

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.00559

咪喃分子印迹聚合物的制备及其吸附特性

彭宁 阎凤超 陈磊 黄雪松*

(暨南大学食品科学与工程系, 广州 510632)

摘 要 咪喃是在食品加热过程中形成的潜在致癌物质。本实验以咪喃为模板, 2-甲基咪喃为模拟模板, α -甲基丙烯酸(MAA)为功能单体, 甲基丙烯酸乙二醇酯(EGDMA)为交联剂, 采用非共价法合成分子印迹聚合物(MIP)。优化制备过程, 并研究聚合物的吸附动力学、等温吸附及吸附识别性能。结果表明, MIP 以 2-甲基咪喃作为模拟模板, 模板单体配比为 1:4 时对咪喃的印迹效果最佳, 最大吸收量 $Q_{\text{MIP}} = 69.64 \text{ mg/g}$, 印迹因子 $\alpha = 1.879$ 。此聚合物对 2-甲基咪喃与咪喃具有相似吸附特性, $\alpha = Q_{2\text{-甲基咪喃}}/Q_{\text{咪喃}} = 1.004$ 。固相萃取实验表明, 此 MIP 对速溶咖啡样品中的咪喃具有显著的特异性吸附作用, 可以固相萃取食品饮料中痕量咪喃。

关键词 咪喃; 2-甲基咪喃; 分子印迹聚合物

1 引 言

国际癌症研究机构(IARC)、欧洲食品管理局(ESFA)等研究机构证实咪喃为潜在致癌物质, 剂量效应关系明显。咪喃可引起多种器官功能紊乱, 其主要靶器官是肝脏, 已被归为 2B 类潜在致癌物质^[1]。在 ESFA 等研究机构所测定的 20 大类 977 种热加工食品中, 发现 841 种含有咪喃, 含量在 0.5 ~ 6500 $\mu\text{g/kg}$ 之间。烘烤咖啡豆、儿童食品和汤汁中含量最高, 其平均值分别为 3400, 50 和 32 $\mu\text{g/kg}$ ^[2]。

目前, 检测咪喃的主要方法有气相色谱-质谱法^[3]和顶空气相色谱-质谱法^[4]。因食品中咪喃含量低, 这些方法存在取样条件严格, 仪器设备昂贵等不足而难以普及推广。分子印迹聚合物(MIP)是以待测物质为模板合成的超分子物质, 对待测物具有高度专一性, 可以用于富集待测定的痕量物质。已成功应用于测定痕量沙拉沙星^[5]、四环素^[6]、磺胺嘧啶^[7]等兽药残留, 检出限低至 0.1 ~ 1 $\mu\text{g/kg}$ ^[8]。

MIP 合成过程中常采用与模板结构类似的物质作为模拟模板, 进行虚拟印迹^[9]。本研究根据食品中咪喃含量小、易挥发、难以测定等特点, 选择 2-甲基咪喃作为模拟模板合成富集食品中痕量咪喃的 MIP, 并对此聚合物的吸附特性进行评价。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司), OB0409 紫外可见光分光光度计(上海棱光技术有限公司), 固相萃取柱(WATERS 公司)。

咪喃(国药集团化学试剂有限公司), 2-甲基咪喃(上海晶纯试剂有限公司), α -甲基丙烯酸(MAA, 天津大茂化学试剂厂), 甲基丙烯酸乙二醇酯(EGDMA, 广州双键贸易有限公司), 偶氮异二丁睛(AIBN, 上海试四赫维化工有限公司), 乙腈(色谱纯, DIMA 公司), 乙醚、甲醇、冰醋酸等均为分析纯。速溶咖啡购于当地超市。

2.2 高效液相色谱(HPLC)条件

Diamonsil C_{18} 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(45:55, V/V); 检测波长: 咪喃 210 nm, 2-甲基咪喃 215 nm; 柱温: 28 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL 。

2.3 聚合物的制备

以咪喃为模板、咪喃结构类似物 2-甲基咪喃为模拟模板。根据实验所确定的最佳模板单体比, 同

2009-09-09 收稿; 2009-12-29 接受

本文系国家自然科学基金(No. 30871751)资助项目

* E-mail: thxs@jnu.edu.cn

时不加模板按照此比例合成空白分子印迹聚合物 (NIP), 将 2-甲基咪喃、咪喃分别加入到含有 15 mL 乙腈的锥形烧瓶中, 再加入 MAA, 超声脱气 10 min, 50 °C 水浴预聚合 5 h。加入 20 mmol EGDMA, 0.04905 g AIBN, 20 mL 水, 6 mL 乙醚, 超声脱气 20 min。将三角烧瓶密封后放于摇床中, 60 °C 聚合 24 h, 得到 MIP。NIP 除不加模板分子外制备步骤如上。合成的聚合物取出后去离子水清洗, 50 °C 条件下干燥。研磨过筛, 取 100 ~ 300 μm 颗粒, 以甲醇-冰醋酸 (9:1, V/V) 作为提取剂, 索氏提取 6 h, 聚合物经甲醇冲洗至中性, 50 °C 干燥待用。

2.4 模板去除

称取 3 份 MIP 各 2.0 g, 分别利用超声波处理、磁力搅拌、索氏提取 3 种方法洗脱 1 h。MIP 在处理结束后 50 °C 烘箱内烘干至恒重, 再通过磁力搅拌, 以 HPLC 检测 3 种洗脱液中 2-甲基咪喃的残留量。

2.5 MIP 吸附应用特性

2.5.1 吸附动力学实验 配制 1.407 g/L 咪喃标准溶液, 1.373 g/L 2-甲基咪喃标准溶液。取 2 份 20 mg MIP, 分别加入 10 mL 有盖离心管中, 各加入 5 mL 上述标准液, 定时取样, HPLC 分别测定上清液中咪喃和 2-甲基咪喃含量的变化。

2.5.2 等温吸附实验 配制 27.45 mg/L 至 1.373 g/L 不同浓度的 2-甲基咪喃标准溶液, 分别称取 8 份 30 mg MIP, 8 份 30 mg NIP, 各加入 5 mL 不同浓度标准溶液于 10 mL 有盖离心管中, 以 230 r/min 振摇 24 h。同时配制 28.14 mg/L ~ 1.407 g/L 不同浓度的咪喃标准溶液, 操作步骤同上。HPLC 测定各上清液中 2-甲基咪喃含量。

2.5.3 速溶咖啡中咪喃的 MIP 固相萃取和测定 取废弃固相萃取柱, 去除填料清洗后, 采用湿法装柱装入 800 mg 上述方法制取的 MIP。取 10 g 速溶咖啡溶解于 30 mL 乙腈溶液中, 超声 10 min, 置于冰箱中平衡 2 h。然后取上清液过 MIP 小柱, 先用 4 mL 50% 甲醇水溶液淋洗去杂后, 再用 2 mL 1% 冰醋酸-甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液过 45 μm 滤膜, 供 HPLC 检测。

3 结果与讨论

3.1 模板的选择

由表 1 可以看出: 以模板与单体比例为 1:4 时为例, 2-甲基咪喃为模拟模板的 MIP 与咪喃为模板的 MIP 的最大吸附量 Q_{MIP} 分别为 69.64 和 37.11 mg/g。相比之下, 咪喃作为模板合成的 MIP 对咪喃的吸附量小, 印迹效率低。这主要因为合成 MIP 时, 聚合温度 (60 °C) 远远高于咪喃的沸点 (31.4 °C), 使得咪喃挥发, 难以与功能单体形成印迹结构。而 2-甲基咪喃沸点较高 (65 °C), 且分子结构中只比咪喃分子多 1 个甲基, 具有高度相似性, 能够在聚合物中形成与咪喃分子结构类似并互补的三维空间结构。因此 2-甲基咪喃作为模拟模板更适于合成吸附咪喃的 MIP。

表 1 不同模板及不同模板单体比对聚合物的影响

Table 1 Influence of different templates and template monomer ratios on polymers

模板 Template	模板、单体、交联剂的摩尔比例 Mol ration of template, monomer and crosslinkers	Q_{MIP} Maximum adsorption of MIP (mg/g)	Q_{NIP} Maximum adsorption of NIP (mg/g)	印迹因子 α Imprinted factor
2-甲基咪喃 2-Methyl Furan	1:2:20	38.66	36.25	1.067
	1:3:20	46.76	37.46	1.248
	1:4:20	69.64	37.05	1.879
	1:5:20	42.69	39.87	1.071
	1:6:20	46.71	43.50	1.074
咪喃 Furan	1:2:20	35.22	35.75	0.985
	1:3:20	36.14	35.89	1.007
	1:4:20	37.11	36.35	1.020
	1:5:20	38.28	38.56	0.993
	1:6:20	41.56	40.55	1.025

MIP: molecularly imprinted polymer; NIP: non-imprinted polymer.

3.2 不同模板单体比率的选择

分别取5种模板单体比例(1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6)合成MIP,通过聚合物对呋喃的最大吸附量 Q_{MIP} , Q_{NIP} 及印迹因子($\alpha = Q_{MIP}/Q_{NIP}$)等参数,确定合成MIP时的最佳模板单体比例。由表1还可以看出:2-甲基呋喃为模拟模板时,模板单体比为1:4合成的MIP对呋喃吸附量最高,并且印迹因子最大。在此条件下模板的功能基团与功能单体的相互作用实现最佳匹配,达到最好印迹效果。本实验选择此条件合成的MIP。

3.3 模板去除条件的优化

3.3.1 洗脱剂的选择 以2-甲基呋喃MIP为例,优化模板去除条件。分别选择甲醇,甲醇-水(9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, V/V)6种洗脱剂。加入15 mL洗脱剂后磁力搅拌2 h,静置取上层清液过0.45 μm 滤膜,供HPLC检测。在甲醇-冰醋酸(9:1, V/V)作为洗脱剂时,洗脱液中2-甲基呋喃含量最高,洗脱效果最好。醋酸的存在能够破坏模板与单体之间的氢键作用,随着冰醋酸含量的增加,洗脱液的极性不断增加,但是洗脱量却逐渐变小。选择合适的洗脱剂可以有效提高洗脱效率。

3.3.2 洗脱方式对模板残留的影响 对比超声波处理、磁力搅拌、索氏提取3种处理方法,索氏提取处理的MIP中模板残留量最低,洗脱效果最好,残留量为3.83 $\mu\text{g/g}$ 。其后MIP中残留量依次是磁力搅拌处理7.52 $\mu\text{g/g}$,超声波处理9.38 $\mu\text{g/g}$ 。2-甲基呋喃的沸点65 $^{\circ}\text{C}$ 。在索氏提取中,加热条件下分子运动剧烈,同时聚合物膨胀,模板在聚合物上形成的空穴扩大,利于模板的脱离^[10]。

3.3.3 适宜洗脱时间 从图1可知,磁力搅拌洗脱2 h后分子印迹聚合物的模板残留量变化已经很小,即洗脱2 h就可以达到理想的洗脱效果。与其它模板物质相比,2-甲基呋喃与功能单体的印迹结合位点少,洗脱相对容易。索氏提取洗脱效率较磁力搅拌更高,所以在实验中选择索氏提取法时,洗脱时间将更短。

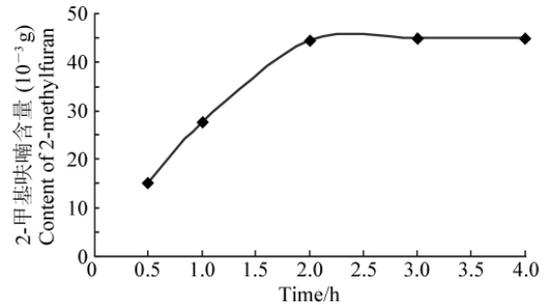


图1 洗脱液中2-甲基呋喃含量变化曲线

Fig. 1 Curve of 2-methyl furan contents in eluent

3.4 吸附动力学实验

通过对比吸附动力学曲线可知(见图2),此MIP对呋喃与2-甲基呋喃的吸附动力学实验相似,在100 min前,吸附量迅速增加;4 h后吸附基本达到平衡。这是由于聚合物经过研磨之后,粒状聚合物的表面产生深浅不一的孔穴,吸附过程中较浅的孔穴有利于模板物质的快速吸附,而较深的孔穴因内阻的存在,使得吸附速度下降,最后达到吸附平衡。

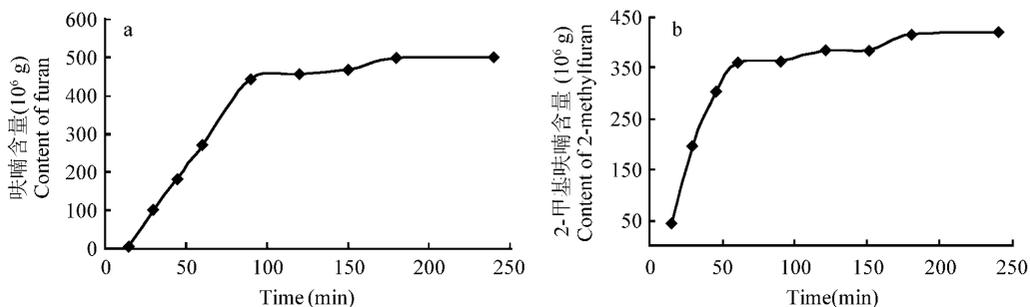


图2 呋喃(a)和2-甲基呋喃(b)的吸附动力学曲线

Fig. 2 Adsorption kinetics curve of MIP for furan (a) and 2-methylfuran (b)

3.5 等温吸附实验

采用静态吸附的方法,测定该MIP对2-甲基呋喃与呋喃两种物质的吸附能力。由图3可知,2-甲基呋喃与呋喃的表观最大吸附量分别达到27.36和28.23 mg/g 。相对于NIP来说,该MIP对呋喃和2-甲基呋喃都具有良好的特异性吸附作用,而NIP的吸附能力较弱,两者的吸附效果具有明显差异。在呋喃环中氧原子与MAA通过氢键作用在聚合物中留下特异性结合位点,使聚合物中形成与模板结构相符

合的空间三维结构,在吸附过程中对模板物质产生特异性的吸附作用。所以 2-甲基咪喃作为缺少官能团的小分子物质同样可以合成 MIP,并且此聚合物对 2-甲基咪喃和咪喃都具有特异性吸附作用。

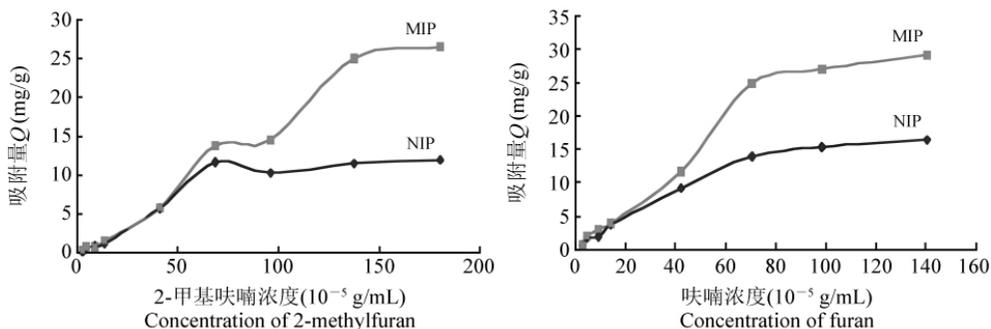


图 3 2-甲基咪喃与咪喃等温吸附线

Fig. 3 Isothermal adsorption curves for 2-methyl furan and furan to polymers

3.6 MIP 的吸附识别性

通过平衡吸附,测定 MIP 和 NIP 对咪喃和 2-甲基咪喃饱和和吸附量, MIP 对咪喃与 2-甲基咪喃的最大吸附量分别为 25.56 和 25.67 mg/g, NIP 为 12.01 和 14.61 mg/g; 而通过印迹因子 $\alpha = Q_{2\text{-甲基咪喃}}/Q_{\text{咪喃}}$ 可知 $\alpha_{\text{MIP}} = 1.004$, $\alpha_{\text{NIP}} = 0.822$ 。2-甲基咪喃 MIP 中包含有功能基固定排列的空穴,咪喃与 2-甲基咪喃相比只在空间结构上少 1 个甲基,空间位阻相差不大,所以该聚合物对二者的吸附差异较小。因此 MIP 适用于咪喃的特异性吸附分离。

3.7 速溶咖啡中咪喃的 MIP 萃取和测定结果

由图 4 可知,速溶咖啡提取液通过 MIP 小柱后,咪喃在小柱中被富集,洗脱液中咪喃含量较提取原液明显增加(曲线 B 上的保留时间约为 7 min 的峰),以 HPLC 检测。经测定,该速溶咖啡样品中咪喃的平均含量为 421.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=3$)。而速溶咖啡提取液原液不经 MIP 固相萃取时,其咪喃含量低于 HPLC 的检出限(见曲线 A),难以检测到。因此,本研究所获 MIP 的对咪喃的特异性吸附作用明显,可以有效吸附咖啡中的痕量咪喃。此 MIP 方法有望作为固相萃取物,应用 HPLC 法测定食品中的痕量咪喃。

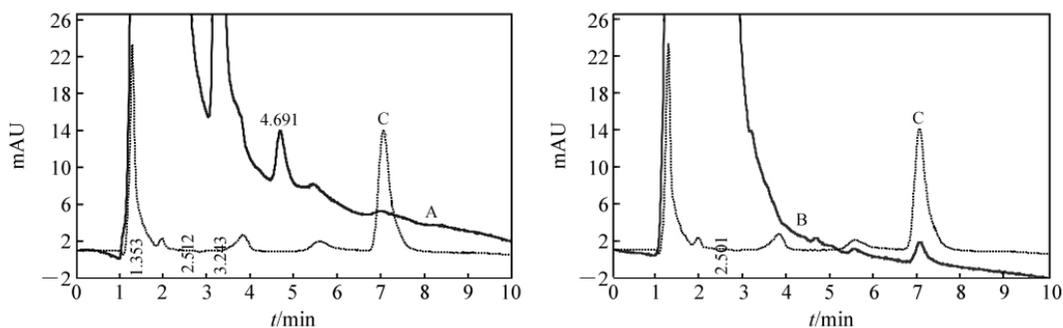


图 4 咖啡提取液(A),富集后(B)和咪喃标准(C)的色谱图

Fig. 4 Chromatogram of furan in instant coffee extract (A), furan after enrichment (B) and furan standard (C)
检测波长 (Detect wavelength): — 210 nm; ... 215 nm.

References

- 1 IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human*, **1995**, 63: 394 ~ 407
- 2 Crews C, Castle L. *Trends in Food Science & Technology*, **2007**, 18(7): 365 ~ 372
- 3 Bianchi F, Careri M. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1102(1-2): 268 ~ 272
- 4 LIU Ping (刘平), XUE Ying (薛颖), JIN Qing-Zhong (金庆中), WU Guo-Hua (吴国华). *Chinese J. Chromatogr.* (色谱), **2008**, 26(1): 35 ~ 38
- 5 DU Xiao-Yan (杜小燕), PENG Tao (彭涛), LI Jun-Suo (李俊锁). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2003**, 31(6): 720 ~ 722

- 6 Jing T , Gao X D , Wang P , Wang Y. *Anal. Bioanal. Chem.* , **2009** , 393 (8) : 2009 ~ 2018
- 7 He J X , Wang S , Fang G Z , Zhu H P , Zhang Y. *Agric. Food Chem.* , **2008** , 56 (10) : 3500 ~ 3508
- 8 Claudio B , Laura A , Cristina G. *Anal. Chim. Acta* , **2007** , 591 (1) : 29 ~ 39
- 9 Feás X , Seijas J A , Vázquez-Tato M P , Regal P A. *Anal. Chim. Acta* , **2009** , 631 (2) : 237 ~ 244
- 10 JIANG Zhong-Yi (姜忠义) , WU Hong (吴洪). *Technology of Molecular Imprinted Polymer (分子印迹技术)*. Beijing (北京) : Chemical Industry Press (化学工业出版社) , **2003** : 56 ~ 57

Preparation and Binding Characteristics of Molecularly Imprinted Polymers for Furan

PENG Ning , YAN Feng-Chao , CHEN Lei , HUANG Xue-Song*

(Department of Food Science and Engineering , Jinan University , Guangzhou 510632)

Abstract As a kind of potential carcinogenic materials , furan is formed during the heat treatment and widely exists in the commercial food. In this experiment , furan was chosen as the template , 2-methyl furan as dummy template , methacrylic acid (MAA) as function monomers , and ethyleneglycol dimethacrylate (EGDMA) as cross linkers. The molecularly imprinted polymer (MIP) was synthesized by non-covalent method. In this study , the preparation of MIP was optimized , and the kinetics of adsorption , static equilibrium binding and recognition properties of the polymers to furan and 2-methyl furan were also investigated. The results showed that the best imprinting effect ($Q_{MIP} = 69.64 \text{ mg/g}$, imprinting factor $\alpha = 1.879$) was observed when 2-methyl furan was chosen as dummy template and template monomer ratio was 1:4. The MIP had the similar absorptivity to furan and 2-methyl furan ($\alpha = Q_{2\text{-methyl furan}} / Q_{\text{furan}} = 1.004$). The results also showed that MIP had specific adsorption for furan in the instant coffee. Thus , it could be used as a solid phase extractant to extract the furan in food and drinks by using solid phase extraction.

Keywords Furan ; 2-Methyl furan ; Molecular imprinted polymer

(Received 9 September 2009 ; accepted 29 December 2009)

《重要有机污染物痕量与超痕量检测技术》

全书分为:第一篇 重要技术进展概论,第二篇 持久性有机污染物,第三篇 食品中致癌物,第四篇 食品中有机金属化合物的检测技术,第五篇 其他重要有机污染物(共二十三章)。该书全面总结了我国科技部“九五食品安全关键技术”课题“十五”的“食品安全关键技术研究”等国家攻关计划的重大项目的研究成果。重点介绍了色谱联用中的选择性离子监测、高分辨质谱、液相色谱串联质谱、离子阱串联质谱和等离子体诱导发射质谱等新技术进展,所涉及的重要有机污染物不仅包括持久性有机污染物公约规定的二噁英、多氯联苯、有机氯农药等,也包括氯丙醇、丙烯酰胺、多环芳烃、杂环胺和亚硝胺等重要致癌物和有机锡、有机汞、有机砷和有机硒等元素有机形态,还包括了溴代二噁英、多氯联苯醚、多氯萘、全氟有机化合物、烷基酚、酞酸酯等可能列入持久性有机污染物公约的“新二噁英”环境内分泌干扰物。从其健康效应风险评估与控制标准入手,在重点介绍前样品处理和仪器检测金属进展的基础上,以应用实例对检测技术予以详细介绍。

该书内容全面,综合性强,是从事食品安全监督检验人员的重要参考书,对于环境和农业领域的研究人员也有重要参考价值,可供高等院校与相关专业师生作参考。

该书由吴永宁(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所)和江桂斌(中国科学院生态环境研究中心)主编,化学工业出版社出版,定价 85.00 元。