

尼泊金乙酯分子印迹膜电化学传感器的制备

崔福海, 李利军*, 张瑞瑞, 程 昊, 杨兰兰, 崔 越, 李彦青

(广西科技大学生物与化学工程学院, 广西柳州 545006)

摘 要:以邻苯二胺为功能单体, 尼泊金乙酯为模板分子, 通过电化学聚合在玻碳电极表面制备了尼泊金乙酯分子印迹膜, 采用循环伏安法及方波伏安法, 以 $K_3[Fe(CN)_6]$ 为电活性探针, 建立了间接测定尼泊金乙酯的分析方法。实验结果表明, 制备的分子印迹膜电化学传感器对尼泊金乙酯具有较高的选择性和灵敏度, 测定尼泊金乙酯的线性范围为 $2.5 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L, 检出限为 8.61×10^{-8} mol/L。

关键词:分子印迹; 邻苯二胺; 尼泊金乙酯; 循环伏安法

中图分类号:O657.15 **文献标志码:**A **文章编号:**1006-6144(2014)03-365-04

分子印迹技术(Molecular Imprinting Technique, MIT)具有较高的选择性和灵敏度, 受到了人们广泛关注。电化学聚合法制备分子印迹聚合膜具有传质快、膜厚度均匀、膜的厚度可由扫描次数控制等特点^[1]。尼泊金乙酯(对羟基苯甲酸乙酯, 羟苯乙酯, Ethylparaben)具有广谱杀菌作用, 对革兰氏阳性阴性菌、酵母菌和霉菌具有很强的杀菌作用。尼泊金酯是国际上公认的高效食品防腐剂, 美国、欧洲、日本、加拿大等发达国家和地区都允许尼泊金酯和尼泊金酯钠在食品工业中使用。目前, 尼泊金酯已广泛应用于医药、食品、化妆品、饮料等领域。尼泊金酯的测定方法主要有高效液相色谱法^[2]、分光光度法^[3]、气相色谱法^[4]以及毛细管电泳^[5-6]等。

本实验采用循环伏安法^[7], 制备了尼泊金乙酯分子印迹膜电化学传感器, 并对盐酸洛美沙星滴眼液中尼泊金乙酯进行了分析测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CHI660b 电化学分析仪(上海辰华仪器有限公司), 采用三电极体系: 玻碳电极(GCE, $\Phi=2$ mm)为工作电极, 铂片电极为对电极, 饱和甘汞电极为参比电极; Mettler Toldedo Delta 320 型酸度计(瑞士, 梅特勒托利多公司); DL-60D 超声波清洗器(上海之信仪器公司); 电子天平(美国, 奥豪斯上海有限公司)。

尼泊金乙酯(中国药品生物制品检定所)。邻苯二胺(*o*-PD), Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , 甲醇, $K_3[Fe(CN)_6]$ 等试剂均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

1.2 分子印迹膜电极的预处理及制备

将 GCE 依次用 0.3、0.05 μm Al_2O_3 悬浊液在鹿皮上打磨抛光, 用水清洗干净后, 置于硝酸(1+1)、无水乙醇和水中各超声清洗 5 min, 最后用水冲洗干净待用。将预处理好的 GCE 置于 0.5 mol/L 硫酸中, 在 $-0.6 \sim +0.8$ V 电位区间, 以 50 mV/s 的扫描速度扫描 20 圈, 直至循环伏安曲线稳定。将三电极体系置于 0.5 mmol/L 尼泊金乙酯、5 mmol/L 邻苯二胺以及 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲溶液中, 控制 pH 值在 6.0 左右。在 0~0.8 V 电位区间内, 循环伏安扫描 20 圈, 扫描速率为 50 mV/s。最后将电极置于甲醇中浸泡 25 min, 以除去印迹分子尼泊金乙酯, 即得到尼泊金乙酯分子印迹膜电极。非尼泊金乙酯印迹电极的制备方法除不加入

收稿日期: 2013-07-12 修回日期: 2013-10-23

基金项目: 国家自然科学基金(No. 31060219); 广西科学基金(No. 0640029)

* 通讯作者: 李利军, 男, 教授, 主要研究方向: 分析化学、生化过程检测与控制、应用化学。

尼泊金乙酯外,其它步骤均相同。

2 结果与讨论

2.1 分子印迹电化学聚合

图1(a)为含有尼泊金乙酯时,*o*-PD在GCE表面的电聚合循环伏安曲线,图1(b)则表示只有*o*-PD存在时在GCE表面电聚合的循环伏安曲线。从图1(a)和图1(b)两图中可以明显观察到,在第一圈扫描时其曲线在0.3~0.4 V之间存在着不可逆的氧化峰,但是当扫描到第二圈时,该氧化峰消失。说明*o*-PD分子通过电聚合,在GCE表面形成了不导电的聚合膜,该膜阻碍了*o*-PD在GCE表面的氧化还原反应。通过比较图1(a)和图1(b)可以看出,加入和不加入尼泊金乙酯的时候,曲线没有明显变化,说明电聚合过程中尼泊金乙酯在此电位区间内,没有发生化学反应,表明加入尼泊金乙酯并没有影响*o*-PD的电化学聚合。

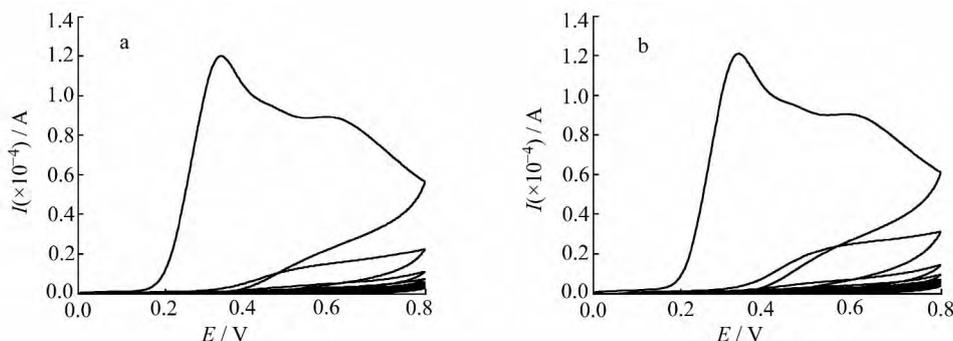


图1 邻苯二胺在磷酸盐缓冲液中有(a)和无(b)尼泊金乙酯的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammograms of *o*-PD with (a) and without (b) ethylparaben in the phosphate buffer (pH=6.0)

2.2 分子印迹膜的性质

图2为不同电极在0.5 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中的循环伏安曲线。将非印迹膜电极经甲醇洗脱后,放入0.5 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中进行循环伏安扫描,结果表明该电极对 $K_3[Fe(CN)_6]$ 几乎没有响应(图2c),这是由于电极表面形成了一层致密的邻苯二胺聚合膜,阻碍了 $K_3[Fe(CN)_6]$ 向电极表面扩散。将印迹膜电极放入甲醇中浸泡25 min后, $K_3[Fe(CN)_6]$ 在该印迹膜电极上的循环伏安曲线的峰电流比在相同条件下处理过的非印迹膜电极显著增大(图2b),但比裸电极有所下降(图2a),说明印迹分子尼泊金乙酯经甲醇洗脱后,在印迹膜中形成对应的“孔穴”,允许 $K_3[Fe(CN)_6]$ 扩散到电极表面,因此电化学信号增强;但电极表面的大部分还是被*o*-PD聚合膜所覆盖,所以其峰电流比裸电极低。

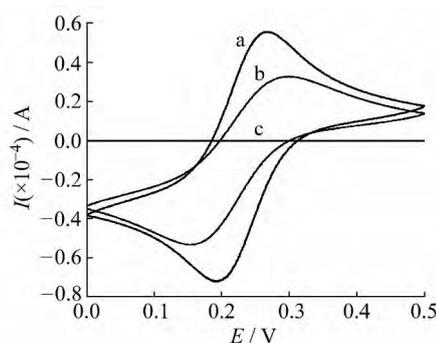


图2 不同电极在5 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中的循环伏安图

Fig. 2 Cyclic voltammograms of different electrodes in 5 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]$ solutions

(a) bare GCE; (b) GCE modified with imprinted film; (c) GCE modified with non-imprinted film.

2.3 模板分子洗脱方法的选择

考察了三种不同的洗脱溶液对模板分子的洗脱效果。将在相同条件下制备的三个印迹膜电极分别置于1:1乙醇溶液、无水乙醇以及甲醇中洗脱25 min。洗脱后,比较三个电极在 $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中的循环伏安曲线,结果表明,在相同的洗脱条件下,甲醇的洗脱效果要明显好于其它两种洗脱液,所以本实验选择甲醇作洗脱液。

2.4 模板分子洗脱时间的选择

洗脱时间对测定结果的影响很大,实验表明随着洗脱时间增加,印迹膜电极在 $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中的峰电流值逐渐增大,当洗脱时间达到25 min时峰电流值达到最大值,所以本实验选择洗脱时间为25 min。

2.5 吸附时间的影响

在含有一定浓度的模板分子溶液中,通过对吸附时间与方波伏安曲线峰电流关系的研究,发现随着吸

附时间的增加,印迹膜电极在 $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中的峰电流逐渐减小,但是当吸附时间大于 20 min 后峰电流不再减小,说明达到了吸附饱和,因此,本实验选择吸附时间为 20 min。

2.6 尼泊金乙酯浓度与 $K_3[Fe(CN)_6]$ 峰电流的关系

在最优条件下,将印迹膜电极浸泡在不同浓度的 $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中,浸泡时间相同,加入不同浓度尼泊金乙酯,记录 $K_3[Fe(CN)_6]$ 峰电流变化。结果表明,随着尼泊金乙酯浓度的增加, $K_3[Fe(CN)_6]$ 峰电流逐渐降低。由于电极经过多次处理后,存在着一定的差异,所以实验用相对峰电流 ΔI 描述峰电流的变化^[8], ΔI 为未加入尼泊金乙酯与加入一定浓度的尼泊金乙酯时 $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液的氧化峰电流之差。 ΔI 与尼泊金乙酯的浓度在 $2.5 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L 的范围内呈现出良好的线性关系,其线性回归方程为: $\Delta I = 0.3464 \times 10^5 c + 8.3921, R^2 = 0.9918$ 。检出限为 8.61×10^{-8} mol/L。

2.7 样品分析

在最佳条件下,对盐酸洛美沙星滴眼液(南京天朗制药有限公司)中尼泊金乙酯的含量进行测定,并进行加入回收试验,每个样品平行测定 3 次,结果见表 1。由表 1 可知,本实验所制备的分子印迹膜电极检测尼泊金乙酯具有较好的重现性和较高的准确度。由本法测得样品中尼泊金乙酯的质量分数为 0.0274%,高效液相色谱法(HPLC)测得的尼泊金乙酯质量分数为 0.0270%。

表 1 尼泊金乙酯的测定结果及回收试验($n=3$)

Table 1 Determination results of ethylparaben and recovery test($n=3$)

Sample	Determined (%)	RSD (%)	Added (10^{-6} mol/L)	Found (10^{-6} mol/L)	Recovery (%)	Average recovery (%)
Eye drops	0.0274	1.8	3.0	3.09	103.0	98.7
			4.0	3.77	94.3	
			5.0	4.79	95.8	
			10.0	10.15	101.5	

2.8 电极的重现性和稳定性

实验表明,多次重复制备尼泊金乙酯分子印迹膜电极,其重现性的误差小于 3%。将制备好的电极放置于 4 °C 的冰箱内 7 d 后,其稳定性依然很好,相对误差在 5% 以内。

2.9 干扰实验

在选定的最佳实验条件下,固定尼泊金乙酯标准品溶液的浓度为 1.0×10^{-5} mol/L,考察了 10 倍的苯甲酸、苯甲酸钠和 5 倍的山梨酸钾、尼泊金甲酯、尼泊金丙酯分别对尼泊金乙酯测定时的影响,结果表明,相对测量误差 $\leq \pm 5\%$ 。

3 结论

以尼泊金乙酯为模板分子,以邻苯二胺为功能单体,采用电化学聚合法,在玻碳电极上成功地制备了尼泊金乙酯分子印迹膜。利用方波伏安法,以铁氰化钾($K_3[Fe(CN)_6]$)为电活性探针,建立了间接测定尼泊金乙酯的电化学分析新方法。该法具有选择性高、检出限低等特点,用于盐酸洛美沙星滴眼液中尼泊金乙酯的分析,结果满意。

参考文献:

- [1] LIU Zhi-hang(刘志航), HUAN Shuang-yan(宦双燕), SHEN Guo-li(沈国励). Chem J Chinese University(高等学校化学学报)[J], 2005, 26(6): 1049.
- [2] NIU Xin(牛欣), LI Lin(李林), ZHAO Jian(赵舰). Food Research and Development(食品研究与开发)[J], 2011, 04: 136.
- [3] ZHOU Qing(周清), LIU Lan(刘岚), ZHANG Zhen-ying(张珍英), WEN Jin-lian(温金莲). Chin J Anal Lab(分析实验室)[J], 2011, 30(7): 67.
- [4] YE Shan(叶姗), NI Yong-nian(倪永年), QIU Ping(邱萍). Jiangxi Chemical Industry(江西化工)[J], 2006, 04: 141.

- [5] LI Li-jun(李利军), CAI Zhuo(蔡卓), LI Si-guang(李斯光). *Chin J Anal Chem(分析化学)*[J], 2008, **09**:1261.
- [6] DU Jian-zhong(杜建中), ZHANG Tian-hui(张天辉), DING Ding(丁玎). *Food Science(食品科学)*[J], 2009, **12**: 183.
- [7] WANG Mao-jun(王茂君), LIU Cheng-lun(刘成伦), XIE Tai-ping(谢太平). *Chemical Research and Application(化学研究与应用)*[J], 2011, **30**(7):888.

A Electrochemical Ethylparaben Sensor Based on Molecular Imprinted Film

CUI Fu-hai, LI Li-jun*, ZHANG Rui-rui, CHENG Hao,
YANG Lan-lan, CUI Yue, LI Yan-qing

(*Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of
Science Technology, Liuzhou 545006*)

Abstract: A electrochemical ethylparaben sensor based on molecular imprinted film was prepared by the electrochemical polymerization of *o*-phenylenediamine with ethylparaben as the template molecule, the sensor had high sensitivity and good selectivity with a linear range of 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-5} mol/L and a detection limit of 8.61×10^{-8} mol/L.

Keywords: Molecular imprinted technique; 1,2-Diaminobenzene; Ethylparaben; Cyclic voltammograms