.

KEY WORDS: sol-gel; molecularly imprinted polymer; solid phase microextraction; dimethoate

1 引言

固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)因其众多优点在环境^[1]、食品^[2]、化工^[3]和生物^[4]等分析领域中都得到了广泛应用。然而,针对样品成分复杂而且待测物含量低的情况,现有的商品化 SPME 涂层远远不能满足检测需要,除了涂层种类较少以外,主要原因就是涂层缺乏高选择性,在萃取过程中存在着竞争和取代反应,待测物的萃取量容易受样品基体干扰,从而影响方法的灵敏度、精确度和准确度。因而,研制具有高选择性乃至特异性的 SPME 涂层成为众多科学工作者努力的目标。

分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIP)凭借其独特的识别能力成为一种新型的萃取吸附材料。将 MIP 的高选择性与 SPME 技术操作简便、易自动化等特点相结合,可使 SPME 更高效地从复杂样品中分离富集目标分子,清除基体干扰,提高分析方法的灵敏度和准确度^[5,6]。常用的 MIP-SPME 涂层制备方法为共聚法^[7,8],其涂层形貌良好且具有很好的制备重复性,对模板分子及其结构类似物均表现出一定的选择性,但此类涂层聚合条件严格,制备效率较低,且多适用于疏水性有机溶剂中待测物的测定,在水中选择性较差,而绝大多数的实际样品都是富水样品^[9]。因此,寻找高效、具有水相识别能力的涂层制备方法具有十分重要的现实意义。

溶胶-凝胶法是一种制备无机聚合物和有机-无机键合材料的技术,能在有机涂层和无机石英纤维之间形成牢固的化学键。采用该法制得的萃取涂层热稳定性和溶剂稳定性好^[10-12],耐酸碱性强,表面呈多孔结构,传质速率高,分析时间短^[11]。同时,溶胶-凝胶反应条件温和,易于操作,容易制备不同形状的材料(薄膜、纤维、块状和粉末),还可通过调整试剂比例获得不同结构和性能的涂层^[13]。溶胶-凝胶聚合物呈三维网状多孔结构,具有更大的比表面积,有利于模板分子的洗脱,也使分析物更易接近活性位点。目

前已有应用溶胶-凝胶技术制备 MIP-SPME 涂层的报道^[13,14],但是相对于该类涂层材料的优点来说,这些研究还远远不够。

本研究采用溶胶-凝胶法,以乐果为模板分子,聚乙二醇 20M(PEG-20M)为功能单体,制备了乐果分子印迹 SPME 涂层,建立了直接固相微萃取/气相色谱法(direct solid phase microextraction/gas chromatography, DI-SPME/GC)检测水中乐果残留量的方法,测定了湖水和自来水中乐果残留量,获得了令人满意的结果。

2 材料与amp;方法

2.1 仪器、试剂与样品

SP-7890 型气相色谱仪(配置氢火焰离子化检测器, FID)及色谱工作站; CAN 型氮气空气氢气一体机(武汉科林普丰仪器有限公司); DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司); SE-54 毛细管柱(30 m \times 0.32 mm, *i.d.* 0.25 μm , 兰州中科安泰分析科技有限公司)。

甲苯、丙酮、甲醇、氯化钠、无水硫酸钠、PEG-20M(均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 溴化钾(光谱纯, 国药集团化学试剂有限公司), 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 下充分烘干, 于干燥器中保存; 乐果、水胺硫磷标准品(纯度 $>97\%$, 北京和力顺科技有限公司), 用丙酮配制 1.00 mg/mL 的标准储备液备用, 于冰箱 4 $^{\circ}\text{C}$ 存放; 标准工作溶液根据需要取标准储备液用丙酮稀释到所需浓度。久效磷和马拉硫磷(1.00 mg/mL, 1 mL)购自中国计量科学研究院。

实际水样的采集: 饮用水取自实验室自来水, 环境水取自南湖(武汉)。

2.2 实验方法

乐果分子印迹涂层(MIP)和非印迹涂层(NIP)参考文献^[13]制备。涂层厚度约为 60 μm 。

DI-SPME 条件: 在 10 mL 萃取瓶中加入 7 mL 蒸

馏水(或待测水样)和 2.45 g 无水硫酸钠, 添加一定量的标液, 盖紧瓶盖, 插入萃取头, 将萃取头浸入液体中, 在 600 r/min 搅拌速度下, 30 °C 萃取 40 min, 萃取完成后, 于 250 °C 解吸 10 min。所有数据平行测定 3 次取平均值, 3 次测定值的标准偏差以误差棒表示。

GC 条件: 柱头压为 0.1 MPa, 氢气 0.05 MPa; 不分流进样; 汽化室温度 250 °C; 检测器温度 250 °C; 柱室升温程序: 初温 100 °C, 以 10 °C/min 升到 130 °C, 5 °C/min 升到 180 °C, 10 °C/min 升到 250 °C 保持 10 min。

3 结果与分析

3.1 涂层性能评价

3.1.1 化学稳定性和热稳定性

分别将萃取头在水、甲苯、pH=1 的盐酸及 pH=13 的氢氧化钠溶液中浸泡 2 h 后, 萃取乐果及其结构类似物(水胺硫磷的浓度 59.5 $\mu\text{g/mL}$; 马拉硫磷的浓度 11.9 $\mu\text{g/mL}$; 乐果的浓度 357 $\mu\text{g/mL}$; 二嗪农的浓度 23.8 $\mu\text{g/mL}$), 萃取结果如图 1 所示, 其萃取能力无明显改变; 将萃取头分别在 250、270、290、310、330、350 °C 下老化 2 h 后在相同条件下进行萃取操作, 结果如图 2 所示, 其萃取能力没有下降, 说明该涂层具有很好的化学稳定性和热稳定性。主要原因是溶胶-凝胶法制得的涂层结构是稳固的三维网络结构, 有机涂层与石英纤维界面以化学键连接, 稳定性优于以物理吸附作用为主的涂层。

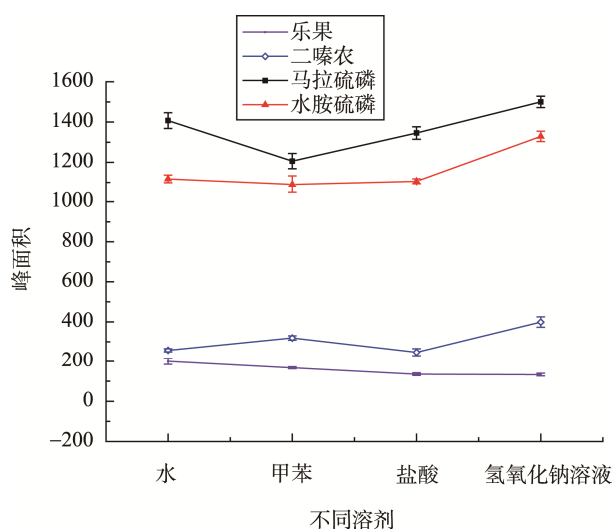


图 1 乐果分子印迹 SPME 涂层溶剂稳定性($n=3$)

Fig. 1 The solvent stability of sol-gel dimethoate-imprinted SPME fiber ($n=3$)

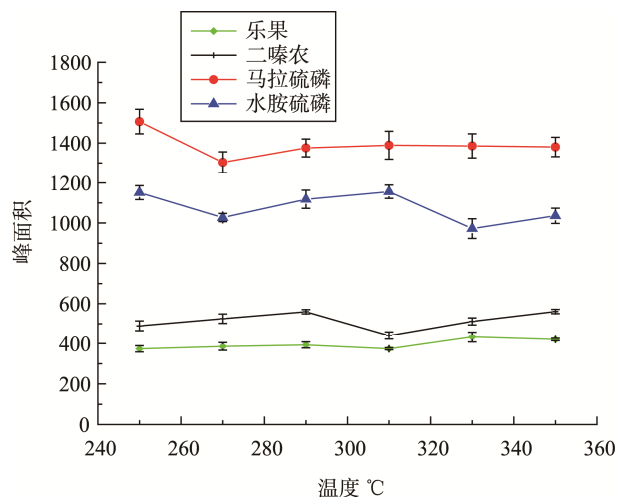


图 2 乐果分子印迹 SPME 涂层热稳定性(萃取条件同图 1) ($n=3$)

Fig. 2 Thermal stability of sol-gel dimethoate imprinted SPME fiber (SPME conditions were the same as in Fig. 1) ($n=3$)

3.1.2 涂层的选择性

图 3 比较了 MIP 和 NIP 两种萃取头在不同浓度乐果水溶液中的萃取效率。在不同加标浓度下, MIP 涂层对乐果的萃取效果都优于相应 NIP 涂层。图 4 是乐果加标浓度为 4.25 $\mu\text{g/mL}$ 时所得色谱图。由于印迹涂层对模板分子具有良好的选择识别性, MIP 涂层对乐果的萃取量明显大于 NIP 涂层, 而萃取的杂质显著少于 NIP 萃取头。以上结果说明, 采用分子印迹的办法能够提高萃取的识别性, 降低基质干扰, 且溶胶-凝胶分子印迹涂层能够用于水相识别。

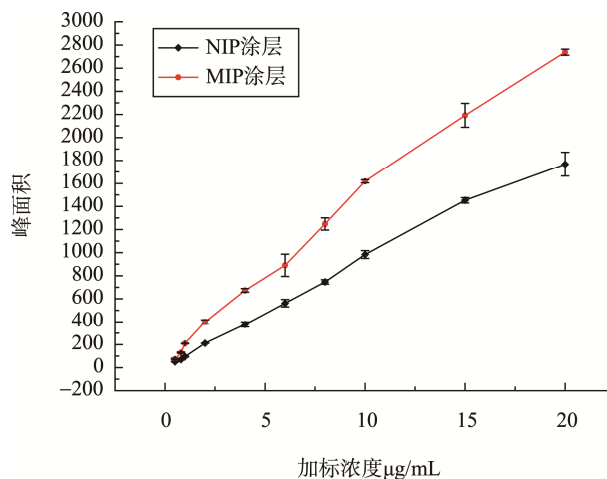


图 3 MIP 和 NIP 萃取头在不同浓度乐果水溶液中的萃取量曲线($n=3$)

Fig. 3 Extracted amount curves of dimethoate under different concentrations using MIP- and NIP-coated SPME fibers ($n=3$)

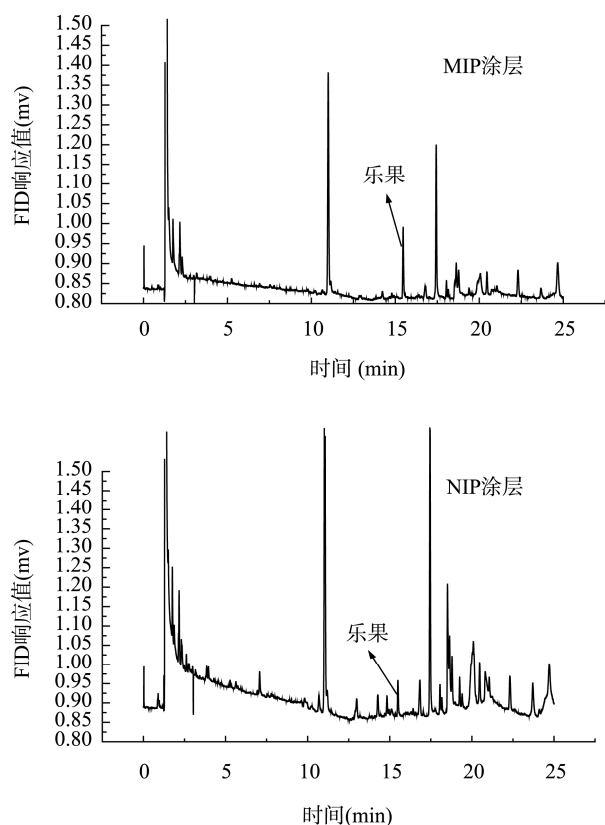


图4 MIP和NIP萃取头分析加标水中乐果的色谱图
Fig. 4 Chromatograms of dimethoate in spiked water using MIP- and NIP-coated SPME fibers

选取久效磷、水胺硫磷、马拉硫磷(结构式如图

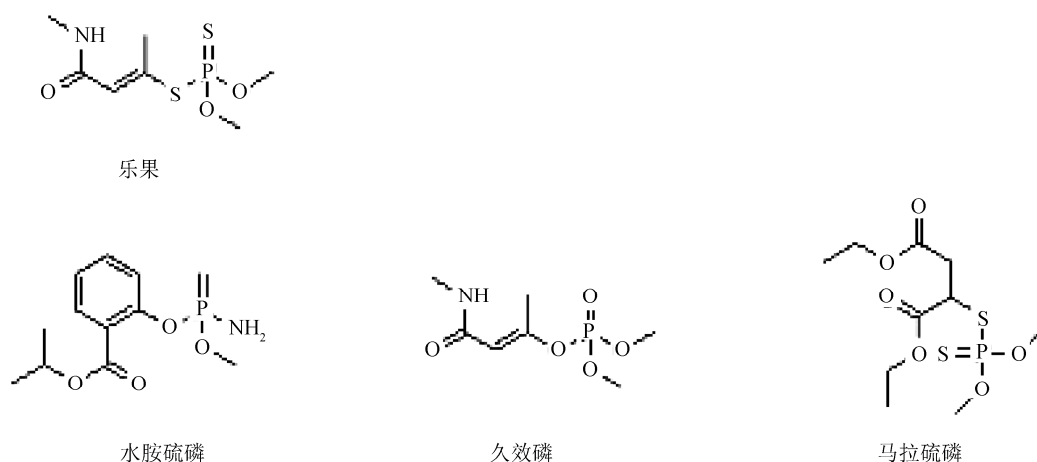


图5 模板分子及参考物质的化学结构式
Fig. 5 The molecular structures of the template and reference compounds

5)探讨涂层选择性。分别用MIP和NIP涂层萃取,设NIP涂层萃取得到的峰面积为1000,所得结果如图6。结果表明,自制印迹涂层对模板分子及其结构类似物质均具有一定的选择性。其中,印迹涂层对乐果选择性最好,其次为水胺硫磷、久效磷、马拉硫磷。这可能是因为水胺硫磷含有可以与功能单体中羟基作用的酯基和氨基,可形成氢键相互作用,萃取选择性较好;久效磷分子结构与乐果类似,因此也有较好的萃取效果;马拉硫磷与乐果分子结构相差较大,选择性较差。

3.2 SPME萃取条件的优化

3.2.1 萃取方式

对比DI-SPME和HS-SPME两种萃取方式,HS-SPME时萃取温度为70℃,DI-SPME时萃取温度为35℃,萃取时间均为30min,由图7可知DI-SPME对乐果响应值明显高于后者,这是因为乐果易溶于水,难以从水相挥发至顶空。因此,选取DI-SPME萃取模式。

3.2.2 萃取温度和萃取时间

乐果浓度为62.5 μg/mL。图8表明,随着温度增加,涂层萃取量呈现先增加后减少的趋势,在30℃萃取量达到最大。在30℃时,考察萃取时间对萃取量的影响,结果见图9。乐果在40min时萃取量达到最大值,而后有所下降。综合考虑,本实验选取萃取温度为30℃,萃取时间为40min。

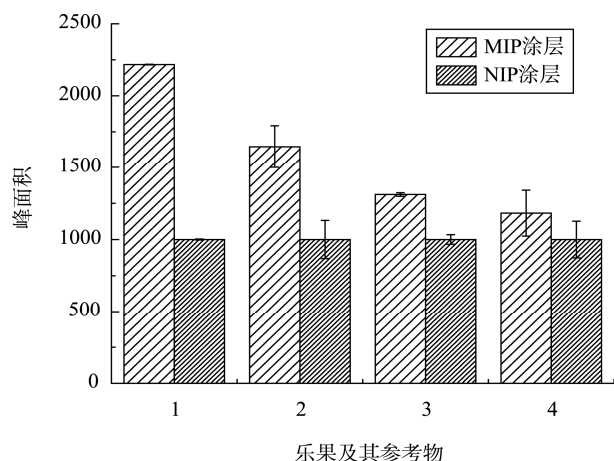


图 6 乐果分子印迹 SPME 涂层和非印迹涂层对乐果及其参考物质的萃取效果比较

Fig. 6 Extraction efficiency of dimethoate and its reference compounds with dimethoate-imprinted and NIP-coated fibers

注: 1. 乐果; 2. 水胺硫磷; 3. 久效磷; 4. 马拉硫磷

Note: 1. dimethoate; 2. isocarbophos; 3. monocrotophos; 4. malathion

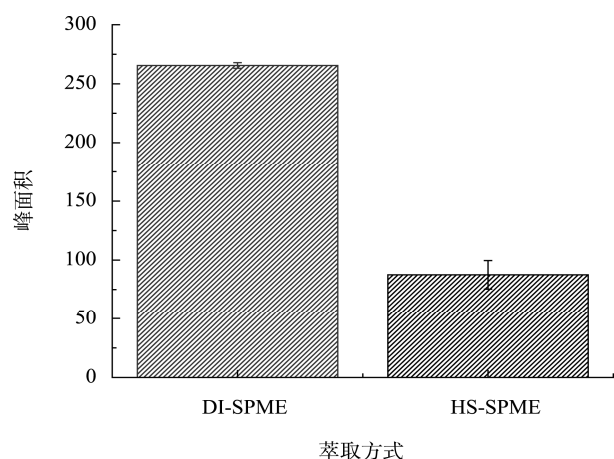


图 7 萃取方式对萃取量的影响

Fig. 7 Effects of extraction modes on the extraction efficiency

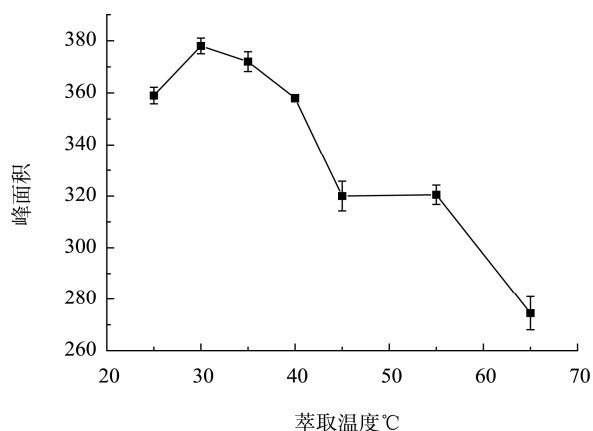


图 8 萃取温度对萃取量的影响

Fig. 8 Effects of extraction temperatures on the extraction efficiency

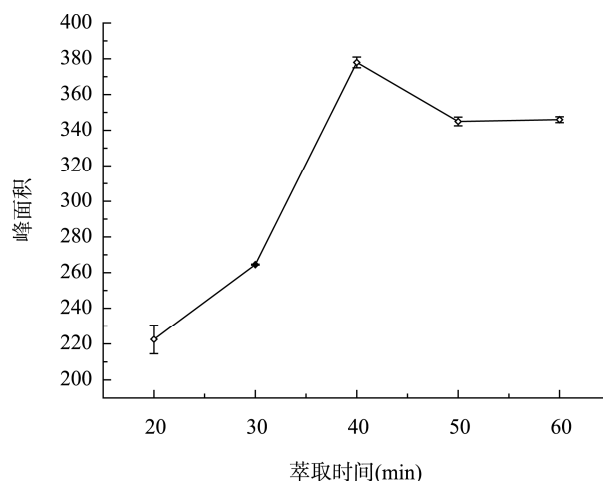


图 9 萃取时间对萃取量的影响

Fig. 9 Effects of extraction time on the extraction efficiency

3.2.3 盐种类及加入量

比较了 Na_2SO_4 和 NaCl 对 DI-SPME 萃取效率的影响。图 10(乐果浓度为 $62.5 \mu\text{g/mL}$)表明, 当盐的加入质量相同时, Na_2SO_4 的作用效果明显优于 NaCl 。图 11(乐果浓度 $357 \mu\text{g/mL}$)显示乐果的萃取量随着 Na_2SO_4 的添加量增加而显著增加, 直至 Na_2SO_4 达到饱和, 此时浓度为 35%。

3.3 方法评价

配制不同浓度的乐果水标液(12.5、62.5、125、625、1250、2500、5000 $\mu\text{g/L}$), 考察 DI-SPME/GC 方法的线性关系。结果表明, 乐果在 12.5~2500 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内有良好的线性关系, 线性相关系数 r^2 为 0.9997。基于三倍信噪比计算乐果的检出限, 为 97.0 ng/L , 定量限为 320 ng/L , 低于国家生活饮用水标准^[15]和集中式生活饮用水地表水源地乐果标准限值 0.08 mg/L ^[16], 满足国标中集中式生活饮用水地表水源地乐果最低检出限 0.0057 mg/L 的要求^[16]。通过分析 12.5 $\mu\text{g/L}$ 乐果水标液考察方法的精密度, 5 次重复试验所得相对标准偏差 RSD 为 6.45%, 表明方法精密度较好。

3.4 实际样品分析

应用本方法对自来水和湖水中乐果进行了检测, 两种样品均未有乐果检出。为考察方法在两种样品中的回收率, 根据环境水和饮用水的卫生标准及有机磷农药残留量的可能性, 分别设置了 3 个加标水平, 结果如表 1 所示。该方法对加标自来水中乐果检测回收率在 92.0%~114.2%之间, 对加标湖水中乐果的回

收率为 88.9%~102.1%，3 次重复实验所得 RSD 低于 12.5%，说明在实际应用中，本方法具有很好的重现性和准确度。

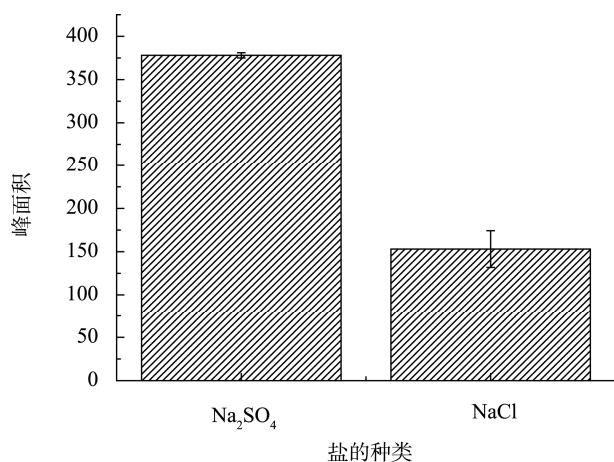


图 10 盐种类对萃取效率的影响

Fig. 10 Effect of different kinds of salts on the extraction efficiency

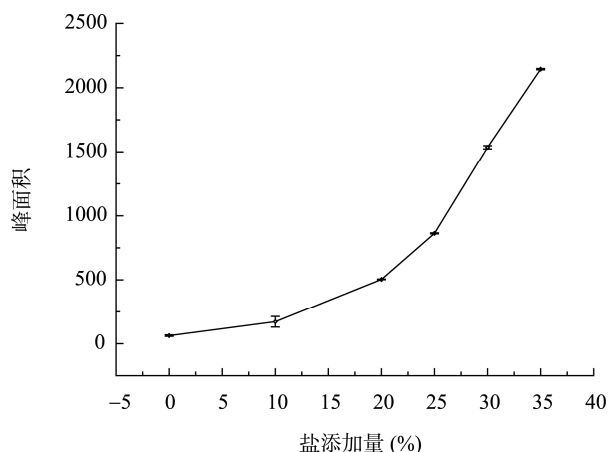


图 11 Na₂SO₄ 加入量对萃取效率的影响

Fig. 11 Effect of salt addition on the extraction efficiency

表 1 加标环境样品中乐果的回收率和精密度

Table 1 Recoveries and RSDs of dimethoate in spiking environmental water at three levels

样品	加标水平(μg/L)	回收率(%)	RSD(%)
自来水	50	114.2	3.8
	100	92.0	12.5
	500	100.1	7.3
南湖水	50	88.9	6.0
	500	102.0	10.6
	1000	99.5	4.5

4 结论

采用溶胶-凝胶技术制备的分子印迹 SPME 涂层材料能够直接用于水相选择性识别。本实验应用乐果分子印迹 SPME 萃取头，采用直接浸没萃取方式与 GC 联用，建立水中乐果检测方法，取得了较好的结果。虽然本方法只针对乐果进行实验，从原理上讲，选取合适的模板分子进行分子印迹，进而实现富水样品中的其他物质的痕量测定也应可行，本实验为下一步研究提供了理论和实验基础。

参考文献

- [1] Maruya KA, Lao WJ, Tsukada D, *et al.* A passive sampler based on solid phase microextraction (SPME) for sediment-associated organic pollutants: Comparing freely-dissolved concentration with bioaccumulation [J]. *Chemosphere*, 2015, 137: 192–197.
- [2] Kudlejova L, Risticvic S. Application of Solid-phase microextraction in food and fragrance analysis [M]. *Handbook of solid phase microextraction*, 2012.
- [3] Amini R, Rouhollahi A, Adibi M, *et al.* A novel reusable ionic liquid chemically bonded fused-silica fiber for headspace solid-phase microextraction/gas chromatography-flame ionization detection of methyl tert-butyl ether in a gasoline sample [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218: 130–136.
- [4] Vuckovic D, Zhang X, Cudjoe E. Solid-phase microextraction in bioanalysis: New devices and directions [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217: 4041–4060.
- [5] Manbohi A, Shamaeli E, Alizadeh N. Nanostructure conducting molecularly imprinted polypyrrole film as a selective sorbent for benzoate ion and its application in spectrophotometric analysis of beverage samples [J]. *Food Chem*, 2014, 155: 186–191.
- [6] Zhao T, Guan X, Tang W, *et al.* Preparation of temperature sensitive molecularly imprinted polymer for solid-phase microextraction coatings on stainless steel fiber to measure ofloxacin [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 853: 668–675.
- [7] Hu YL, Song CY, Li GK. Fiber-in-tube solid-phase microextraction with molecularly imprinted coating for sensitive analysis of antibiotic drugs by high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1263: 21–27.
- [8] Hu XG, Pan JJ, Hu YL, *et al.* Preparation and evaluation of propranolol molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber for trace analysis of β-blockers in urine and plasma samples [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 190–197.
- [9] 黄健祥, 胡玉斐, 潘加亮, 等. 分子印迹样品前处理技术的研究进展 [J]. *中国科学 B 辑: 化学*, 2009, 39(8): 733–746.
Huang JX, Hu YF, Pan JL, *et al.* Development of molecularly

- imprinted sample preparation techniques [J]. *Sci China Series B: Chem*, 2009, 39(8): 733–746.
- [10] Amiri A. Solid-phase microextraction based sol-gel technique [J]. *Trend Anal Chem*, In press, doi:10.1016/j.trac.2015.10.003.
- [11] Li JW, Wang YL, Yan S, *et al.* Molecularly imprinted calixarene fiber for solid-phase microextraction of four organophosphorous pesticides in fruits [J]. *Food Chem*, 2016, 192: 260–267.
- [12] Popiel S, Nawała J, Czuprynski K. Preparation and application of sol-gel acrylate and methacrylate solid-phase microextraction fibres for gas chromatographic analysis of organoarsenic compounds [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 837: 52–63.
- [13] Wang YL, Gao YL, Wang PP *et al.* Sol-gel molecularly imprinted polymer for selective solid phase microextraction of organophosphorous pesticides [J]. *Talanta*, 2013, 115: 920–927.
- [14] Tamayo FG, Turiel E, Martín-Esteban A. Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and solid-phase microextraction: recent developments and future trends [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1152: 32–40.
- [15] GB5749-2006 生活饮用水卫生标准[S].
GB5749-2006 Standard for drinking water quality [S].
- [16] GB3838-2002 地表水环境质量标准[S].
GB3838-2002 Environmental quality standard for surface water [S].

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



李 翌, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测技术。

E-mail: zhaoli5863@hotmail.com



李秀娟, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品质量与安全、特色农产品深加工及综合利用。

E-mail: lixiujuan@mail.hzau.edu.cn