

苏丹红 I 印迹表面等离子共振传感器的制备与表征

周春燕 陈长宝 李 洁 隋红光 高吉刚* 周 杰*

(山东农业大学化学与材料科学学院 泰安 271018)

摘 要 以苏丹红 I 印迹的凝胶膜对模板分子的响应收缩为基础,利用表面引发聚合技术在表面等离子共振 (SPR) 芯片上制备了苏丹红 I 印迹 SPR 传感器,利用电化学和溶胀测量技术对传感器进行表征,建立了对苏丹红 I 的 SPR 检测方法。该方法的线性范围为 $8.0 \times 10^{-10} \sim 1.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ ($R^2 = 0.9987$)。方法用于样品红辣椒粉和腌制品中苏丹红 I 的检测,其检出限分别为 3.4×10^{-10} 和 $2.5 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ 。红辣椒粉中两个样品的相对标准偏差为 1.38% 和 2.10%,腌制品试样的相对标准偏差为 1.13%。说明该方法具有较高的灵敏度和较好的重现性。

关键词 分子印迹凝胶膜,表面等离子共振传感器,苏丹红 I

中图分类号:O657

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2014)09-1107-08

DOI:10.3724/SP.J.1095.2014.30577

苏丹红 (Sudan dyes) 是一种合成类偶氮染料,主要包括苏丹红 (I、II、III、IV) 4 种类型,由于苏丹红价格低廉,染色不易褪色,被广泛用于油漆、塑料、印刷油墨、纺织品和化妆品等产品的着色^[1-2]。由于苏丹红对人类具有潜在的致癌性,国际癌症研究所 (IARC) 将其列为第三类致癌物质,许多国家均禁止将其用于食品中^[3]。但是在某些不法食品加工单位,仍存在着用苏丹红染料作为食品增色剂现象^[4],对人类的健康安全带来危害,因此及时灵敏的检测苏丹红的含量具有十分重要的意义。文献报道的用于检测苏丹红 I 的方法有高效液相色谱法 (HPLC)^[5]、高效液相色谱-质谱法 (HPLC-MS)^[6]、气相色谱-质谱法 (GC-MS)^[7] 和酶联免疫吸附检测法^[8] 等。这些方法虽然均能很好的用于分析食品中的苏丹红,但也存在着操作要求严格、耗时、费力和需要大量的有机溶剂等缺点。因此,发展简便的、高灵敏的检测方法十分必要。表面等离子共振 (SPR) 技术由于其检测灵敏、快速、无需标记和可实时监测等特点被广泛应用于分析检测领域^[9-11]。SPR 传感技术不仅能够用于检测 DNA^[12]、抗体^[13] 和蛋白质^[14] 等生物大分子,也能用于小分子的检测^[15]。但是 SPR 传感膜的生物材料一般昂贵且稳定性差,为了克服这个局限性,研究稳定的、化学和物理惰性的识别膜材料是十分必要的。分子印迹聚合物 (MIPs) 是一种具有特异性识别位点、能够选择性结合目标分析物的合成受体^[15-16]。与生物受体相比,分子印迹聚合物 (MIPs) 具有更好的稳定性、可再生性和抗恶劣环境等优点,可作天然受体的替代物。近来的一些研究也证实了分子印迹 SPR 传感器的有效性和实用性^[17-19]。

在印迹膜的制备时,加入微量交联剂,可使印迹膜具有更好的伸缩性,这种伸缩性可根据印迹膜与目标分子结合而发生相应的收缩,提高目标分子检测的灵敏性^[20-21]。由此,本文利用表面自由基引发方法,在 SPR 芯片表面合成了一种薄的、可伸缩性的苏丹红 I 印迹凝胶膜,与 SPR 技术联用,制备了一种新的苏丹红 I 印迹 SPR 传感器,并成功地用于了辣椒粉和腌制品样品中苏丹红 I 的检测。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

FT-SPR 100 型表面等离子体共振仪 (美国 Thermo 公司);传感芯片 ($1.8 \text{ cm} \times 1.8 \text{ cm}$), 美国 Thermo 公司);XSZ-H7 型光学显微镜 (重庆 COIC 公司);CHI 660A 型电化学工作站 (上海辰华仪器公司);

2013-11-15 收稿,2014-01-09 修回,2014-03-19 接受

国家自然科学基金资助项目 (21175038)

通讯联系人:周杰,教授;Tel:0538-8246369; Fax:0538-8242251; E-mail:zhoujie@sdau.edu.cn; 研究方向:生物分析化学,化学生物学

共同通讯联系人:高吉刚,教授;Tel:0538-8246133; Fax:0538-8242251; E-mail:gjg@sdau.edu.cn; 研究方向:生物分析,光分析化学

RE-52A型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);PHS-3D型酸度计(上海精密科学仪器有限公司)。

甲基丙烯酸(MAA)、丙烯酰胺(AAm)、11-巯基十一烷酸(MUA,95%)、2-乙基-5-苯基异恶唑-3'-磺酸盐(95%)、2,2'-偶氮二(2-甲基丙基脘)二盐酸盐(ABAH,引发剂,97%)和*N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺(MBA,交联剂,99%),以上试剂均购自Aldrich公司,均为分析纯;苏丹红I、II、III、IV(天津市科密欧化学试剂开发中心);铁氰化钾(上海化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,天津市永大化学试剂有限公司);全部实验用水均为重蒸水;试验中所有溶液均通过0.45 μm醋酸纤维素滤膜过滤。

1.2 苏丹红 I 分子印迹 SPR 传感器的制备

参照文献[22]方法,将SPR裸芯片放入新配制的10 mL Piranha洗液(70% H₂SO₄,30% H₂O₂)中清洗2 min,取出芯片,用大量的重蒸水冲洗,用N₂气吹干。然后将芯片放入20 mL 1.0 × 10⁻³ mol/L 11-巯基十一烷酸的乙醇溶液中,在4℃冰箱中放置过夜,取出芯片后,用乙醇、重蒸水反复冲洗芯片的表面。再将芯片转入10 mL 1.0 × 10⁻² mol/L的2-乙基-5-苯基异恶唑-3'-磺酸盐的水溶液中,静置30 min。最后将芯片转入到10 mL 0.2 mol/L的ABAH水溶液中,20℃下反应3 h,取出用N₂气吹干备用。

苏丹红 I 印迹凝胶膜的制备按照文献[23]方法并加以改进:首先,将苏丹红 I (24.8 mg) 和 MAA (17 μL) 加入到10 mL 乙腈中,完全溶解后,在4℃冰箱中静置过夜,使二者充分反应形成稳定的复合物。其次,将丙烯酰胺(113.7 mg)和引发剂ABAH加入到混合液中,充分混匀后,通入N₂气15 min以除去O₂,密封,于4℃下在350 nm的紫外灯照射下反应2 h用以形成线性聚丙烯酰胺共聚物。再次,2 h后在包含有线性聚合物的溶液中加入113.7 mg的丙烯酰胺和*N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺(用量为丙烯酰胺质量分数的0.05%),充分混匀,将处理好的芯片放入上述溶液中,通N₂气15 min以除去O₂,密封,于4℃下在350 nm的紫外灯照射下反应2 h。反应完毕后将印迹好的芯片取出用大量的重蒸水和乙醇冲洗,用N₂气吹干,安装于SPR仪器上;利用5%乙酸20%的乙腈水溶液以流速1.2 mL/min进行冲洗,以除去模板分子苏丹红 I 和未反应的混合物,直至出现平稳的SPR基线。相关非印迹聚合物凝胶膜在SPR芯片上的制备除不加模板分子苏丹红 I 外,其它步骤与上述方法相同。

1.3 样品制备

红辣椒粉和腌制品均购买于当地的超市。称取干燥的红辣椒粉和粉碎后的腌制品各5.0 g于50 mL锥形瓶中,并向上述样品中分别加入4 mL浓度为1.0 × 10⁻⁶ mol/L苏丹红 I 标准液,充分混匀后,放置一定的时间。然后加入30 mL 乙腈,超声提取30 min并过0.45 μm的醋酸纤维素滤膜。将此过程重复两次,合并上清液并在减压状态下蒸干滤液。将残留物重新溶解于50 mL 醋酸缓冲液中(0.1 mol/L,pH=5.0)。然后从这50 mL溶液中取出1 mL用醋酸缓冲液(0.1 mol/L,pH=5.0)稀释定容至25 mL,用于测定。

1.4 苏丹红 I 的 FT-SPR 的实验测定

SPR-100上配备有样品流动池和测角仪,并与Thermo Nexus FT-IR分光光度计相连接,分光光度计在近红外区域工作并以近红外卤钨灯作为光源,以砷化镓检测器作为其检测器。为了使砷化镓检测器在其灵敏度最高的区域内,在每次实验之前,调节入射角使其有最小的反射率,使波数固定在9000 cm⁻¹附近。用蠕动泵将被分析溶液或清洗液泵入流动样品池。在实验过程中,采用醋酸缓冲液(0.1 mol/L,pH=5.0)作为流动缓冲液,流速定为1.2 mL/min。不同浓度的被分析物溶解于流动缓冲液中并被注入到样品池中,直到波数变化达到稳定值。FT-SPR实时的记录波数变化。在每次样品溶液结合测定之前,SPR传感芯片均要用5%乙酸(体积分数),20%乙腈水溶液和醋酸缓冲液依次进行冲洗直到获得稳定的基线。实验数据均是通过扣除缓冲液背景,5次实验结果得到的平均值。在整个实验过程中所用的溶液均被超声。

1.5 溶胀比实验

将苏丹红 I 印迹凝胶与非印迹凝胶浸入到0.1 mol/L醋酸缓冲溶液中,使其在25℃下达到溶胀平衡。随后,在25℃下将凝胶转移并浸入含有一定量苏丹红 I 的醋酸缓冲溶液中。依据溶胀比 $=d/d_0$ 计算出凝胶的溶胀比。 d 和 d_0 分别代表的是凝胶在醋酸缓冲液中溶胀时的直径和在包含有游离的苏丹红 I 的缓冲液中溶胀时的直径。凝胶的直径通过XSZ-H7光学显微镜测量。每个实验至少被重复3次

来证明实验的重现性。

1.6 电化学测量

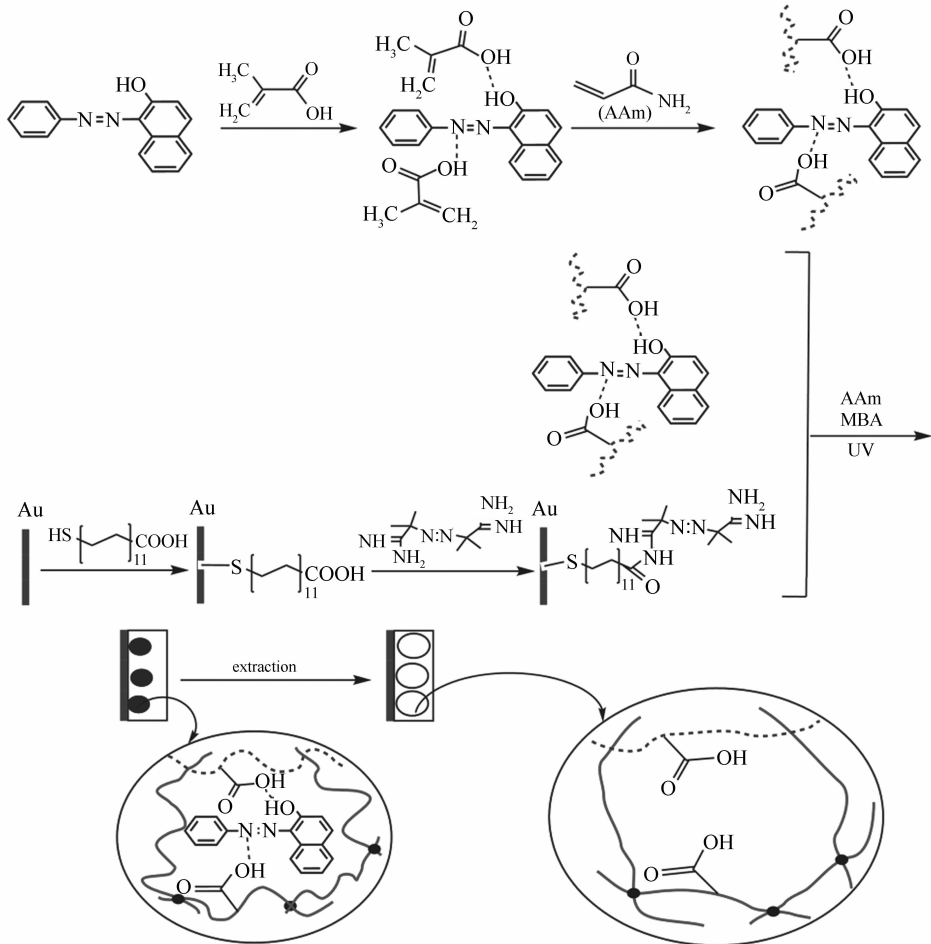
电化学工作站被用于进行交流阻抗实验。传统的三电极电化学系统由作为工作电极的被修饰的金片,作为辅助电极的铂丝和作为参比电极的饱和甘汞电极三部分组成,三电极电化学系统被用于测量电化学响应。在室温条件下,电化学测量在包含有 5 mmol/L $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ 和 1 mol/L KCl 的 0.1 mol/L 的水溶液中进行。

2 结果与讨论

2.1 SPR 传感器的制备与表征

SPR 传感芯片的制备过程如 Scheme 1 所示。首先,MAA-苏丹红 I 复合物与 AAm 的共聚合成线性聚丙烯酰胺连接的 MAA-苏丹红 I 复合物。其次,将引发剂共价连接到被 MUA 修饰的金片表面。再次,将复合物、AAm 和 MBA 在固定在金片表面引发剂的引发作用下聚合形成薄的聚合物凝胶膜。最后,将印迹的苏丹红 I 分子从苏丹红 I 印迹凝胶膜中除去。图 1 为裸金片、聚合上印迹膜与非印迹膜的金片室温下在醋酸缓冲溶液中测得的 SPR 光谱图。图 1 表明,在裸金片上接上印迹聚合物和非印迹聚合物膜后波数分别红移了 354.8 和 138.8 cm^{-1} ,由此可知,在金片表面形成了凝胶薄膜层。据文献^[24]报道的理论,在最优 SPR 角度下,吸附层膜的实际厚度每增加 0.1 nm 可引起约 4 cm^{-1} 波数位移变化;估算 SPR 芯片上结合的印迹聚合物和非印迹聚合物凝胶膜的厚度分别约为 8.87 和 3.47 nm。

2.2 电化学测量



Scheme 1 Illustration of the preparation of the SPR sensor

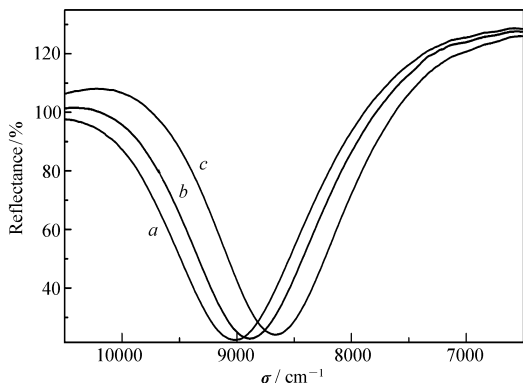


图 1 SPR 传感芯片光谱图

Fig. 1 SPR spectra recorded on bare (a), NIP (b) and MIP (c) sensor chips in 0.1 mol/L HAc-NaAc buffer solution at pH = 5.0

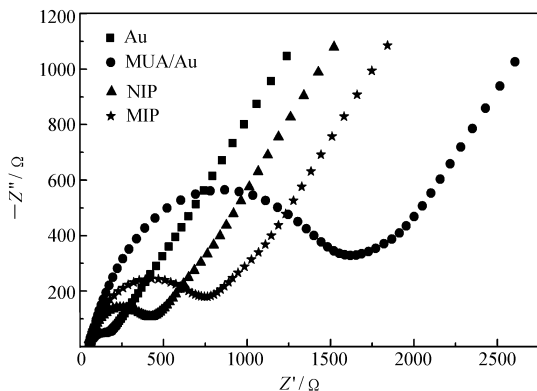


图 2 Au、NIP、MIP 及 MUA/Au 的阻抗图谱

Fig. 2 Impedance spectra of Au, NIP, MIP and MUA/Au
 $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 5 \text{ mmol/L}$; $c(\text{KCl}) = 1 \text{ mol/L}$

在此研究中,电化学阻抗法被用于测量表面修饰过程中产生的电荷转移阻抗(R_{ct})。图 2 为裸金片(Au)、MUA 修饰金片(MUA/Au)、印迹聚合物(MIP)及非印迹聚合物(NIP)修饰金片的法拉第阻抗光谱图。由图 2 可知,在裸金片表面结合上 MUA 单层膜后,MUA 修饰的金片的 R_{ct} 值为 1565.8 Ω ,大于裸金片的 R_{ct} 值(86.7 Ω)。这个结果可能归因于溶液中的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 与电极表面 MUA 末端羧基带有的负电荷产生了排斥作用,导致了流动电子电荷的减少或增加了电子流动之间的阻力。在 MUA 表面再修饰上聚合物膜之后,与 MUA 修饰的金片的 R_{ct} 值(1565.8 Ω)相比,MIP 与 NIP 膜的 R_{ct} 值分别减小为 692.9 和 368.9 Ω 。其原因可能是 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 与 SPR 芯片表面聚合物上带有的氨基基团之间的静电作用。此外,聚合物中大的模板空穴的形成导致了 MIP 的 R_{ct} 值高于 NIP 的 R_{ct} 值。

2.3 印迹凝胶的溶胀比

印迹凝胶对目标分子的响应通过凝胶溶胀比进行研究,结果如表 1 所示。结果显示,随着溶液中苏丹红 I 浓度的增加,印迹凝胶的溶胀比逐渐减小;而非印迹凝胶的溶胀比略有增加。这是由于印迹凝胶在合成过程中仅使用了微量的交联剂,此凝胶网状结构在溶剂中会产生变化,扩大到一定的状态。在有模板分子存在的条件下,模板分子与印迹凝胶中的共轭识别位点之间产生特异结合,形成了类似三明治结构的复合物,增加了印迹凝胶的交联密度,导致印迹凝胶收缩;而非印迹凝胶缺乏这种共轭的结合位点,与苏丹红 I 只能形成一个氢键的复合物,所以无法收缩且显示聚合物的一般特点,略有溶胀。

表 1 印迹凝胶和非印迹凝胶的溶胀比变化

Table 1 The swelling ratio change of imprinted gel and non-imprinted gel

$10^7 c(\text{Sudan I})/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	Swelling ratio	
	MIP	NIP
0.0	1.000	1.000
1.0	0.963 0	1.017
2.0	0.942 8	1.025
3.0	0.926 8	1.030
4.0	0.906 7	1.037
5.0	0.900 0	1.040
6.0	0.898 0	1.042

2.4 pH 值对苏丹红 I 测定的影响

印迹凝胶对苏丹红 I 的识别作用主要是由结合位点上的羧基与苏丹红 I 分子中的羟基和偶氮基团之间的互补氢键作用所致。溶液的 pH 值对测量波数的影响如图 3 所示。图 3 表明,在 pH 值为 3.0 ~ 7.0 的范围内,当 pH 值从 3.0 增至 5.0 时,印迹凝胶传感膜对苏丹红 I 的吸附量增加且在 pH 值为 5.0 时达到最大;然后,随着 pH 值增大吸附量降低。这种变化说明苏丹红 I 主要通过氢键作用结合到印迹

凝胶膜上。当 pH 值小于 5.0 时,苏丹红 I 中的偶氮基团被质子化;当 pH 值大于 5.0 时,印迹位点上的羧基被离子化。这两种情况均会减弱印迹分子与识别位点之间的氢键作用。因此,实验选择 pH 值为 5.0。

2.5 苏丹红 I 分子印迹凝胶 SPR 传感器的吸附性

印迹和非印迹凝胶传感芯片均以同样的方法进行制备和处理。为了评价印迹凝胶 SPR 传感芯片的性能,在最佳 pH 值条件下,对所制备的印迹膜与非印迹膜进行了吸附性能的研究。分子印迹膜和非分子印迹膜对不同浓度苏丹红 I 的印迹效果通过 SPR 最小反射率下的波数变化得到了体现,结果如图 4 所示。从图 4 可以看出,最初随着苏丹红 I 浓度的增大,印迹传感芯片波数变化增大;当浓度达到 7.5×10^{-7} mol/L 趋于饱和,且苏丹红 I 的浓度在 $8.0 \times 10^{-10} \sim 1.0 \times 10^{-8}$ mol/L 之间时,印迹聚合物对苏丹红 I 的吸附量与其浓度呈现出良好的线性关系($R^2 = 0.9987$)。尽管非印迹传感芯片也能检测到苏丹红 I,但它的灵敏度低,这主要是由于非印迹传感芯片对苏丹红 I 是较弱的非特异性吸附引起。应该说明的是,在印迹膜制备中,由于功能单体的量大于模板的量,导致在印迹膜中非选择性结合位点产生;但由于非特异性位点对模板分子的亲和力要比特异性位点弱的多,因而在低浓度范围内,印迹膜优先对模板分子进行特异性识别而显示出良好的线性关系。随着模板分子浓度的增大,特异性结合趋于饱和,非特异性位点发挥作用,这种线性失去;且模板浓度足够大时,两种结合达到饱和,曲线趋于平稳。在印迹膜中,模板分子与结合位点的结合常数可以用朗格缪尔等温模型^[35]得到。如方程(1):

$$K_{\text{ass}} = \frac{\alpha}{(\alpha - \theta)c(\text{Sudan I})}$$

(1)

对式(1)整理得式(2):

$$\frac{1}{\theta} = \frac{1}{\alpha} + \frac{1}{\alpha K_{\text{ass}}}c(\text{Sudan I})$$

(2)

式中, θ 代表苏丹红 I 所占据的结合位点, α 代表总的结合位点数。假定波数变化与苏丹红 I 占据结合位点成比例,对图 4 中印迹膜的等温线图进行分析,得到朗格缪尔等温方程式为: $1/\theta = 0.02721 + 4.141 \times 10^{-9}c(\text{Sudan I})$,由方程的斜率与截距的比值求得的分子印迹聚合物与苏丹红 I 之间的结合常数为 6.57×10^6 L/mol。另外,按照相同的实验方法制备 4 个同样的传感器分别对 0.2 $\mu\text{mol/L}$ 苏丹红 I 溶液进行测定获得的 RSD 为 1.87%,置信区间为 (0.19 ± 0.02) $\mu\text{mol/L}$ (置信度 95%)。制备的传感器膜常温下放置在干燥器内两个月内重现性保持不变。

2.6 SPR 传感器的选择性

为了进一步研究苏丹红 I 分子印迹凝胶 SPR 传感器对目标分子苏丹红 I 的选择性,我们对苏丹红 I 的 3 种结构类似物 Sudan II、III 和 IV(图 5)进行了检测。苏丹红 I 和其类似物的相关 SPR 波数变化见图 6。与非印迹凝胶相比,印迹凝胶对模板苏丹红 I 显示出明显的选择性。相比于苏丹红 I 的 3 种结构类似物,印迹凝胶对苏丹红 I 有明显的选择作用。而非印迹凝胶对这 4 种化合物的响应能力相似。这个结果表明,只有在印迹膜中的两个共轭羧基结合位点同时与苏丹红 I 分子中的羟基和偶氮基

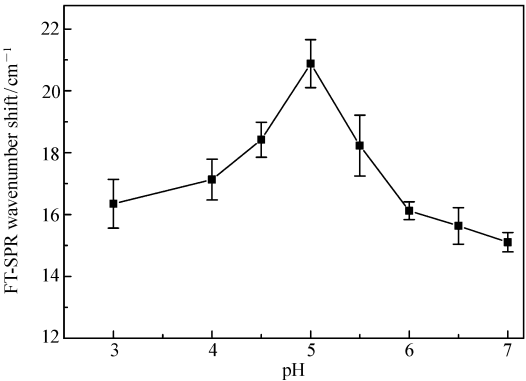


图3 pH 值对 SPR 波数的影响
Fig.3 Effect of pH on SPR wavenumbers

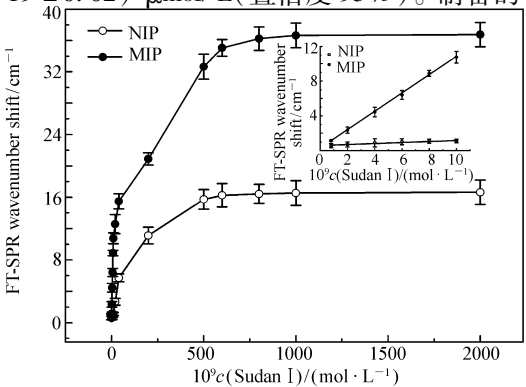


图4 苏丹红 I 浓度对 SPR 波数的影响
Fig.4 Influence of Sudan I concentrations on SPR wavenumbers
HAc-NaAc buffer solution:0.1 mol/L; pH:5.0

团产生氢键作用形成类似三明治结构的复合物时,增加印迹凝胶膜的交联密度,引起印迹凝胶膜收缩而产生明显的波数位移响应。当羧基-苏丹红 I 复合物形成但类似三明治结构的复合物不能形成时,印迹凝胶和非印迹凝胶膜的交联密度不会增加,响应没有明显变化且通常产生稍微的膨胀现象。分子印迹使所形成的印迹凝胶膜中含有与模板分子在形状、大小和功能基位置上均相匹配的结合位点,这些结合位点与模板分子的互补结合引起印迹膜的交联密度增加在分子识别中发挥特异性结合作用。

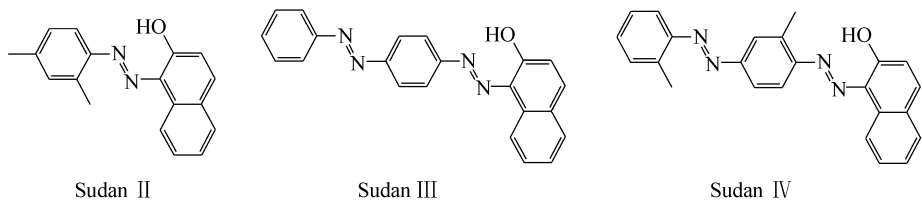


图5 苏丹红(II、III、IV)的结构式
Fig.5 Structures of Sudan II, III and IV

2.7 苏丹红 I 印迹凝胶 SPR 传感器的评价

为了证明分子印迹凝胶 SPR 传感器能够用于分析实际样品中的苏丹红 I 含量,采用分别向辣椒粉和腌制品样品中加入一定量的苏丹红 I 的方法来进行验证。同时,采用向辣椒粉样品中分别加入与 6 mL 浓度为 1.0×10^{-6} mol/L 苏丹红 I 标准溶液相同量的苏丹红 II、III 和 IV 标准溶液来说明所制备的传感器能够用于实际样品中的苏丹红 I 的检测,每份样品平行测定 5 次。以图 4 插图中显示的波数位移与苏丹红 I 的浓度的线性关系为依据,分析得到的结果见表 2。从表 2 中可以看出,辣椒粉样品中的苏丹红 II、III 和 IV 几乎不影响传感器对苏丹红 I 的检测。苏丹红 I 在辣椒粉中的回收率分别为 99.20% 和 99.29%。苏丹红 I 在腌制品中的回收率为 98.70%。基于信噪比为 3 时,苏丹红 I 在辣椒粉和腌制品中的检出限分别为 3.4×10^{-10} 和 2.5×10^{-10} mol/L,低于国家标准高效液相色谱法^[26]的检测限(4.0×10^{-8} mol/L)。苏丹红 I 在辣椒粉两个样品中的相对标准偏差分别为 1.38% 和 2.10%,在腌制品中的相对标准偏差为 1.13%,表明测定结果精密度和准确度令人满意。

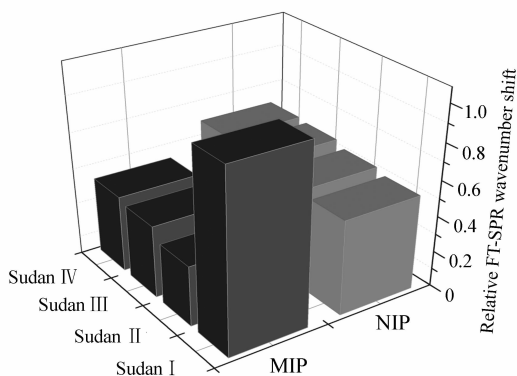


图6 印迹及非印迹凝胶膜的选择性

Fig. 6 Selectivity of the imprinted and non-imprinted gel films

HAc-NaAc buffer solution; 0.1 mol/L; pH = 5.0; $c(\text{Sudan I}) = 2.0 \times 10^{-7}$ mol/L

表2 辣椒粉和腌制品样品的平均回收率和相对标准偏差(RSD)

Table 2 Average recoveries and relative standard deviations(RSD) obtained for paprika and salted product samples

Sample	Found lever without addition of Sudan I /nmol	Spiked level/nmol	Found level/nmol	Recovery/%	RSD/% (n = 5)
paprika A ^a (5.0 g)	0.00	4.000	3.968	99.20	1.38
	0.00	6.000	5.957	99.29	2.10
paprika B ^b (5.0 g)	0.00	6.000	5.956	99.27	4.82
paprika C ^c (5.0 g)	0.00	6.000	5.959	99.32	4.14
paprika D ^d (5.0 g)	0.00	6.000	5.960	99.33	3.09
salted product (5.0 g)	0.00	4.000	3.948	98.70	1.13

a; Sudan I ; b; Sudan I and Sudan II ; c; Sudan I and Sudan III ; d; Sudan I and Sudan IV.

3 结 论

通过在 SPR 传感芯片表面固定光引发剂的方式制备出了可伸缩性分子印迹凝胶膜,并以其作为识别载体,成功实现分子印迹与 SPR 联用技术对辣椒粉和腌制品样品中苏丹红 I 的检测。所测定的苏丹

红 I 与分子印迹凝胶膜中的印迹位点之间的结合常数为 $6.57 \times 10^6 \text{ L/mol}$, 线性范围为 $8.0 \times 10^{-10} \sim 1.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ ($R^2 = 0.9987$)。与其它结构类似物相比, 印迹凝胶膜对模板分子有很高的亲和力, 这种方法可应用于实际样品苏丹红 I 的检测, 并有望在食品安全等领域得到广泛的应用。

参 考 文 献

- [1] Gan T, Li K, Wu K. Multi-wall Carbon Nanotube-based Electrochemical Sensor for Sensitive Determination of Sudan I [J]. *Sens Actuators B: Chem*, 2008, **132**(1): 134-139.
- [2] He L, Su Y, Fang B, *et al.* Determination of Sudan Dye Residues in Eggs by Liquid Chromatography and Gas Chromatography mass Spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, **594**(1): 139-146.
- [3] Piao C, Chen L. Separation of Sudan Dyes from Chilli Powder by Magnetic Molecularly Imprinted Polymer [J]. *J Chromatogr A*, 2012, **1268**: 185-190.
- [4] Lopez M I, Ruiz Sanchez I, Callao M P. Figures of Merit of a SERS Method for Sudan I Determination at Traces Levels [J]. *Spectrochim Acta*, 2013, **111**: 237-241.
- [5] Long C, Mai Z, Yang X, *et al.* A New Liquid-liquid Extraction Method for Determination of 6 Azo-dyes in Chilli Products by High-performance Liquid Chromatography [J]. *Food Chem*, 2011, **126**(3): 1324-1329.
- [6] Zhang Y, Zhang Z, Sun Y. Development and Optimization of an Analytical Method for the Determination of Sudan Dyes in Hot Chilli Pepper by High-performance Liquid Chromatography with On-line Electrogenerated BrO^- -luminol Chemiluminescence Detection [J]. *J Chromatogr A*, 2006, **1129**(1): 34-40.
- [7] WU Huiqin, HUANG Xiaolan, HUANG Fang, *et al.* Rapid Determination of Sudan Red I in Food by GC-MS/SIM [J]. *J Instrum Anal*, 2005, **24**(3): 1-5 (in Chinese).
吴惠勤, 黄晓兰, 黄芳, 等. 食品中苏丹红 I 号的 GC-MS/SIM 快速分析方法研究 [J]. *分析测试学报*, 2005, **24**(3): 1-5.
- [8] Han D, Yu M, Knopp D, *et al.* Development of a Highly Sensitive and Specific Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Detection of Sudan I in Food Samples [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, **55**(16): 6424-6430.
- [9] Gordon R, Sinton D, Kavanagh K L, *et al.* A New Generation of Sensors Based on Extraordinary Optical Transmission [J]. *Acc Chem Res*, 2008, **41**(8): 1049-1057.
- [10] Homola J. Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species [J]. *Chem Rev*, 2008, **108**(2): 462-493.
- [11] Berger C E, Beumer T A, Kooyman R P, *et al.* Surface Plasmon Resonance Multisensing [J]. *Anal Chem*, 1998, **70**(4): 703-706.
- [12] Kyo M, Yamamoto T, Motohashi H, *et al.* Evaluation of MafG Interaction with Maf Recognition Element Arrays by Surface Plasmon Resonance Imaging Technique [J]. *Genes Cells*, 2004, **9**(2): 153-164.
- [13] Mauriz E, Calle A, Lechuga L M, *et al.* Real-time Detection of Chlorpyrifos at Part Per Trillion Levels in Ground, Surface and Drinking Water Samples by a Portable Surface Plasmon Resonance Immunosensor [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, **561**(1/2): 40-47.
- [14] Lee H J, Yan Y, Marriott G, *et al.* Quantitative Functional Analysis of Protein Complexes on Surfaces [J]. *J Physiol*, 2005, **563**(1): 61-71.
- [15] Matsui J, Akamatsu K, Hara N, *et al.* SPR Sensor Chip for Detection of Small Molecules Using Molecularly Imprinted Polymer with Embedded Gold Nanoparticles [J]. *Anal Chem*, 2005, **77**(13): 4282-4285.
- [16] Gupta R, Kumar A. Molecular Imprinting in Sol-gel Matrix [J]. *Biotechnol Adv*, 2008, **26**(6): 533-547.
- [17] Kugimiya A, Takeuchi T. Surface Plasmon Resonance Sensor Using Molecularly Imprinted Polymer for Detection of Sialic Acid [J]. *Biosens Bioelectron*, 2001, **16**(9): 1059-1062.
- [18] Matsunaga T, Hishiyama T, Takeuchi T. Surface Plasmon Resonance Sensor for Lysozyme Based on Molecularly Imprinted Thin Films [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, **591**(1): 63-67.
- [19] Wei C P, Zhou H Q, Zhou J. Ultrasensitively Sensing Acephate Using Molecular Imprinting Techniques on a Surface Plasmon Resonance Sensor [J]. *Talanta*, 2011, **83**(5): 1422-1427.
- [20] Miyata T. Preparation of Smart Soft Materials Using Molecular Complexes [J]. *Polymer J*, 2010, **42**(4): 277-289.
- [21] Wang J, Banerji S, Menegazzo N, *et al.* Glucose Detection with Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Molecularly Imprinted Hydrogel Coatings [J]. *Talanta*, 2011, **86**: 133-141.
- [22] Ista L K, Mendez S, Pérez-Luna V H, *et al.* Synthesis of Poly(*N*-isopropylacrylamide) on Initiator-modified Self-assembled Monolayers [J]. *Langmuir*, 2001, **17**(9): 2552-2555.
- [23] Miyata T, Jige M, Nakaminami T, *et al.* Tumor Marker-responsive Behavior of Gels Prepared by Biomolecular Imprinting [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(5): 1190-1193.

- [24] Corn R M, Weibel S C. Handbook of Vibrational Spectroscopy[M], New York: Wiley, 2002: 1057-1064.
- [25] Masel R I. Principles of Adsorption and Reaction on Solid Surfaces[M]. New York: Wiley Interscience, 1996: 240-241.
- [26] GB/T19681-2005, The Method for the Determination of Sudan Dyes in Foods-High Performance Liquid Chromatography. National Standard of the People's Republic of China (in Chinese).
食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法. 中华人民共和国国家标准, GB/T19681-2005.

Preparation and Characterization of Sudan I - imprinted Surface Plasmon Resonance Sensor

ZHOU Chunyan, CHEN Changbao, LI Jie, SUI Hongguang, GAO Jigang*, ZHOU Jie*

(College of Chemistry and Material Science, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract Based on the Sudan I -responsive shrinkage of the Sudan I -imprinted gel film, a new imprinted gel-surface plasmon resonance (SPR) sensor for the detection of Sudan I was prepared. The Sudan I-imprinted soft gel film was synthesized on the surface of a SPR chip. The SPR sensor was characterized with an electrochemical method and swelling measurements. The method exhibits a linear response in the range of 8.0×10^{-10} to 1.0×10^{-8} mol/L ($R^2 = 0.9987$) for the detection of Sudan I. It was used to determine Sudan I in the paprika and salted products. The detection limits are 3.4×10^{-10} mol/L and 2.5×10^{-10} mol/L, respectively, and the relative standard deviations (RSD) are 1.38% and 2.10% for two paprika samples and 1.13% for the salted product. This SPR sensor shows high sensitivity and good reproducibility.

Keywords molecularly imprinted gel film, surface plasmon resonance sensor, Sudan I

Received 2013-11-15; Revised 2014-01-09; Accepted 2014-03-19

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21175038)

Corresponding author: ZHOU Jie, professor; Tel: 0538-8246369; Fax: 0538-8242251; E-mail: zhoujie@sda.u.edu.cn; Research interests: bioanalytical chemistry and chemical biology

Co-corresponding author: GAO Jigang, professor; Tel: 0538-8246133; Fax: 0538-8242251; E-mail: gjg@sda.u.edu.cn; Research interests: biochemical analysis and spectrochemical analysis